



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**TEKRARLANAN KONTROLLÜ
OVARYAN HİPERSTİMULASYON'UN
(KOH) UTERUS ENDOMETRİYUMU
ÜZERİNE ETKİLERİNİN MOLEKÜLER
DÜZEYDE İNCELENMESİ**

LATİFE SAKİNER

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2018



**TEKRARLANAN KONTROLLÜ OVARYAN HİPERSTİMULASYON'UN
(KOH) UTERUS ENDOMETRİYUMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
MOLEKÜLER DÜZEYDE İNCELENMESİ**

Latife SAKİNER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2018

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Latife SAKİNER

25/6/2018

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL başta olmak üzere, yüksek lisans öğrenimim süresince anlayışlı yaklaşımları ile beni yönlendiren, desteğini ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Sayın Prof. Dr. Çiğdem ELMAS' a;

Yüksek lisans eğitimimde katkıları olan hocalarım Sayın Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU' na ve Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU' na; tezimin deney ve laboratuvar aşamalarında, zamanlarını ve desteklerini esirgemeyen başta Arş. Gör. Perihan YALÇINKAYA olmak üzere, Esra SAVARI ÖZKOÇER ve Deniz İrem BULUT'a ve tüm Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı asistanlarına ve personeline;

01/2017-14 proje numaralı tez çalışmamızın gerçekleşmesi için destek sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne;

Yüksek lisans öğrenimim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve her konuda desteklerini yanımda hissettiğim dönem arkadaşlarım Gökçenur ARIK YÜCEL, Şeyma CEYHAN, Pınar KAÇAMAK, Asiye Aslı EMNİYET SERT ve Hande YEĞENOĞLU' na;

Sonsuz sevgi ve özveriyle beni bugünlere getiren eğitimim için her türlü fedakarlığı göstererek yaşamımın her döneminde attığım her adımda beni cesaretlendiren ve tüm inançlarıyla yanımda olan canım annem Hülya SAKİNER ve sevgili babam Türkay SAKİNER' e, sabır ve desteği ile her zaman yanımda olan ablam; Bahire SAKİNER, kardeşim Tugay SAKİNER ve Ankara' daki kız kardeşim Gizem KAHYAOĞLU ve ailesi' ne;

Sonsuz Teşekkürlerimi Sunarım.

Latife SAKİNER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Uterus Gelişimi	5
2.2. Uterus Anatomisi	9
2.2.1. Corpus uteri.....	10
2.2.2. Fundus uteri.....	10
2.2.3. İsthmus uteri.....	11
2.2.4. Cervix uteri.....	11
2.2.5. Uterus' un ligamentleri	13
2.2.6. Uterus' un damarları ve sinirleri	15
2.3. Uterus Histolojisi	16
2.3.1. Perimetrium.....	17
2.3.2. Miyometriyum.....	17
2.3.3. Endometriyum.....	19
2.4. Uterus Fizyolojisi	27
2.5. Ovulasyon	33

TEKRARLANAN KONTROLLÜ OVARYAN HİPERSTİMULASYON' UN UTERUS ENDOMETRİYUMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE

İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Latife SAKİNER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2018

ÖZET

Günümüzde infertiliteyi tedavi etmede yaygın bir şekilde uygulanan protokollerden biri ovaryumlardan en ideal sayı ve kalitede oosit elde etmek ve aynı siklusta çok sayıda follikülün geliştirilmesini amaçlayan KOH' dur. Bu amaçla pek çok KOH protokolü ve birçok ajan kullanılmaktadır ve bu ajanların ovaryum, uterus, serviks gibi üreme organları üzerinde olumsuz etkileri olduğu önerilmektedir. Uterus dokusundaki hormonal değişimlerin etkisine dayanarak çalışmamızda 3 ve 5 tekrar kontrollü ovaryan hiperstimulasyon protokolü ile oluşturulan deney protokolünde uterus duvarında oluşabilecek olası büyüme, farklanma, çoğalma ve onkojenik transformasyon gibi değişimlerin çeşitli immunohistokimyasal belirteçlerle araştırılması amaçlandı. Deneyde, 18 adet, 8 haftalık dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Denekler Kontrol, Deney 1 (3 tekrar KOH uygulanan), Deney 2 (5 tekrar KOH uygulanan) olmak üzere 3 gruba ayrıldılar. KOH protokolleri arasında 1 hafta süre verildi. Denekler, son uygulamanın ardından sakrifiye edildi, kan örnekleri ve uterus dokuları alındı. Dokulardan alınan kesitler hematoxilen - eozin ve integrin - β_1 ve e - kadherin primer antikorları ile immunohistokimya boyaması uygulanarak resimlendirildi. E2, LH ve FSH hormonları ELISA yöntemi ile analiz edildi. KOH uygulamasının, uterus duvar kalınlıklarını, bez sayısını ve hormon değerlerini etkileyerek hücresel ve moleküler değişime neden olduğunu ve bu değişimlerin özellikle 5 tekrar KOH uygulaması ile artmış olduğu izlenmiştir.. KOH uygulamasının uterus dokusu üzerinde özellikle endometriyumda daha yoğun olacak şekilde dejenerasyona ve endometriyumda reseptif duruma ulaşmaya yani gebeliğe hazırlanmaya bağımlı olarak bazı belirteçlerin tutulumlarında azalmaya neden olabileceği saptandı. Bu değişimlerin özellikle 5 tekrar KOH uygulaması ile artmış olduğu izlendi. Yapılacak ileri düzey moleküler çalışmalara gereksinim olduğu kanısına varılmıştır.

Bilim Kodu : 1061. 4
Anahtar Kelimeler : Kontrollü Ovaryan Hiperstimulasyon, Endometriyum, Reseptivite, İmmünohistokimya
Sayfa Adeti : 149
Danışman : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

MOLECULAR INVESTIGATION OF REPEATED CONTROLLED OVARIAN
HYPERSTIMULATION (COH) ON UTERUS ENDOMETRIUM

(M. Sc. Thesis)

Latife SAKİNER

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

June 2018

ABSTRACT

One of the commonly used protocols to treat infertility nowadays is KOH, which aims to obtain oocytes in the most ideal number and quality of ovaries and to develop numerous follicles in the same cycle. For this purpose, many KOH protocols and many agents are used and it is suggested that these agents have negative effects on reproductive organs such as ovarium, uterus, cervix. In our study based on the effects of hormonal changes in uterine tissue, it was aimed to investigate changes in uterine wall such as possible growth, differentiation, proliferation and oncogenic transformation with various immunohistochemical markers in the experimental protocol formed with 3 and 5 repeat controlled ovarian hyperstimulation protocol. In the experiment, 18 female Wistar albino rats of 8 weeks old were used. Subjects were divided into 3 groups: Control, Experiment 1 (applied 3 times with KOH), and Experiment 2 (5 times with KOH applied). KOH protocols were given for 1 week. Subjects were sacrificed after the last application, blood samples and uterine tissues were taken. Sections from the tissues were visualized by immunohistochemistry with hematoxylin - eosin and integrin - $\beta 1$ and e - cadherin primer antibodies. E2, LH and FSH hormones were analyzed by ELISA. It has been observed that KOH application causes cellular and molecular alterations by affecting uterine wall thicknesses, gland count and hormone values, and that these changes are especially enhanced by 5 repeated applications of KOH. Degeneration of KOH application on uterine tissue, especially in the endometrium as well as in the endometrium, that is, depending on the preparation of the pregnancy, it may lead to a decrease in the involvement of certain markers. It was observed that these changes were especially enhanced with 5 applications of KOH. It has come to the conclusion that there is a need for advanced molecular studies to be done.

Science Code : 1061. 4
Key Words : Controlled Ovarian Hyperstimulation, Uterus, Receptivity,
Immunohistochemistry
Page Number : 149
Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

	Sayfa
2.5.1. Doğum öncesi olgunlaşma	33
2.6. İnfertilite.....	40
2.6.1. DSO'ne göre anovulasyonun sınıflanması.....	41
2.7. Ovulasyon İndüksiyonu	42
2.7.1. Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon.....	43
2.8. Ovulasyon'u Uyaran Ajanlar	44
2.8.1. Klomifen sitrat	44
2.8.2. Tamoksifen.....	46
2.8.3. Aromataz baskılayıcıları	48
2.8.4. İnsülin'e duyarlaştırıcılar	50
2.8.5. Gonadotropinler	51
2.8.6. GnSH agonistleri.....	55
2.8.7. GnSH antagonistleri.....	56
2.9. Kullanılan Antikorlar	56
2.9.1. İntegrin $\beta 1$	56
2.9.2. E-kadherin.....	58
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	61
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	61
3.2. Deneyin Yapılışı.....	61
3.2.1. Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon (KOH) protokolü.....	61
3.3. Işık Mikroskopik Yöntem	63
3.3.1. Hematoksilen – eozin boyama yöntemi	63
3.3.2. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi	64
3.4. ELISA Yöntemi	65
3.5. İstatistiksel Yöntem.....	69
4. BULGULAR	71

	Sayfa
4.1. Işık Mikroskopik Bulgular	72
4.1.1. Hematoksilen – eozin boyama bulguları.....	72
4.1.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	88
4.2. Elisa Bulguları.....	110
5. TARTIŞMA	113
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	131
KAYNAKLAR	133
EKLER.....	145
EK-1. Değerlendirme ve Onay Formu.....	146
EK-2. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Toplantı Katılım Listesi	147
EK-3. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası	148
ÖZGEÇMİŞ	149

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Ağırlıklara ilişkin tanımlayıcı veriler	71
Çizelge 4.2. Ağırlıklara ilişkin istatistiksel sonuçlar	71
Çizelge 4.3. Histokimyasal değerlendirmeye ilişkin tanımlayıcı veriler	84
Çizelge 4.4. Histokimyasal değerlendirmeye ilişkin istatistiksel veriler	85
Çizelge 4.5. İmmunohistokimya tanımlayıcı veriler.....	107
Çizelge 4.6. İmmünohistokimya karşılaştırma istatistiksel test sonuçları	108
Çizelge 4.7. Gruplar arası hormon değerlerinin parametreleri	110
Çizelge 4.8. Gruplar arası hormonların p değerleri	111

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Serum FSH standart grafiği	66
Şekil 3.2. Serum LH standart grafiği	67
Şekil 3.3. Serum E2 standart grafiği	69
Şekil 4.1. Ağırlıklara ilişkin gruplar arası anlamlı farklılıklar.....	72
Şekil 4.2. Uterus kalınlıklarına ilişkin grafikler.....	86
Şekil 4.3. Bez sayısına ilişkin grafikler	86
Şekil 4.4. Dejenerasyon kriterlerine ilişkin grafikler.....	87
Şekil 4.5. E-kaderin ve İTGB1 primer antikorlarının bölgelere göre immünreaksiyon yoğunluklarına grafikler	109
Şekil 4.6. Estradiol hormonuna ilişkin grafik. Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.....	111
Şekil 4.7. Lüteinleştirici hormonuna ilişkin grafik	112
Şekil 4.8. Folikül stimule hormonuna ilişkin grafik	112

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. A, B: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	75
Resim 4.2. A, B: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	76
Resim 4.3. A, B: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	77
Resim 4.4. A, B, C: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 grubuna (3 tekrar) ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	78
Resim 4.5. A, B, C: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 grubuna (3 tekrar) ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	79
Resim 4.6. A, B, C: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 grubuna (3 tekrar) ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	80
Resim 4.7. A, B, C: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 grubuna (5 tekrar) ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	81
Resim 4.8. A, B, C: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 grubuna (5 tekrar) ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	82
Resim 4.9. A, B: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 grubuna (5 tekrar) ilişkin Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler	83
Resim 4.10. A, B: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler.....	92
Resim 4.11. A, B: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler.....	93
Resim 4.12. A: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler.....	94
Resim 4.13. A, B: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler.....	95
Resim 4.14. A, B: Uterus doku kesitlerinde kontrol grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler.....	96
Resim 4.15. A, B: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 (3 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	97

Resim	Sayfa
Resim 4.16. A: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 (3 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	98
Resim 4.17. A: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 (3 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	99
Resim 4.18. A: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 (3 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	100
Resim 4.19. A: Uterus doku kesitlerinde Deney 1 (3 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	101
Resim 4.20. A, B: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 (5 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	102
Resim 4.21. A, B: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 (5 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	103
Resim 4.22. A, B: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 (5 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	104
Resim 4.23. A, B: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 (5 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	105
Resim 4.24. A, B: Uterus doku kesitlerinde Deney 2 (5 tekrar) grubuna ilişkin İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler	106

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

ca+2	Kalsiyum
cm	Santimetre
gr	Gram
iu	International Unit
l	Litre
mg	Miligram
mm	Milimetre
ml	Mililitre

Kısaltmalar

Açıklamalar

A	Androstenedion
AI	Açıklanamayan İnfertilite
AMH	Antimüllerian Hormon
Bmp15	Kemik Morfogenetik Protein 15
C- kit reseptörü	Reseptör Tirozin Kinaz İnhibitorü
DAX1	Dozaja Duyarlı Olarak Cinsiyeti Tersine Çeviren Gen 1
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSO	Dünya Sağlık Örgütü
E- kadherin	Epitel Kaderini
E1	Estron
E2	Estradiol
ELISA	Enzyme - Linked ImmunoSorbent Assay testi
ESM	Ekstrasellüler Matriks
FSH	Folikül Stimule Edici Hormon
FSHR	Folikül Stimule Edici Hormon Reseptörü
GnSH	Gonadotropik Salgılayıcı Hormon

Kısaltmalar	Açıklamalar
GnSH agonist (GnSHa)	Gonadotropik Salgılayıcı Hormon Agonisti
GnSH analoğu	Gonadotropik Salgılayıcı Hormon Analogu
GnSH antogonistleri	Gonadotropik Salgılayıcı Hormon Antogonisti
HETE	Hidroksieikosatetraenoik Asit
ICSI	İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
ITGB1	İntegrin $\beta 1$
IVF	İnvitro Fertilizasyon
İCBH	İntersitisyel Cajal Benzeri Hücreler
İKG	İnsan Koryonik Gonadotropin
İmg	İnsan Menopozal Gonadotropin
KG	Koryonik Gonadotropin
KOH	Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon
KS	Klomifen Sitrat
KSF-1	Koloni Stimule Faktör -1
LH	Luteinleştirici Hormon
LHSH	Lüteinleştirici Hormonu Salgılayan Hormon
MAPK	Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz
MBF	Matürasyon (olgunlaşma) Başlatan Faktör
MBM	Müller Baskılayıcı Madde
MOS	MOS proto-onkogen
Mrna	Haberci Ribonükleik Asit
MTF	Maturasyon Teşvik Edici Faktör
N – kaderin	Neural Kaderin
NOS / MAPK yolu	Nitrik Oksit Sentaz/ Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz yolu
OHSS	Ovaryan Hiperstimulasyon Sendromu
OIA	Ovulasyon İndüksiyon Ajanları
OMI	Oosit Matürasyon İnibe Edici Faktör
P- kaderin	Plasental Kaderin
PAS	Periyodik Asit Sciff Reaksiyonu
PKOS	Polikistik Over Sendromu
PMSG	Hamile Kısırak Serum Gonadotropin
R – FSH	Folikül Stimule Edici Hormonun Rekombinant Şekli

Kısaltmalar**Açıklamalar**

R – LH	Lüteinleştirici Hormonun Rekombinant Şekli
RGD	Arg- Gly- Asp Tripeptitleri Dizisi
S₂-S₄ segment	Servikal (2- 4), Spinal Sinir Segmenti
SERM	Selektif Östrojen Reseptör Modülatörleri
SF-1	Steroidogenik Faktör - 1
Sitokrom P- 450	Sitokrom P- 450 Enzim Kompleksi
SOX9	SRY- box- 9 Transkripsiyon Faktörü
SRY geni	Y Kromozomundaki Cinsiyet Belirleyici Gen
T	Testosteron
T₁₂L₁ segment	Torakal (12) ve Lumbar (1) Spinal Sinir Segmenti
Tb	Tablet
TBF	Trankrsipsiyon Belirleyici Faktör
TMK	Tamoksifen
V- kaderin	Vaskular Endotelyal Kaderin
VEBF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WNT4	Wingless-tip MMTV İntegrasyon Bölge Ailesi, 4. Üyesi
Yp11	Y kromozomu, petit kol, bant 1, alt bant 1
YÜT	Yardımla Üreme Teknikleri
ZP1	Zona Pellusida Sperm Bağlayıcı Protein 1
ZP2	Zona Pellusida Sperm Bağlayıcı Protein 2
ZP3	Zona Pellusida Sperm Bağlayıcı Protein 3
β-katenin	Beta- katenin

1. GİRİŞ

Üreme sistemleri, kadın ve erkeklerde gamet hücrelerin üretimi (gametogenez) ve üreme hormonlarının salgılanması (steroidogenez) gibi fonksiyonları içermektedir. Üreme fonksiyonlarının süreçlerinin sorunsuz gerçekleşmesi, genetik yapı, sağlam anatomi, GnSH salgılanması (Gonadotropin Salgılayıcı Hormon) için hipotalamus varlığına ve gonadotropik hormonların, Folikül Stimule Edici Hormon (FSH) ve Luteinleştirici Hormon (LH)' in salgılanması amacıyla hipofize, fonksiyonel üreme organlarının varlığına ve uyumlu bir bütünlük içerisinde fonksiyon göstermelerine bağlıdır. Bu fonksiyonların işleyişinde görülen bozukluklar, infertiliteye sebep olabilmektedir [1].

İnfertilite korunmasız şekilde, düzenli cinsel ilişki varlığına karşın, bir yıllık süreç sonunda gebe kalınamaması, olarak tanımlanır ve günümüzde çiftlerin %10 - 20' sini etkileyebilen bir sorundur. İnfertilite faktörleri kadınlarda ve erkeklerde aynı oranlara (%40 - 45) bağlı olarak gerçekleşebilir. Her iki cinsiyete bağımlı ve açıklanamayan infertiliteye (%15 - 20) bağlı infertilite sorunları da vardır [1].

İnfertilite tedavisi son zamanlarda tıbbi olarak artmıştır, canlı doğumların %1. 33' ünün İn-vitro fertilizasyon (IVF) ve İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yardımla üreme teknikleri' nden (YÜT) kaynaklandığı tahmin edilmektedir [2].

Kontrollü over hiperstimülasyonu (KOH), infertilite tedavisinde yaygın bir uygulamaya sahip olan, yardımla üreme teknikleri (YÜT) dahilinde, overlerden en ideal sayı ve kalitede oosit elde etmek amacıyla aynı siklusta çok sayıda follikülün geliştirilmesi esasına dayanır. Bu amaçla pek çok KOH protokolü geliştirilmiştir [3].

İnfertilite olgularının artması ile birlikte KOH, yardımla üreme tekniklerinin vazgeçilmez bir parçası olmuştur. Fakat bu yöntem normal ovulasyona sahip kadınlarda fizyolojik olan, tek baskın folikül seçimi ve olgunlaşması mekanizmasına ters düşmektedir. YÜT uygulamalarında yumurtalıkların uyarılması için, insan menopozal gonadotropin (İMG) ve follikül stimule edici hormon (FSH) gibi gonodotropinler kullanılır. Ayrıca yardımla üreme tekniklerindeki ilerlemelere rağmen gebelik sağlamak için hastaların çoğunda birden fazla KOH uygulaması yapılması gerekmektedir [4].

YÜT çerçevesinde uygulanan KOH tekniği her ne kadar normal koşullarda çocuk sahibi olamayan çiftlere büyük ölçüde umut ışığı olsa da uzun süreli etkileri henüz tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır. Ovulasyonun uyarılmasında kullanılan ajanların ovaryum, uterus, serviks gibi üreme organları üzerinde olumsuz etkileri olduğu önerilmektedir [5].

Uzun süre ovulasyonun ajanlarla uyarılması ve ovaryum kanseri arası ilişki olduğunu varsayan çalışmalar da bulunmaktadır. Ancak meme, tiroid, endometriyum, serviks, kolon kanseri arası ilişki tespit edilememiştir [6].

Bununla birlikte yapılan çalışmalarda, yüksek doz stimülasyonların oosit anöploidisi, embriyo mortalitesi, fetal büyüme geriliği ve konjenital anormallikleri artırdığını bildirmişler ve kontrol farelerle karşılaştırıldığında süperovülasyon uygulanan farelerde, gecikmiş embriyonik gelişime, artmış bir anormal blastosist oluşumuna, belirgin bir fetal büyüme geriliğine ve artan sayıda rezorpsiyon alanına neden olduğunu bildirmektedirler [7].

Uterus, ovaryum steroidleri olan östrojen ve progesteronun kontrolü altında olan dinamik bir dokudur. Uterusun endometriyum katmanı, embriyonun implantasyonunda reseptif duruma ulaşabilmek için proliferasyon, sekresyon ve menstruasyon döngülerini geçirir. Endometriyum doğal işlevlerini hormonların uyarımı ile gerçekleştirirken bu uyarımın etkileri, endometrial proteinlerin geçici olarak salgılanması, hücre davranışlarının ve bazı belirteçlerin ifadesinde meydana gelen değişimler olarak ortaya çıkmaktadır.

İntegrin $\beta 1$, hücre adezyon molekülleri ailesinden, plasma membranında yer alan transmembran glikoproteinlerden biridir. İntegrinlerin dağılımları farklı dokuların, epitel ve stromal hücrelerinde ESM ligantlarının lokalizasyonlarına göre değişim göstermektedir [8].

İntegrinler; endometrial, desidua ve ekstrasvillöz sitotrophoblast hücrelerinde bulunabilmektedir. İntegrinlerin bir kısmı, endometrial bez epitelinin lümeninde ifade edilirken, uterusun miyometriyumundaki düz kaslarda ifadelenen integrinler de mevcuttur [9- 11].

İntegrinler hücre - hücre ve hücre - matriks etkileşimlerinde, hücre göçü ve farklılaşmasında, sinyal, epitel polaritenin sağlanması ve gelişimi, plasental sitotrofoblastların invaziv fenotipe dönüşmesinde görev alırlar [12, 13].

Maternal endometriyumdan embriyonun tutunmasını destekleyebilmesi için, integrin beta 1 gibi, hücre adezyon moleküllerinin yüzeydeki ekspresyonları gereklidir. Beta 1 integrin eksikliğinde farelerde embriyogenezle ilgili, implantasyondan kısa bir süre sonra ölüm görülmüş ve B1 integrin' in tümör oluşumu ve metastazla da ilişkili olabileceğini önermektedirler [14].

E-kadherin uvomorulin olarak da bilinen, 5 saatlik yarı ömrü olan, tip-1 klasik kaderinlerin prototip üyesidir ve ilk olarak Ca^{+2} bağımlı hücre yüzey proteinlerinde, hücre hücre adezyon aracılı olma durumlarına göre, erken fare embriyo blastomerlerinde keşfedilmiştir [15- 18].

Kaderinlerin kalsiyum bağımlı hücre- hücre adezyon, hücre göçü sırasında hücre morfogenezinde, hücre polaritesini, doku morfolojisini, hücre- hücre etkileşimleri, bağlantı komplekslerinin oluşumu, büyüme ve proliferasyon baskılayıcı olarak tümör invazyonunda ve üreme dokularında yapının korunması, farklılaşmasında önemli rolleri vardır [18- 21].

E kaderin içermeyen farelerde kusurlu preimplantasyon embriyo gelişimi ve implantasyon başarısızlığı görülmektedir [22].

İnsanlarda E-kaderin ifadesinin trofoblast ve sitotrofoblast ve endometriyum arasında homofilik etkileşime aracılık ettiği tanımlanmış ve bu durum da E-kaderinin embriyo tutunmasının başlangıcında implantasyon sırasındaki rolünü önermektedir [23].

Uterus dokusundaki hormonal değişimlerin etkisine dayanarak çalışmamızda 3 ve 5 tekrar kontrollü ovaryan hiperstimulasyon protokolü ile oluşturulan deney protokolünde uterus duvarında oluşabilecek olası büyüme, farklılaşma, çoğalma ve onkojenik transformasyon gibi değişimlerin çeşitli immunohistokimyasal belirteçlerle araştırılması amaçlandı.

Uterus dokusunda bulunan immünohistokimyasal belirteçlerden, integrin $\beta 1$ ve E- kadherin ile immünohistokimyasal değerlendirme yapıldı. Hormon seviyeleri Elisa analizi ile ölçüldü. Uterus' un endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum kalınlıkları ölçülerek istatistiksel karşılaştırma yapıldı. Çalışmadan elde edilen bulgular ışık mikroskobu düzeyinde kaynak verileriyle karşılaştırmalı olarak incelendi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus Gelişimi

Embriyonun genetik ve kromozomal açıdan cinsiyetini, yumurtayı dölleyen spermin farklılığı belirlese de embriyonik 7. haftaya kadar erkek ve dişiye ait morfolojik özelliklerin gelişimi başlamaz ve cinsiyet ayrımı yapmak mümkün değildir. Bu nedenle genital sistemde gelişimin başlangıcı, farklılaşmamış dönem olarak adlandırılır [24, 25].

Farklılaşmamış dönem, farklılaşma döneminden önce gonadlarda ve genital yollarda aynı anda gerçekleşir [26].

Genital sistemin 5 - 6. haftalarında embriyo, farklılaşmamış dönemdedir ve genital kanalların her iki çiftini de içerir. 6 haftalık ve 15 mm' lik erkek embriyoda farklılaşma dönemi başlar [24, 27].

Cinsiyet ayrımı, çok fazla genin görevli olduğu ve bazı otozomal genlerin de yer aldığı bir süreçtir. Yp11, Y kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan SRY genini (Y kromozomundaki cinsiyet belirleyici gen) taşır. Testis belirleyici faktör aynı zamanda bu gende bulunan Trankrsipsiyon faktörü (TBF)' dür. Genlerin protein ürünü, rudimenter haldeki cinsiyet organlarının geleceğini belirleyen genleri harekete geçirir. Bu faktör fetusta varsa fetusun cinsiyeti erkek, yoksa dişi yönde gelişir [28].

İlkel gonadların ovaryumlara farklılaşmasında görevli genlerden biri de WNT4' dür.

Wnt genleri gelişim olaylanırken, müllerian (paramezonefrik) kanalının oluşumu, intersitisyel hücre çizgisinin farklılaşması, folikül olgunlaşması ve steroid biyosentezi gibi süreçlerde yer alır [29-31].

WNT4, nükleer hormon reseptör ailesinin bir üyesi olan DAX1' i aktive eder ve DAX1 SOX9' un işlevini inhibe etme özelliğine sahiptir. DAX1 aynı zamanda SF-1' in aktivasyonunu düzenleyen, sertoli ve leydig hücre oluşmasını engelleyen X kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan bir gendir [28].

Gonadlar, epitelin proliferasyonu ve altında bulunan mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşur ve kökenlerini mezodermal sölom epiteli (mezotel), mezenkim ve primordiyal germ hücrelerinden alırlar [25, 28].

Gonadal gelişim, ilk taslakların mezonefroz medialin bölgesinde bulunan sölom epitelinin kalınlaşmasıyla başlar. İlk taslağın şekli çizgi şeklindedir ve buna stria genitalis denir. Bu sırada sölom epiteli altında bulunan mezenşim de çoğalarak sıkışır ve mezenşim hücreleri de sıkışarak yan yana mezenkimal blastemi oluştururlar. Stria genitalis ve mezenkimal blastem kendiliğinden oluşur ancak gelişimlerinin devam etmesi genital sırtlara göçü tamamlayacak olan primordiyal germ hücreleri (gonositler) tarafından sağlanan indüksiyon ile olur. İlkel germ hücreleri, göçlerini primitif çizgi boyunca gerçekleştirir ve kökenleri epiblasttan gelir. Primordiyal germ hücreleri, gebeliğin 3. haftasında vitellüs kesesinin kaudal duvarında yer alır ve farklılaşmalarını allantoise yakın bir alanda, endodermal hücrelerin arasına yerleşimleriyle gösterir [25, 28, 32].

Primordiyal germ hücreleri, 5. haftada arka bağırsağın dorsal mezenteri boyunca embriyonun lumbal bölgesinde bulunan Stria genitalis' in geliştiği yere göç eder. Bu bölgeye ulaştığında bu hücrelerin bir kısmı mezenkimal blastem içerisinde kalır, bir kısmı ise 6. hafta içinde stria genitalis epitelinin içerisine girer. 6. hafta öncesinde genital sırtlarda, germ hücreleri yer almaz. Böylece gonadal kabartı, primordiyal germ hücrelerinin etkisi sonucu sölom epiteli mezenşim içine doğru gömülür ve primitif cinsiyet kordonlarını düzensiz şekilde oluşturur, kordonların içine yerleşmeye başlar. Bu kordonların arasında kalan mezenkim hücreleri sıkışmaz, gevşek bir durumda kalır. Farklılaşmamış dönem, germ kordonlarının gelişiminin başlamasıyla son bulur. Farklılaşmamış gonad, korteks ve medulla şeklinde ayırt edilir [25, 28, 32].

Eğer embriyo XX kromozomlarına sahipse, farklılaşmamış gonad, korteks bölümünü ovaryuma farklılaştırır, bu süreçte medulla gerilemektedir. Ancak embriyo XY cinsiyet kromozomlarını içeriyorsa, medulla bölümü testisi oluşturur, bu sırada korteks bölümü de gerileyerek dejenerasyonunu gerçekleştirir [24, 28, 33].

Primordiyal germ hücreleri genital sırtlara ulaşamazsa, gonadlar gelişimini tamamlayamaz çünkü bu hücreler, gonadların over veya testise farklılaşması için uyarıcı etkiye sahiptir [28].

Farklılaşmamış dönemin tamamlanıp cinsiyetlerin farklılaşması, gelişimin erkek yönde gerilemesiyle olur. Fetusta cinsel farklılaşma gebeliğin ilk yarısında tamamlanırken, son yarısında ise yeni oluşan genital bölgeler büyüyerek tanımlanabilir hale gelir. Farklılaşmamış dönemde, fetal yaşamın 6. haftasına gelindiğinde ürogenital sinüs ve mezonefrik kanalların yerleşimi belirgindir. Bu dönemde eşleştirilmiş müllerian (paramezonefrik) kanalların gelişimi başlar ve bu yapılar gelişmekte olan ovaryumun yanındaki sölomik epitelin invajinasyonu ile oluşur. Müllerian kanallar kaudal olarak büyürken, bu kanalların distal kısımları orta hatta kaynaşır ve kısa bir süre sonra da orta duvarları kaybolur. Lümeni tek bir boşluk oluşturacak şekilde süreklilik kazanır. Kaynaşmış müllerian yapıların aşağı doğru büyümeleri ürogenital sinüs ile iletişim haline geçmesini sağlar. Bu dönemde fetusta hem mezonefrik kanallar hem de müllerian kanallar mevcuttur [34].

Wolff ve müller kanalları, gelişimin başlarında her iki cinsiyete sahip embriyoda iki çift genital kanallar halinde bulunur. Wolff kanallarının gelişimi, müller kanallarının gelişiminin tersi şeklindedir. Erkekte müller kanalları atrofiye uğrarken, kadınlarda atrofiye uğrayan wolff kanallarıdır [26, 28, 32].

Dişi embriyolarında testosteron ve müller baskılayıcı madde (MBM) yokluğundan dolayı paramezonefrik kanallar gelişirken, mezonefrik kanallar körelir. Cinsiyet gelişiminin erkek yönde uyarılması için testosteron varlığı zorunluyken, gelişimin dişi yönde olmasında, over ve hormon varlığı gerekli değildir. Paramezonefrik kanallar, sadece kadınlarda gelişimini tamamlar. Bu kanalların dişi genital yolların oluşumunda önemli görevi vardır [24, 25, 35].

Her paramezonefrik kanal, başlangıçta üç bölgeden oluşur.

1. Karın boşluğuna açılan, kranial vertikal bölge
2. Mezonefrik kanalları çaprazlar halde bulunan, horizontal bölge
3. Karşı taraftan gelecek olan eşiyile birleşen, kaudal vertikal bölge.

Ovaryumların aşağı doğru inmeleriyle, ilk iki bölgeden tuba uterinalar gelişirken kranial vertikal ve horizontal bölgeden ise uterus tüplerinin epitelisi gelişir. Uterus tüplerinin diğer katmanları ise çevreleyen mezodermden gelişmektedir. Uterus tüplerinin alt parçaları ise orta çizgide kaynaşarak uterus kanalını oluşturur [26, 28, 36].

Kanalların birleşmesi sonucu, uterus kanalının ucundaki, kanalın hücreleri çoğalır ve ürogenital sinusun arka duvarına doğru küçük bir şişlik oluşturur. Bu şişlik Müllerian veya Paramezonefrik tüberkül' dür. Mezonefrik kanalların ürogenital sinusa açılması müllerian tüberkülün iki yanından gerçekleşir. Uterus bezleri ve epiteli uterus kanalının üst bölümü olan tüberkülden gelişirken, uterus kanalı, epitel çizgisini oluşturur. Uterus duvarındaki diğer katmanlar, çevreleyen mezodermden gelişir. İki paramezonefrik kanal birbirleriyle kaynaşmak için büyürler, kaynaşma Uterus'un serviks ve korpus bölgelerinin gelişimini sağlar. Gelişen bölümlerin etrafı 4. ayda komşu splanik mezenşimin proliferasyonu ile sarılır. İç kısımda uterusun stroması olan endometriyum, ortada müsküler tabakası olan miyometriyum, düz kas ve gevşek bağ dokudan oluşan uterusun dış peritoneal örtüsü perimetriyum oluşur. Kanalların birleşmesi ile aynı zamanda iki tane peritoneal katlantı da birleşir ve sağ, sol kalın (broad) ligamentler, rektouterin ve vesikouterin çukurlar oluşur [24-26, 28, 36].

Uterus' un bazı yapıları gelişimini, gebeliğin son üç ayında tamamlar. Uterus bezleri ve kas tabakası oluşumunu gebeliğin ortalarına yakın bir dönemde başlatır. Servikste mukus salgılayan bezler ise gebeliğin son üç ayında gözlenir [37].

Mezonefroz genital sistemde işlevsel hale geldiğinde, büyük bir kısmı geriler ve bu gerilemeye mezonefroz kanalcıklarıyla bağlantı halinde olan wolff kanalının bölümleri de katılır. Kadınlarda bazı zamanlarda kranial ve kaudal boşaltım kanallarından bazı artıklar kalır ve bu artıklar mezovaryumda yer alarak ovaryumun üst kısmında bulunan rudimenter bir kanal halindeki wolff kanalının kadındaki rudimenter artıkları olan Epoophoron' u ve ovaryumun kaudal ucunda bulunan birkaç mezonefrik tüplerin devamı olan Paraophoron' u oluşturur. Paraophoron uterusu yakın kısımdan ovaryumun yanındaki diğer rudimenter kanalcıkları oluşturur. Wolff kanalı' nın en kaudal parçasından kadınlarda bir artık geri kalır ve uterusun her iki tarafında, bazen de uterus bezi içinde Gartner kanalcıkları görülür. Gartner kanalcığı erkeklerde Vas deferens' e karşılık gelir ve mezonefrik kanalın kalıcı kısmıdır. Gartner kanalcıklarından da bazen uterus veya vajen duvarında kaudal parça kalırsa bu ilerleyen yaşlarda kist (Gartner kisti) ve tümörlerin gelişimini sağlayabilir [25, 28, 32, 36].

Mezonefrik kanal' ın Epooforon' da bulunan küçük kranial parçasının dışında mezonefrik kanal kaybolur [28].

Uterusda görülen anomaliler parametonefrik kanalların kaynaşma yetersizliğinden ya da sinovaginal bulbus birleşmesinden kaynaklanan anomalilerdir. Uterus dublikasyonları parametonefrik kanalların herhangi bir bölgesinde ve parametonefrik kanalların uzunluklarıyla ilgili olarak kaynaşmanın gerçekleşmemesiyle olur. Uterus didelfis uterusun en ilerlemiş anormali şeklidir ve bu anomaliye iki uterus bulunurken, çift serviks çift vajina ile de görülmektedir. Uterusun en hafif şekilde görülen anormali şekli ise bir çıkıntı şeklinde, uterus korpus ortasında bulunan lümen içerisine uzanan Uterus arkuatus formudur. Bir diğer sık görülen uterus anomali ise ortak bir vajinaya iki boynuz halinde açılan Uterus bicornis' tir [25, 28].

2.2. Uterus Anatomisi

Uterus, ovum' un, tuba uterinanın ampulla bölgesinde döllenme sonrasında gelerek yerleştiği, doğum gerçekleşene kadar kalarak gelişimin, değişimin ve doğumun gerçekleştiği yerdir. Uterus alt pelvisin orta kısmında, mesane ve rektum arasında yer alır. Önden arka kısma basık, ters şekilde duran, armuta benzer, gelişmiş kas tabakası olan içi boş bir organdır [31,38, 39].

Uterus alt kısımda vajinayla bağlantı halindedir, yan üst kısımları ise uterus tüplerine açılır. Doğum yapmamış kadınlarda, uterus 7, 5 cm boyunda, 5 cm genişlikte, 3 cm kalınlıkta ve 30- 40 gr ağırlığındadır. Bu boyutlar hamilelik döneminde 15 - 16 kat artarak değişim gösterir. Ancak gebelik sonrası uterus normal büyüklüğüne geri döner. Uterus' un anatomik olarak konumu, antevertio ve anteflexio' dur. Antevertio, uterus ve vajina arasında gerçekleşen, uterusun uzun eksenini ile vajinanın eksenini arasındaki açıklığın öne bakan açısının yaklaşık 90 derecelik olması yani uterus eksenini ile pelvis ekseninin aynı yönde olmasıdır. Anteflexio ise uterusun serviksi ile korpusu arasında ortaya çıkan ve açıklığı öne bakan açıdır [31, 40].

Sağlıklı gebelik için uterusun konumu önemlidir. Uterus' un normal duruşu öne doğru yatık (antevers) haldedir [31].

Uterus, dolu bir mesane ile arka tarafa itilebilen, aynı zamanda, dolu bir rektumla öne doğru hareket edebilen bir organdır. Gebelik döneminde uterus öne ve yukarı doğru konumunu yükseltir. Menopozdan sonra uterus belirgin şekilde küçülür. Normal bir uterus

simetrik, düzgün ve serttir. Uterus' un bu sertliğini pek çok faktör etkileyebilir. Uterus menstrual siklusun luteal döneminde süngerimsi yapıda olurken, gebelikte yumuşak yapıda, menopoza sonrasında daha sert durumda olabilir [40].

Uterus' un yapı ve işlev yönünden birbirinden farklı, dört kısmı vardır.

2.2.1. Corpus uteri (Gövde)

Uterus' un 2/3' lük geniş üst gövdesidir ve mesane ile komşu olan ön yüzü düz, bağırsaklarla komşu olan arka yüzü konveks şekillidir [41, 42].

Dış üst köşelerine tuba uterinalar açılır. Tuba uterina' ların uterusu giriş yaptığı yere Cornu uteri denir. Her iki tarafta Cornu uteri' nin, arka alt kısmında, ligamentum ovarii proprium (lig. uteroovaricum) ön altında da ligamentum teres uteri, uterusu tutunur. Corpus uteri' de, Cavitas uteri adında yaklaşık 6 cm uzunluğunda bir iç boşluk vardır. Organın duvarının kalın olması nedeniyle organın büyüklüğüne oranla daha küçük bir boşluktur. Cavitas uteriyi vajinaya bağlayan kanal ise Canalis cervicis uteri' dir [43].

Corpus uteri' nin düz facies anterior ve konveks şekilli facies posterior olarak adlandırılan peritonla kaplı iki yüzü vardır. Peritonla kaplı olan ön yüz, mesane ile komşudur ve periton ön yüzden mesaneye atlayarak, uterus ile mesane arasında meydana gelen Periton çıkmazı' na (excavatio vesicouterina) neden olur. Corpus' un arka yüzünü örten periton ise vajinanın üst kısmından rektuma atlar ve Periton çıkmazı' nı (excavatio rectouterina) oluşturur [39,40].

Uterus' un yan kenarları konveks şekillidir ve yan kenarlardan tuba uterina uterusu girer. Ayrıca yan kenarlara ligamentum teres uteri ve ligamentum ovarii proprium tutunur. Yan kenarlar ile ilgili olan her üç oluşum da Ligamentum latum uteri' nin içerisinde [39].

2.2.2. Fundus uteri

Tuba uterina' ların uterusu giriş yaptığı deliklerin, transvers yönde uzanan hayali bir çizgi ile birleştirilmesiyle, bu çizginin yukarısında kalan corpus uteri bölümü, Fundus uteri' dir. İnce bağırsak kıvrımlarıyla komşudur ve tamamen peritonla örtülür. Bu bölüm uterusun en geniş kısmıdır. Fundus duvarından fallop tüpleri organ içine girer. Seksüel açıdan olgun

kadınlarda, fundus uteri, tuba uterinanın uterusu tutunduğu yer olan, sağ ve sol cornu uterinin ilerisinde oluşur. Korpus ve fundus histolojik olarak hemen hemen aynıdır. Corpus uteri ile fundus uterinin birleştiği köşelerde üç adet oluşum vardır. Bunlar tuba uterina, lig. teres uteri ve lig. ovari propriumdur [31, 39, 40, 44].

2.2.3. İsthmus uteri

Yaklaşık 1 cm uzunluğunda dar uterus kısmıdır ve uterus ile serviksin birleşme yeridir. Corpus uteri ve cervix uterinin hemen yukarısında yer alarak, organın dış yüzeyinde hafif daralma şeklinde görülür. İsthmus uteri ile cervix uterinin birleşme yerinde bulunan ağza, Ostium anatomicum uteri internum (internal os) denir [38, 43].

2.2.4. Cervix uteri (Serviks)

Cervix uteri, uterusun mesane ve rektum arasında bulunan 1/3 alt silindirik inferior parçasıdır ve bir kısmı vajinanın içine kadar uzanmaktadır. Bu kısım ince posteroinferior şekilde yönelmiş ve corpus uteriden daha dar ve yuvarlaktır. Yaklaşık 2, 5 cm uzunluğunda ve uterusun en sabit kısmıdır [38, 39, 43, 45].

Cervix uteri içerisinde, üst kısımda cavitas uteri, alt kısımda ise vajina ile devamlı Canalis cervicis uteri adında bir kanal vardır. Bu kanal isthmus uteri ile ostium uteri arasında yer alır. Canalis cervicis uteri, iğ şeklindedir ve mukozasında, plicae palmatae veya arbor vitae uteri isimli palmiye yaprağına benzeyen plikalar görülür. Bu mukoza, servikal kanalı bir tıkaç şeklinde kapatan mukusu üreten servikal bezler içerir [38, 43].

Cervix uteri, üst (portio supravaginalis cervicis) ve alt (portio vaginalis cervicis) olmak üzere iki bölüme ayrılır. Üst bölüm olan portio supravaginalis cervicis, parametrium adı verilen bağ dokusuyla mesaneden ayrılır ve Vajina' nın üstündedir. Bu bölüme endocervix de denir. Alt bölüm Cervix uteri' nin vajina ön duvarı üzerine sarkan bölümüdür. Bu bölüme aynı zamanda exocervix de denir. Vajinanın içinde olan bu cervix uteri bölümünün vajina ile bağlantısı sonucu fornix vaginae adında derin bir oluk oluşur. Bu oluk en derin arka tarafta yer alır (fornix posterior) [39, 43] .

Alt bölüm olan exocervixde cervix uterinin vajinaya açılan ağzı olan, ostium uteri (eksternal os) adında bir delik vardır. Bu delik Portio vaginalis cervicis' in yuvarlak ucundadır [39, 43].

Ostium uteri, doğurmamış kadınlarda, yuvarlak iken doğurmuş kadınlarda transvers olarak uzanan bir yarık şeklindedir. Yarığın önünde kalan bölümü Labium anterius, arkasında kalan bölüm ise Labium posterius' tur [31].

Vajinanın üst kısmı Portio vaginalis' i kuşatarak, uterus ile vajina arasında bir çıkmaz (fornix vagina) oluşturur. Bu çıkmazın arka bölümüne Fornix vaginae posterior denir. Burası, kopulasyon gerçekleşirken spermiumların atıldığı yerdir. Çıkmazın yan bölümlerine, Fornix vaginae lateralis, ön bölümüne ise Fornix vaginae anterior adı verilir [38].

Uterus, çevresinde bulunan içi boş organların (mesane, rektum) hacimlerine bağlı olarak pozisyonunda değişkenlik gösterir. Mesane boşken, uterusun gövde kısmının servikse doğru (anteflexio) olan hareketiyle, uterus tümüyle öne eğilir (anteversio). Mesanenin boş olduğu diğer bir durumda uterusun öne doğru eğilmesiyle, corpus ve cervix bölgelerinin birleşme noktasında eğrilik olur. Uterusun isthmus yüksekliğinde öne doğru kıvrılması sonucunda antefleksiyon pozisyonu olur. Mesane idrarla dolu iken, uterusun fundus bölümü, os sacruma doğru yönünü değiştirir. Gebelik döneminde fetusun büyümesine bağlı olarak uterus çok genişler, duvarı inceler ve epigastrik bölgeye kadar ulaşır [38, 39].

Uterusu pelvis' de normal pozisyonunda tutan aktif ve pasif destekler vardır. Aktif desteği diaphragma pelvis sağlarken, en önemli olan pasif desteği ise uterusu normal anatomik pozisyonunda (Anteversiyon ve antefleksiyon) tutan ligamentum transversum cervicis (lig. cardinale, Mackenrodt bağı) sağlar [43].

Yenidoğmuş bir bebekte, uterus alt pelvise doğru uzanan tübüler bir yapıdadır. Serviks bölümü ise gövdesine oranla oldukça uzundur. Seksüel olgunlaşmaya ulaşana kadar organın belirgin bir şekli yoktur. Menstruasyon sırasında uterus hafifçe genişler ve vaskülarizasyonu artış gösterir. Gebelikte ise uterus genişler ve epigastrik alana doğru ilerler. İleri yaşlarda uterus atrofiye uğrar, serviks kısmı belirgin şekilde büzülür ancak

gövde kısmı geniş kalır. Hiç vajinal doğum yapmamış kadınlarda ostium uteri yuvarlak haldedir, ilk vajinal doğumdan sonra ise horizontal bir yarık halini alır [38].

2.2.5. Uterus' un ligamentleri

Uterus' u çevresinde bulunan yapılara bağlayan, ligament adı verilen destek görevli birçok bağ dokusu mevcuttur. Bu bağlar bir kısmı destek sağlayan periton kalıntıları (plica utero-vesicalis, plica recto-vaginalis), bir kısmı ise düz kas lifleri ve fibröz dokudan oluşan gerçek ligamentlerdir (ligamentum uterosacralis, ligamentum latum uteri, ligamentum teres uteri ve ligamentum transversum cervicis).

Esas olarak Uterus' un üç çift peritoneal ligamenti vardır.

- *Ligamentum anterius (plica utero-vesicalis)*: Excavatio vesicouterina' yı yapar. Plica utero-vesicalis periton katlantısı olup corpus uteri ile cervix uterinin birleşme yerinden mesanenin üst yüzüne uzanır [39, 43].
- *Ligamentum posterius (plica recto-vaginalis)*: Periton katlantısıdır. Excavatio rectouterina' yı yapar. Fornix posterior seviyesinde Rectum' un ön yüzüne uzanan peritoneum tarafından oluşturulur [43].
- *Ligamentum latum uteri (broad ligament)*: Uterus' un her iki yanından Pelvis' in lateral yüzlerine uzanan iki kat peritondur. Uterus ile birlikte Pelvis minor' u iki kısma ayıran bu bağ uterusun yanlara devrilmesine engel olur. Bağ dokusu damarlar ve sinirler içerir. Uterus' un ön ve arka yüzlerini örten periton yaprakları uterusun yan kenarlarında sırt sırta vererek pelvis yan duvarına atlayarak devam ederler. Ligamentum latum uteri' nin mesosalpinx, mesovarium ve mesometrium olmak üzere üç kısmı vardır. Ligamentin tuba uterinaya yakın olan kısmına Mesosalpinx, ovaryuma yakın olan kısmına Mesovarium ve uterusu yakın olan kısmına ise Mesometrium denir. Ligamentum latum uteri' nin iki periton yaprağı arasında uterusu yakın olan kısımlarında Parametrium adı verilen bağ dokusu yer alır [31, 38, 39, 43].

Ligamentum Latum Uteri içerisinde, a.v. ovarica, a.v.uterina, parametrium, tuba uterina, lig. ovarii proprium, lig. teres uteri (lig. Rotundum), Pelvik üreter' in alt parçası, sinirler (plexus uterovaginalis), lenf damarları, epoophoron (Rosenmüller organı) ve paraophoron yapılarını barındırır [43].

Uterus' un diğ er ligamentleri:

- *Ligamentum teres uteri (lig. Rotundum, round ligament, Hunter ligamenti)*: Plica gonadalis' ten köken alır ve Gubernaculum' un kalıntısıdır. Düz kas hücreleri içerir ve 10 - 12 cm uzunluğundadır. Bu ligament, uterusun cornu uteri civarından ba  layarak, pelvis duvarında ilerler ve Canalis inguinalis' ten geçerek labium majus pudendinin içerisindeki bağ dokuya karışarak sonlanır. Uterus' un antevertio pozisyonunun korunmasında rol alır [38, 43].

Uterus' un mekanik desteğinden sorumlu olan     ift servikal ligament de vardır. Bunlar Cervix uteriden pelvis duvarlarına uzanır ve pelvis tabanında yer alan bağ dokusu yoğunla  malarıdır [43].

- *Ligamentum cardinale (lig. transversum cervicis, Mackenrodt ligamenti)*: Uterus' un pasif desteğinde rolü önemli olan bir ligamenttir ve cervix uteri ve vajinanın lateral forniksinden pelvisin yan duvarlarına transvers olarak uzanan bağ dokusundan oluşur [39, 43].
- *Ligamentum pubocervicale*: Cervix uteri' nin   n yüzü ve vajinanın üst bölümünden öne doğru uzanarak pubis kemiğinin arka yüzüne tutunur [43].
- *Ligamentum rectouterinum (Lig. uterosacralis, Petit ligamentleri)*: Plica rectouterina' nın (Douglas plikası, plika uterosacralis) içerisinde yer alan, Cervix uteri' nin her iki yan tarafından arkaya doğru rectumun yanlarına uzanan ve rektumu sararak sakruma tutunan ligamenttir [39, 43].
- *Lig. sacrocervicalis*: Cervix uteri ile sakrum arasında uzanan bağ dokusudur.

Uterusun mekanik desteğı ise, uterusun esas desteğı olan m. levator anilerin tonusu (diaphragma pelvis), ligamentum cardinale ve ligamentum uterosacralis, fascia pelvisin visseral yaprağı (endopelvik fasiya) tarafından oluşturulur. Cervix uteri' yi ve vajinanın üst parçasını desteklerler. Uterosakral ligamentlerin kesilmesi, sistosel (mesane sarkması) ile sonuçlanır [43].

2.2.6. Uterus' un damarları ve sinirleri

Arterler

Uterus esas olarak a. iliaca internanın dalı olan a. uterina tarafından beslenir. Bu üreter üzerindeki periton altındaki bağ dokusundaki lig. latum uterinin taban kısmına doğru ilerleyerek cervix uteri yakınındaki uterus duvarına ulaşır. Arterler anterior ve posterior arkuat arter olarak ikiye ayrılır ve uterus dış yan duvarındaki yukarıya doğru olan kıvrımlı bir ana dal ve aşağıya doğru olan a. vaginalisi oluşturur. Fundus uteri ise yukarıya doğru olan dalın diğer tarafta bulunan aynı isimdeki dala birleşmesi sonrası a. ovaricaya katılan r. ovaricus' u oluşturur. Aynı zamanda tuba uterinaya giden dal rr. tubarii' yi de verir. Bu arterlerden endometriyuma giden birçok kıvrımlı dala rr. helicini denir. Bu arteriyal düzenlenme gebelikte büyüyen uterus nedeniyle arterlerin yaralanmasını engeller [38, 43].

Uterus arteri iki ayrı kaynakla endometriyumun iki katmanını kanlandırır. Uterus arteri, serozanın hemen altında uterusu çepeçevre kuşatır ve 6 - 10 arkuat artere dallanarak kan verir. Arkuat arterlerden ayrılan radyal arterler miyometriyumun iç kas tabakasının içine penetre olarak bazal ve spiral arterler olarak bilinen iki ayrı arter grubunu oluşturur. Kısa ve düz olan bazal arterler, stratum bazaleyi kanlandırır ve dolaşımın kesintisiz olmasını sağlarlar. Ters olarak spiral (kıvrımlı) arterler stratum bazaleyi kalınlığı boyunca geçer, uterus bezlerine paralel olacak şekilde uzanarak endometriyal yüzeye ulaşırlar. Daha sonra çevrede bulunan yoğun kapiller ağa drene olurlar. Kapiller ağ, ince duvarlı venöz göllenmelere dallanır ve bunlar da efferent venlere drene olur. Her menstrual siklusta spiral arterlerin distal kısımları dejenerasyon ve rejenerasyon halindedir. Menstruasyondan yaklaşık bir gün önce bu arterlerde ortaya çıkan güçlü vazokonstriksiyonlar bu damarlardan kanlanan kapillerde iskemi ve rüptürlere neden olur. Uterus bezleri nekroze olur; kan uterus sekresyonları ve doku debrisleri endometriyumdan dökülerek vajinadan dışarı atılır [43, 44].

Venler

Uterusun venleri Parametrium' da cervix uterinin her iki yanında plexus venosus uterinus adında iki pleksus oluşturur. Bu pleksustan başlayan uterin venler, vv. uterinae aracılığıyla v. iliaca internaya dökülür [38, 43].

Lenfatikler

Uterus' da lenfatik drenaj, fundus uteri ve corpus uteride çoğunlukla üç yönde gerçekleşir: Lig. suspensorium ovarii tarafından aort çevresindeki lenf düğümlerine, lig. teres uteri ile yüzeyel inguinal lenf düğümlerine ve lig. latum uteri yoluyla cervix uteri' den de lenf alan a. iliaca communis' in iki dalına ayrıldığı bölgedeki lenf düğümlerine dökülür. Diğer lenfatik damarlar Cervix uteri' den a.iliaca interna çevresinde yer alan parietal lenf düğümlerine ve arkada bulunan Nodi sacrales' e dökülürler [38, 43].

Cervix uterinin lenfini taşıyan lenf damarları, eksternal iliyak, internal iliyak, rektal ve sakral lenf düğümlerine drene olur. Corpus uterinin alt parçasının lenfini taşıyan lenf damarları, eksternal iliyak lenf düğümlerine açılır. Corpus uterinin üst parçası ve fundus uteri' nin lenf damarları; lateral aortik, preaortik ve yüzeyel inguinal lenf düğümlerine (lig. teres uteri çevresinde) gider [43].

Uterus' un sinirleri

Uterus' un sinirleri, ligamentum latum uteri içerisinde yer alan plexus uterovaginalis aracılığıyla innerve olur. Plexus hypogastricus inferior' dan kaynaklanan bu plexus içinde Frankenh user ganglionu adında bir ganglion mevcuttur. Parasempatik sinirleri, S₂-S₄ segmentlerinden (nn. splanchnici pelvici), sempatik sinirleri ise medulla spinalis' in T₁₂ - L₁ segmentlerinden gelir. Fundus ve corpus uterinin ağrı duyusu sempatik sinirlerde taşınırken, cervix uterinin ağrı duyusu parasempatiklere taşınır [39, 43].

2.3. Uterus Histolojisi

Uterus, kalın kaslı duvarı olan, içi boş bir organdır ve dışarıdan içeriye doğru üç katmandan oluşur:

- Perimetrium (Tunika seroza)
- Miyometriyum (Tunika muskularis)
- Endometriyum (Tunika mukoza) [41, 45].

2.3.1. Perimetriyum

Peritonun visseral katmanı olan perimetriyum, peritonla devam eden seröz katmanıya veya bazı bölgelerde yalnız serozayı oluşturmak üzere visseral peritonu, mezotel ile örtülü, uterusun en dış katmanıdır [44].

Perimetriyum tek katlı yassı epitel olan mezotel ve ince bir gevşek bağ dokusunu içerir. Elastik doku katmanı, mezotel altında belirgindir. Perimetriyum anterior yüzeyin bir bölümünü içine alırken, posterior yüzeyin tümünü kaplar. Anterior yüzeyin geriye kalan bölümü ise bağ dokusu veya adventisya ile örtülüdür [42, 45].

Perimetriyumun peritonsuz dış bölgesi, tunika adventisya olarak isimlendirilir

Perimetriyumun kalınlığı en fazla geliştiği durumda 4-5 mm' ye kadar çıkabilir [24, 42].

2.3.2. Miyometriyum

Uterus' un orta bölümde yer alan, bağ dokusu ile ayrılmış haldeki düz kas lifi demetlerinden oluşmuş, kalın, kaslı, katmanıdır [41, 46].

Miyometriyumu oluşturan düz kas demetleri, tuba uterinanın içerdiği iki kas katmanından farklı olarak, dört kattır. Bunlar içten dışa:

- *İç kas katı (Stratum submukozum)*: Mukozanın hemen altında yerleşik uzunlamasına düz kastır. Uterus' un uzun eksenine paralel yerleşmiş lifleri içerir.
- *Orta damarlı kas katı(Stratum vasculosum)*: Sirküler düz kas katıdır. Bu katta kasların arasındaki bağ dokuda büyük kan damarları, özel olarak venler yer alır.
- *Orta dış kas katı (Stratum supravasculare)*: Uzunlamasına ve sirküler kasların ikisinin de bulunduğu kattır.
- *Dış kas katı: (Stratum subserosum)*: Uzunlamasına düz kasları içerir.

Miyometriyumun kas tabakalarının sınırları tam olarak birbirinden ayırt edilemez [42, 44-46].

Miyometriyum derinlerinde, kas demetlerinde yer alan, uterusu besleyen büyük kan damarları barındırır. Kas demetleri de gevşek bağ dokusuyla sarılı haldedir [42, 45].

Dıştaki son iki kas katı, oviduktun kas katıyla devam eder. Uterus' un istmus bölümünde, bağ dokusunda artış görülürken, düz kaslarda da azalma mevcuttur. Uterus serviks bölümünde ise elastik lif içeren yoğun bağ dokusu vardır. Miyometriyum katmanı, hormonların yarattığı değişime karşı hassastır [47].

Gebelik sırasında uterusu, hiperplazi (düz kas hücre miktarında artış, 50 mikrometreden - 500 mikrometreye kadar) ve hipertrofi (hücre boyutunda artış) gerçekleşir. Fetusun gelişimi açısından uterusun önemli derecede genişlemesi, zorunludur. Hipertrofi gerçekleşikten sonra düz kas hücrelerinin varlıkları belirgin hale gelir ve yeni kas hücreleri eklenir. Uterus duvarında kollajen miktarında ve kas liflerini saran bağ dokusunda da artış görülmektedir [27, 41, 42, 46].

Bu durumlar hamilelik sonrası ters duruma döner ve düz kas hücreleri ile uterus boyut olarak azalır. Kollajen enzimi etkisiyle daha önce salgılanan kollajenler fibroblast tarafından sindirilir [27, 45, 46].

Kaslarda meydana gelen bu artışın sayısal ve boyutsal olarak önemi, östrojenle ilişkilidir. Östrojen hormonunun azalması sonucu atrofi gerçekleşir ve bazı hücreler aynı zamanda apoptoz geçirirler. Uterus' da miyometriyumun kasılması, posterior hipofizden salgılanan oksitosin ve kortikotropik hormon etkisinde prostaglandinlerin salgılanmasıyla uyarılmaktadır [48].

Miyometriyumda, düz kas hücreleri ile birlikte bu hücrelerle bağlantı halinde bulunan İntersitisyel Cajal Benzeri Hücreler (İCBH) veya telosit adını alan hücreler bulunur. Telosit hücrelerinin çekirdekleri, düz kas hücrelerinin ve fibroblastların çekirdeklerinden daha yassı ve koyu renklidir ve bu hücreler kan damarları ile de yakın ilişki içerisinde. Telosit hücreleri östrojen ve progesteron reseptörleri içerirler ve peristaltik hareketin başlayıp yayılmasını sağlarlar [49, 50].

Uterus'un miyometriyum katmanında, endometriyuma göre mast hücrelerinin sayısı fazladır. Östrüs döneminde, uterus endometriyumundaki mast hücre sayısı artarken,

diöstrüs ve östrüs dönemlerinde miyometriyumdaki mast hücre sayısı farklılık göstermemektedir [51].

Uterus kasılmayı gerçekleştirirken, sinsityum şeklinde tüm miyometriyum katları birlikte çalışır ve bunun sonucunda lümen içindeki maddeleri, dar ağıza doğru atar [45].

Menopoz sonrasında hormonal stimülasyonun kesilmesiyle miyometrial hücreler atrofi geçirir ve uterus büzülür. Bu dönemden sonra, cinsel olgunlaşmada miyometrial düz kasları belirginken, önemsiz şekildeki kas demetleri arasında fibrokistik doku daha da belirgin olur [51].

2.3.3. Endometriyum

Endometriyum, uterus lümenine doğru bakan uterusun mukoza katmanıdır. Menstrual siklus boyunca puberteden menopoza kadar, morfolojik, histolojik ve kalınlık bakımından değişimlere uğrar [27, 46].

Bu katman epitel ve tübüler bezleri kapsayan lamina propriyadan oluşur [41, 46].

Tuba uterinada yer alan, endometriyumu miyometriyum katmanından ayıran submukoza katı, uterusta bulunmaz [45].

Epitel: Epitel tipi tek katlı prizmatiktir. İki tip hücre içerir:

- 1) Silyalı hücreler (epitheliocytus ciliatus)
- 2) Salgı yapan mikrovilluslu hücreler (epitheliocytus microvillosus) [42] .

- 1) Silyalı hücreler (epitheliocytus ciliatus):

Silyalı hücreler, uzun fırça gibi sillerle örtülüdür. Uterus gövdesinde çeşitli yönlerde giden bu siller bazı yerlerde küme şeklinde, bazı yerlerde de gür fırça gibidir. Silyalı tip hücreler genellikle düzensiz şekilde çekirdek içerir ve bu hücrelerin mitokondrileri küçük ve çeşitli şekillerdedir. Bu tip hücrelerde inklüzyonlar görülmez. Endoplazmik retikulum gelişimi zayıftır ancak Golgi organeli ve vakuol kanalları sabittir. Bu hücrelerde salgı vezikülleri

çok fazladır. Silyalı hücreler genel olarak proliferasyon evresinde daha belirgindirler [34, 52, 53].

2) Salgı yapan mikrovilluslu hücreler (epitheliocytus microvillosus):

Uterusun yüzey epitelinde silyasız mikrovilluslu hücreler silyalı hücrelere göre yaygındır. Bu tip hücreler silyalı hücrelere göre daha dar yapılıdır ve sitoplazmaları eozinofiliktir [52].

Her iki hücre tipinde de uzatılmış oval çekirdekler heterokromatin kümelerle ilişkili şekilde, iç nükleer membranda görülür ve fazla sayıda serbest ribozom, mitokondri, yoğun cisimcik ve düz endoplazmik retikulum bulunur. Glikojen birikimi mikrovilluslu hücrelerin supranuklear kısmında görülür [53].

Epitel hücre tiplerinin oranı uterusun bölgelerine göre farklılık gösterir. Ancak proliferasyonu en fazla geçiren mikrovilluslu hücrelerdir. Salgı hücrelerinin apikal yüzeyleri şekil olarak çokgen ve kısa mikrovilluslarla örtülüdür. Bu tip hücreler pürüzsüz veya buruşmuş görünümdeki apikal katlantılar içerir [53].

Uterus bez epitel hücreleri de silyasız hücrelere benzerdir ancak daha alçak boyludurlar. Mitoz bu hücrelerde nadir görülür. Bezin derinliğinde epitelde birkaç inklüzyon cisimciği bulunur, inklüzyonlar ise bez açıklıklarında daha boldur ancak vakuoller bu bölgelerde azdır [52].

Lamina propriya: Bağ dokusu, fibroblast hücreleri çok sayıdadır ve lifleri genellikle tip 3 kollajen içerir. Uterus lamina propriyası tuba uterinadan basit tübüler bezlerle ayırt edilir ve bu bezler miyometriyumun altında bazen dallanmalar gösterebilirler. Bu uterus bezleri yüzey epitelinin, lamina propria derinliklerine doğru basit tüp benzeri çöküntüleriyle oluşmaktadır. Uterus bezleri, tek katlı prizmatik salgı hücrelerinden oluşmuş, aralarında az sayıda silyalı hücrelerin de yer aldığı, dallı tübüler yapılardır [42, 46].

Lamina propriya, kollajen ve retiküler lif ağları ile bunların arasında çok sayıda iğ biçimde bağ dokusu hücrelerini içerir. Gebelikte iğ biçimdeki bağ dokusu hücrelerinin irileşmesine desidual hücreler (deciduocytus) denir. Lamina propriya aynı zamanda, bağ dokusu, lenfositler, granüler lökositler ve makrofajlar da içerir [42].

Endometriyum işlevsel olarak iki önemli katmandan oluşur.

1) Fonksiyonel katman

Endometriyumun 2/3' lük, bezlerin gövde ve boyun kısımlarının bulunduğu alanıdır. Menstruasyon döngüsü gerçekleşirken yüzeysel olarak dökülen, kalın endometriyum katıdır. Bu katman, stratum vaskülaresinin spiral arterlerinden orjin alır ve miyometriyum orta katmanındaki çok sayıda spiral arter, vaskülarize hale gelerek fonksiyonel kat için, doku ve bağ dokusunu zengin kılcal ağla sağlar [42, 54, 55].

Fonksiyonel katman içinde, çok sayıda farklı tip arter vardır [48].

Fonksiyonel katmandaki bezler dört tip epitel kökenli hücre içerir; proliferatif hücreler, silyalı hücreler, salgı hücreleri ve bazal hücreler. Proliferatif ve bazal tip hücrelerin çekirdek kromatinleri yoğun şekilde ve çekirdekçikleri belirsizdir. Bu iki tip hücrenin sitoplazmaları bazofilik görünümündedir [56, 57].

Endometriyumun fonksiyonel katmanı, gebelik ve menstrual döngünün sekresyon döneminde iki alt kattan oluşur.

Stratum Compactum: Endometriyumun 2/3' lük üst kısmını oluşturan kompakt, stromal daha ince yüzeyel bölümdür. Uterus bezlerinin daralarak kapalı hale gelen, boyun bölgelerini çevreler.

Stratum Spongiosum: Endometriyumun ortasındaki 1/3' lük geniş alanıdır. Bu alan genişleyerek salgı dolu sarmaşık şekilli bez hücre gövdeleri içerir ve süngerimsi bir yapısı vardır. Bağ dokusu ödemlidir [24, 42].

Menstrual döngü gerçekleşirken ve doğum sonrası, her iki kat da değişim geçirerek parça parça dökülür. Bu iki kat endometriyumun fonksiyonel katmanını oluşturur [24, 58].

2) Bazal katman

Endometriyumun derin, dar ve miyometriyuma komşu olan en alt, 1/3' lük, menstrüasyon sırasında dökülmeyen katmanıdır. Fonksiyonel katmanın yenilenmesini gerçekleştirecek

elemanları içeren kaynak niteliğindedir. Sıkı bağ dokusu yapısında lamina propriya ve uterus bezlerinin son bölümlerini içerir. Sadece bazal katmana kaynak sağlayan arterler, spiral arterlerden orjin alır. Bu arterler düz arterlerden farklı olarak çok daha kısadırlar. Menstrual siklusta fonksiyonel katman, mikroskobik olarak değişim gösterirken, bazal katman bu süreçten etkilenmez [42, 46, 48, 54, 55].

Menopoz döneminden sonra, endometriyum yalnız stratum bazaleyi içerir. Bez epitel hücreleri kübik veya alçak boyludur ve mitotik figür içermezler. Bez epitel hücrelerinde salgı daha az görülür. Üreme peryodundaki endometriyum, kalınlık açısından değişkendir ve menstrual döngünün farklı dönemlerinde, 1, 5 mm' den 6, 2 mm' ye kadar çeşitlilik gösterir. Menopozun İleri dönemlerinde, endometriyum atrofik ve incedir. Üreme peryodunda miyometriyum, menopozun ileri dönemlerindeki miyometriyumdan daha kalındır. İleri menopoz döneminde miyometriyum atrofi halinde ve daha incedir [59].

Uterus' un serviks kısmı, uterusun diğer bölgelerine benzer yapıya sahiptir. Endometriyum (mukoza) ve miyometriyum tabakaları vardır. Ancak serviks uterusu göre mukozası açısından farklı özelliklere sahiptir. Serviksin endometriyum tabakası uterusun döngüsel değişiklikler geçiren korpus ve fundus kısımlarıyla kıyaslanınca döngüsel değişiklikler geçirmemektedir [45].

Ergenlik dönemindeki bir kadının endometriyumunda, ovaryal siklusa bağlı her 28 günde bir tekrarlanan değişimler vardır. Bu siklik değişiklikler hipofiz tarafından ovaryum folikülleri ve korpus luteum aracılığıyla salgılanan hormonların karşılıklı olarak etkileşimleri sonucu gerçekleşir ve menstrual veya uterin siklus olarak adlandırılır [42].

Menstrual döngünün başlangıcı, korpus luteumun gerilemesi ile aynı zamanda olur. Menstrual döngüde, hipofiz bölgesinden salgılanan follikül stimule edici hormon (FSH), luteinizan hormon (LH) ve prolaktin ile ovaryumlardan salgılanan östrojen ve progesteron hormonları görevlidir. Bireyler arası farklılıklar haricinde, genel olarak menstrual döngü 12-15 yaşlarda başlar ve 45- 50 yaşlarına kadar devam eder [44].

Menstrual döngü, birbirini takip eden dört dönem sonucu gerçekleşir [41].

1) Proliferatif dönem (Foliküler, preovulatuvar, östrojenik, çoğalma) :

Kanamamanın hemen ardından 5. gün ve 14. günler arasında gerçekleşir. Östrojenin gelişmekte olan yumurtalık foliküllerinden sentezinin artması sonucu ovulasyona kadar başlar ve ovulasyondan sonraki 1. güne kadar devam eder [41,45, 58].

Erken proliferatif dönemde endometriyumun fonksiyonel katmanının stromasında artış görülürken, basit tübüler bezleri çoğalmamış haldedir [58].

Proliferasyon dönemi ortasına doğru mitoz bölünmeler, görülmeye başlar, dönemin sonuna doğru bölünmeler epitel ve lamina propriyada artmış haldedir. Epitelin boyu yükselir, çekirdekler farklı şekilde yerleşerek daha yüksek silindirik hale gelir. Bu dönemin ayırt edici özelliği olan rejenerasyon epitelde ve çevre stromanın her ikisinde gerçekleşir, menstruasyonla atılan dokudan geri kalan bölümdeki epitel çizgisini etkileyerek yeniden epitelleşme sağlanır. Bu dönemde hücre sayısında ve çekirdeklerinde artış görülür ve bez epitelinde yalancı çok katlı epitel görünümü mevcuttur [27, 41, 44, 55, 56, 58, 60]. Endometriyumda, proliferatif dönemin sonlarına doğru, bezler endometriyum yüzeyine açılmak için uzar ve ovaryum foliküllerinden salgılanan östrojenin uyarıcı etkisiyle endometriyumun kalınlığı iki katına çıkar. Fonksiyonel katman, bazal katmandan kesikli çizgi halinde ayrılmış halde gözüktür ve mitotik şekiller sayıca artar. Stroma, zengin hücrelerle çevrili, düz uterus bezleri ise derinlerde uzamış ve kıvrımlı halde görülür. Proliferatif dönemin başlangıcında kompakt haldeki lamina propriya dönemin ortalarına doğru hafif olarak ödemli hale gelir ve 14. güne doğru ödem en fazla saptanır. Bağ dokusu ve spiral arterler kasılmalarını, işlevlerini ve yenilenmesini ödemli durumun görüldüğü zaman gerçekleştirir [41, 45, 46, 58].

Endometriyumun fonksiyonel katmanı, menstruel döngü 14. güne geldiği zaman, epiteller, bezler, stroma ve spiral arterler eski haline döner [58].

2) Sekretuar (Progestasyonel, luteal) dönem:

Ovulasyondan 1- 2 gün sonra başlar ve menstrual döngünün 15. gününden 28. gününe kadar sürer [41].

Uterus' un östrojen hormonu etkisiyle, proliferasyon dönem sonrası değişiklikler geçirmesinin ardından, korpus luteum tarafından salgılanan progesteron ve lütein hücreleri

(granuloza lütein ve teka lütein hücreleri) tarafından salgılanan östrojen hormonlarının, uterusu etki etmesi sonucu luteal dönem başlar ve değişikliklere katkı sağlar [27, 42, 60].

Menstrual döngüde bir sonraki sekresyon döneminin başlangıcı, endometriyal bez hücrelerinin apikal bölümündeki çekirdek üzerindeki salgı durumundaki vakuollerin gözlenmesi ile belirlenir [47].

Luteal dönemde, uterusun endometriyum katmanı değişikliklere uğrarken, miyometriyum katmanı bu süreçten etkilenmeyen kısımdır. Endometriyumun fonksiyonel tabakasındaki bezler oldukça kıvrımlı olarak blastosistin uterusu ulaştığı dönemde şekillerini düzensizleştirir ve salgı miktarlarını artırarak ve mukus salgısı biriktirirler. İmplantasyon sonrasında blastokist, bu salgı ile beslenir [42, 54].

Luteal dönem erken, orta ve geç luteal dönem olarak üç dönemden oluşur.

Erken Luteal Dönem: Ovulasyonun gerçekleşmesi, sekresyon döneminin başlangıcını işaret eder ancak endometriyum proliferasyon dönemini birkaç gün daha devam ettirir. Bu dönemde büyümenin gerçekleşmesi düşük orandadır. Endometriyum fonksiyonel tabakasının, endometriyumun stromayı uterus lümeninden ayıran tek katlı epiteli vardır. Bu dönemdeki bezler proliferatif dönemdeki bezlerden daha çok sayıda ve daha kıvrımlı ve genişlemiş haldedir. Lümenlerinin salgı içeriği azalmış durumdadır.

Orta Luteal Dönem: Bu dönemde endometriyum bezlerinin kıvrımları artar, tek katlı prizmatik hücrelerinde glikojen birikimi başlar ve bu birikim hücrelere büyük soluk renk görünüm verir. Bu dönemde çekirdek hücrenin merkezine itilmiş durumda, glikojen ise hücre bazalinde yer alır. Stromal reaksiyona doğru gidildiği, bazı bağ dokusu hücrelerinin genişleme göstermesi, sitoplazmalarında aşırı glikojen ve lipid birikmesi olduğundan anlaşılır. Glikojen fertilizasyona uğramış yumurta için önemli besin kaynaklarından. Endometriyum bu dönemde maksimum kalınlığına yaklaşır.

Geç Luteal Dönem: Geç dönemde, endometriyumdaki bezler merdiven basamağı şeklindedir. Orta luteal dönemde bazal yerleşimli ve soluklaşan tek katlı prizmatik epitel hücrelerine karşılık bu dönemde, glikojen bez epitel hücrelerinin apikal bölümüne göç etmesi sonucu birikmektedir. Apikal bölümdeki glikojen birikimi hücrelerin serbest

yüzeylerine parçalanmış bir görünüm verir. Bez lümeni glikojenden zengin viskoz bir sıvı ile dolu ve sakküle (kesecikli) bir görünüm alır. Stromalarında aynı zamanda çok sayıda lökosit bulunmaktadır [45, 54, 55, 58].

Spiral arterleri çevreleyen stroma hücrelerinde hızlı şekilde mitoz görülür ve bu hücreler büyüyerek kıvrılır böylece endometriyum yüzeyine doğru ilerlerler. Bu da desidual farklılaşmanın işaretlerindendir. Endometriyal bezlere paralel olan damarlar boy olarak uzar, stroma, lamina propriada ödem ve çok fazla sıvı biriktirir. Endometriyum yaklaşık 5 - 6 mm kalınlıktadır [41, 45, 55].

Desidual reaksiyonu, embriyonun kabul edilmemesinin engellenmesini sağlayan bir süreçtir ve implantasyon sonrası gerçekleşir. Bu dönemde endometrial stromada küçük kompakt hücreler genişler [41, 47].

Desidualizasyon, önce implantasyondaki blastokist etrafında bulunan stromal hücrelerde başlar, daha sonra gebelik durumuna, desidua haline gelmiş endometriyumun diğer bölümünü de kapsayacak şekilde yayılım gösterir. Desidual farklılaşma sonrası endometriyumun kalınlığı artar ve 3 katmana ayrılarak desidua haline gelir.

- *Desidua basalis*: Trofoblastın çok fazla büyüdüğü, implante edilecek alanın altındaki, maternal plasentanın önemli bölümünü oluşturacak endometriyum parçasıdır [41, 47].
- *Desidua capsularis*: Blastokistin üst kısmında bulunan stroma ince kenarıdır.
- *Desidua parietalis*: Uterus boşluğunun arda kalan diğer endometriyum bölümüdür [47].

Stromal hücrelerin, desidual hücrelere farklılaşması östrojen ve progesteron hormonların birbiri ardına olan etkileri ile gerçekleşir. Farklılaşma için gerekli olan stimülasyon, blastokistin implantasyonu ile sağlanmaktadır [45].

Sekresyon döneminde endometriyum yaklaşık olarak 5 mm kalınlığına ulaşır ve yeni menstrual döngünün menstrual dönemini belirleyerek, 28. güne doğru döngüyü tamamlar [54].

Döngü bitiminde progesteron salgısının sonlanması, spiral arterlerin daralmasına neden olur, kan akışını azaltır ve arterioller daha da daralarak fonksiyonel endometriyum menstruasyonun öncesinde bir iskemik dönemle olaylanmasını sağlar [47, 58, 61].

3) İskemik (Premenstrual) ve Menstrual Dönem:

Ovule oosit fertilizasyon ve uterusda implantasyon olaylarını gerçekleştiremez ise, korpus luteum dejenerasyonu ve azalan progesteron, östrojen hormon düzeyleri sonucu menstrual dönemi başlar [61].

Hormon düzeylerinin azalması, endometriyumun fonksiyonel katmanında kan akışında kesintileri, spiral arter duvarında aralıklı olan büzülmeyi uyarır. Kan akışı endometriyumun bazal katmanında kesintisiz ve değişmeden aynı kalır. Endometriyum fonksiyonel katmanındaki büzülme sonucunda, oksijenli kandan olumsuz yönde etkilenir ve geçici olarak iskemi (yaklaşık bir gün süren) başlatır [61].

Arterlerin distal bölgesinin duvarları, yırtılma gerçekleştirerek kanın stromaya daha sonra da uterus lümenine dökülmesini sağlar [27].

Bez ve desiduaya benzer hücrelerin bulunduğu fonksiyonel katman ve fonksiyonel katmanın nekrotik parçaları da ayrılır ve uterus lümenine dökülür [47].

Fonksiyonel katmandan ayrılan parçalar menstrüel akıntı olarak dışarıya atılır, endometriyum stroması çok miktarda kanla dolmaya başlar. İskeminin derecesi dolan kanla birlikte artar, hipoksi ve nekroz gerçekleşir, dejenerasyona yol açarak fonksiyonel tabakanın tümü dökülür [62].

Endometriyumda soluk renk ve büzüşme görülür. Menstrual akıntı, dökülmeler sonucu gerçekleşir ve yaklaşık 5 gün devam eder. Bu durumda kan, bez epitel ve stroma içerikleri karışık haldedir ve endometriyum fonksiyonelliğini menstrual siklusun 3. ve 4. günlerinde kaybeder [58, 60].

Kan kaybı yaklaşık olarak 35 ml miktarlarda gözlenir fakat daha büyük miktarlar da gözlenebilir [27].

Endometriyumun bazal katmanını doğrudan bazal düz arterler, kanlandırdığından dolayı bu katman fonksiyonelis katmanında görülen olayları içermez [47].

Bazal katmanda bulunan uterus bezlerinin kalıntı bölümlerinin, bir sonraki fonksiyonel katmanın yeni hücrelerinin salgılanması açısından kaynak görevi vardır. Spiral arterlerin distal (yüzeysel) bölgeleri nekrotik hale gelir, ancak daha derinlerdeki bölgeleri sağlam halde kalır [60].

Uterusun perimetrium dışındaki diğer histolojik katmanları, uterusu embriyo implantasyonuna hazır duruma getirmek amacıyla aylık olarak döngüsel değişimlere uğrar. Menstrual siklus bu değişiklikler sonucunda oluşur. Menstrual siklus embriyo implantasyonu gerçekleştiği anda duraksar ve endometriyum, miyometriyum katmanları önemli derecede değişim ve büyüme geçirir. Tüm dönemler sürekli ve bir sürecin parçasıdır ve bir dönemden diğerine ani geçişler olmaz [45].

Menstrüasyon başladığı zaman endometriyum, döllenmiş haldeki bir ovumun implantasyonu olmadığında, korpus luteumun dejenerasyonu, spiral arteriollerde spazmodik daralmanın gerçekleştiği dönemi başlatan östrojen ve progesteron salgısının durdurulmasına sebeptir. Son bölümdeki iskemi başlangıçta endometriyumun yüzeysel tabakalarının dejenerasyonu stroma kan akması olaylarını oluşturur. İlave iskemide ise, kademeli olarak mens sayısı olarak dökülen tüm fonksiyonel katmanın dejenerasyonuna yol açar. Bu nedenle, kan bez epiteli ve stromal elementlerden oluşur. Normal menstrual kanama, inhibitör (antikoagülan) faktörlerin lokal olarak salınması nedeniyle pıhtılaşmasını gerçekleştirmez [58].

Endometriyum menstrual dönem sonunda yaklaşık 1 mm kalınlığında ve ince bağ dokusundan oluşur. Daha sonra, proliferasyon dönemi östrojen hormonu etkisiyle yeniden başlamaktadır [45].

2.4. Uterus Fizyolojisi

Dişi üreme sisteminin fonksiyonu, üç hormon grubunun etkileşimiyle düzenlenir:

- a) Hipotalamik hormon olup, hipotalamustan sentezlenen hipotalamik serbestleştirici ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnSH).
- b) GnSH' ın uyarıcı etkisine yanıt olarak, hipofizin ön lobundaki hücrelerden salgılanan follikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH).

c) Ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron. Bu hormonlar, hipofizin ön bölümünden üretilen FSH ve LH hormonlarına yanıt olarak ovaryumun uyarılması sonucu salgılanır [63, 64].

Kadınlarda aylık menstrüel döngü sırasında, dönemler arasında bu hormonların salınım miktarı farklıdır [65].

Cinsiyet açısından gelişimini tamamlamış, olgun bir kadında, gonadotropin serbestleştirici hormon (GnSH) farklı nörotransmitter sinyallerine cevap olarak 60 - 90 dakikada bir salınır. Bu duruma yanıt olarak hipofizin ön lobundan FSH ve LH salgılanır [66].

Folikül stimule edici hormon (FSH) hipofiz bezi tarafından menstrüel döngünün ilk yarısında üretilir ve hipotalamus tarafından kontrol edilir. FSH, olgunlaşmakta olan over folikülünün gelişimini uyarır, östrojen salgısını artırır, kadınlarda yumurta hücresi üretimini denetler ve menstruasyon sonrasında uterus duvarının gelişimini sağlar [64, 67].

Lüteinleştirici hormon (LH) hipofiz bezi tarafından sentezlenir ve kontrolü hipotalamus tarafından yapılır. LH, ovulasyonu başlatır, oosit, folikül gelişimini, korpus luteum oluşumunu uyarır ve menstrüel siklusun luteal fazı sırasında korpus luteum tarafından steroid hormon üretimini sağlar [63, 67].

LH, korpus luteumda adenilat siklazı aktive eder ve Camp miktarını artırır, böylece progesteron salgılanması gerçekleşir [68].

Östrojenler, ovaryum folikülü, ovum' un teka internası, granuloza hücreleri, korpus luteum ve gebelik sırasında plasentadan sentezlenen steroid yapılı hormonlardır. Sentez ve salgılanması FSH ile uyarılırken, kontrolü hipotalamik gonadotropin serbestleştirici hormon (GnSH) ile sağlanır [64, 67-69].

Östrojenler, uterus kan akışını arttırırlar, endometriyumun kalınlaşmasını, miyometriyumda hipertrofi ve hiperplaziyi uyarırlar. Östrojen uterus salgısını, uterus boynunun müköz salgısını artırarak aynı zamanda FSH salgısını inhibe ederler ve LH salgısının artışına sebep olurlar [67 -71].

Östrojen aynı zamanda gebelik sırasında uterusun kastırıcı uyarılara olan eşiğini düşürerek Prolaktin salgılanmasını uyarır [72].

Progesteron, en güçlü progestasyonel (gebeliği sürdüren) hormondur. Progesteron kadında korpus luteum, over folikülleri, teka hücreleri, granuloza hücreleri ve plasenta yoluyla üretilir ve progesteron üretiminin kontrolü GnSH tarafından uyarılan luteinizan hormon (LH) ile sağlanmaktadır [66, 69, 73] .

Progesteronun temel işlevi kadın genital sistemini, döllenmiş yumurtanın implantasyonu ve olgunlaşmasını gerçekleştirmek için hazır hale getirmek ve gebeliğin başlatılıp, devamlılığının sağlanmasıdır. Progesteron ovulasyon oluştuktan sonra östrojen salgılanmasını da inhibe eder [64, 74].

Progesteron, uterusun endometriyal epitelinin devamlılığını sağlar, endometriyum kalınlaşmasını, salgısını uyararak, uterus bezlerinin daha da gelişerek salgı yapmalarını sağlar [68].

Progesteronun aynı zamanda menstrüel siklusun luteal fazı sırasında bazal vücut ısısını artıran termojenik etkisi vardır. Bu sıcaklık artışı, ovulasyon zamanını belirlemek amacıyla kullanılır [63].

Östrojen ve progesteron hormonlarının en yüksek seviyesi, gebelik sırasında ortaya çıkar. Bu ovaryum hormonları, hamileliğin ilk üç ayında korpus luteum ile sentezlenirken daha sonra plasenta tarafından salgılanır [63, 72].

İnsan Koryonik Gonadotropin (İKG) plasenta ve embriyonik membranlarda sentezlenen bir hormondur. Döllenme olduğu zaman plasenta bu hormon ile korpus luteumun parçalanmasına engel olur. İKG, korpus luteumdan östrojen ve progesteron salgılanmasını uyarır [67, 72].

Doğum zamanına doğru, östrojen ve progesteron oranı artar, bu artış uterusu, kasıcı uyarılara karşı daha duyarlı hale getirir. Böylece progesteronun gebeliği devam ettiren özelliği baskılanır. Uterus kasının hassasiyeti artar, progesteron salgısında artış olur bu artış da kollajenaz yapımını artırarak gergin serviksi yumuşak hale getirir [66, 72].

Oksitosin, normalde ovaryumlardan salgılanırken, gebeliğin sonuna doğru uterusu ek olarak hipofizin posterior lobu tarafından salgılanır. Oksitosin uterus kasılmalarının güçlü uyarıcısıdır ve normal doğumda önemli rolü vardır. Doğumun ilerlemesi sırasında görülen serviksin genişlemesi oksitosin salgılanmasını uyarır. Oksitosin aynı zamanda reseptörlere bağlanarak progesteron salgısını durdurur [63, 69, 75].

Ovaryum döngüsünde üretilen hormonlara cevap olarak endometriyumun, 28 gün içerisinde 4 evreden oluşan, döngüsel değişiklikleri vardır.

Menstrüal siklusun 14.gününe kadar Foliküler (Proliferatif) dönem, endometriyum salgı fazında fertilize olacak yumurtanın yerleşimine olanak vermek için kalın hale gelmeye başlar. Bu evrede over folikülleri FSH' ın etkisiyle olgunlaşmasını başlatır. Foliküller, östrojen sentezini başlatarak baskın folikül oluşumunu tamamlar. Endometriyum gelişen foliküllerdeki östrojen salgısıyla fonksiyonel katmanını genişletir, bezler kıvrılmaya başlar, mitoz artar ve kan damarlarında büyüme görülür [66, 73, 76].

Östrojen hormonu foliküler evrede baskın durumdayken, progesteron seviyeleri bu dönemde düşük seviyededir. Bu dönemde 17 β - Estradiol, belirgin bir şekilde artar. Bu artış, servikal mukusa bol, sulu ve elastik bir görünüm verir. Estradiol' ün hipofiz bezi üzerinde uyarıcı ya da olumlu geri bildirim etkisi vardır. Bundan dolayı foliküler fazın sonunda LH salgılamındaki bir artış, LH dalgalanmasının oluşmasına neden olur. LH dalgalanması, ovulasyondan yaklaşık 24 saat önce başlar ve ovulasyondan yaklaşık 16 saat önce, en yüksek seviyededir. LH' ın yüksek seviyesi ovulasyonun başlamasına neden olur. LH' ın aşırı artışı gerçekleştiği sırada, çok az miktarda FSH' da da artış görülür [70, 77].

Foliküller aracılığıyla salgılanan östrojenler döngünün 12 ve 13. günlerinde artış gösterir. Çok fazla artan östrojen seviyelerine cevap olarak LH sekresyonu artar ve ovulasyon gerçekleşir [66].

Ovulasyon, aynı zamanda folliküler evrenin bitişindeki bir östradiol salgısının aşırı şekilde artışının FSH ve LH' ın salgılanmaları üzerine pozitif geri bildirim etkisi sonucu olur.

Ovulasyon döneminde, servikal mukus gevşek bir haldedir ve miktarı artar. Sperm girişi ile birlikte sulu hale gelir ve penetre edilebilir bir görünüme sahip olur. Estradiol seviyeleri, ovulasyon sonrasında hemen azalırken, luteal faz sırasında yeniden artış gösterir [63, 66].

Ovulasyon sonrası folikül membranı kıvrılır ve etrafta bulunan damarlar çatlar. Bunun sonucunda folikül boşluğuna dökülen kan pıhtılaşarak korpus hemorrhajikum yapısını oluşturur. Daha sonra, membrana granuloza hücreleri çoğalır, büyük çekirdek ve sarı pigment (lutein) içeren epitel hücrelerine dönüşürler. Bu hücreler küçük kan damarları ve bağ dokusu ile birlikte, kan pıhtısına doğru büyürler ve luteal evrede üretilen korpus luteumun (sarı cisim) oluşumu gerçekleşir [76].

Luteal fazda, azalan östrojen miktarı endometriyumun büyümesini durdurarak kalınlığını azaltır ve stromasını ödemli hale getirir. Müköz bezler tamamen gelişir. Bu dönemde kan damarları ve bezler yüzey alanlarını artırarak, sarmal hale gelirler [63, 73].

Luteal dönemde, over folikülü, LH, FSH ve östrojenlerin etkisiyle korpus luteuma dönüşür. Korpus luteum faaliyetini 12-14 gün gösterir. Eğer gebelik olmazsa, korpus luteum bir sonraki menstruasyon periyodunun başlangıcına kadar faaliyetine devam eder [76].

Korpus luteum, fertilizasyon gerçekleştiği zaman, zigotun implantasyonu ve bakımı için zorunlu olan steroid hormonları salgılar. Döllenme gerçekleştiği zaman, erken gebelikte plasenta östrojen ve progesteron hormonlarını üretme rolünü üstlenir, ancak o zamana kadar korpus luteum steroid hormonlar salgılamaya devam eder. Fertilizasyon gerçekleşmezse, korpus luteum 14 gün boyunca geriler ve işlev yapamaz duruma gelir, bu durumdaki yapıya korpus albicans denir [63, 70, 75].

Korpus luteum' un gerilemesiyle ve östrojen, progesteron seviyeleri de önemli şekilde azalır [70].

Luteal fazın başlangıcında dönüşümünü tamamlayan korpus luteum, östrojen ve progesteron üretimine başlar. Progesteron, miyometriyumun gelişimini uyarır, endometriyum bezlerinin yapılanmasını yeniden sağlar, glikojen miktarını artırır ve endometriyumun kanlanması artar. Progesteron salgı dönemindeki endometriyumun

değişimini gerçekleştirerek rahim ağzındaki mukusunun kalınlaşıp, ovulasyondan sonra yapışkan hal almasını ve fertilize haldeki yumurtanın kabulü için ortam sağlar.

Bu aşamada progesteron ile birlikte östrojen negatif geribildirim ile birlikte LH ve FSH' ı dolaylı ya da doğrudan inhibe eder ve plazmadaki düzeylerini düşürür. Menstruasyonun başlangıcından hemen önce FSH salgısı artar [66, 70, 77].

Korpus luteumun gerilemesi ve östrojen, progesteronun ortadan kalkmasıyla endometriyal epitel ve kan dökülmeleri olur. Endometriyumun fonksiyonel katmanı parçalanıp atılır. Spiral arterlerde daralma, nekrozla birlikte görülür. Bu döneme menstrual dönem denir. Bu evrede yeni döngü için primordiyal folliküller gelişmeye başlar [63, 67, 77].

Uterusta menstrüel döngüdeki tüm morfolojik ve fizyolojik değişiklikler östrojenlerin, en başta estradiol ve estron sekresyonuyla ilgilidir [70].

Gebeliğin olmasıyla paralel olarak korpus luteum, altıncı aya kadar büyümeye devam eder ve daha sonra, yavaş yavaş dejenerasyon geçirir [76].

Gebeliğin olduğu durumda, menstrüel döngü doğuma kadar geçici bir kesilme geçirir ancak doğum sonrası bu döngü tekrardan başlar. Menstrüel döngüler gebelikte olduğu gibi menopoza da kesintiye uğrarlar [70, 75].

Menstrüel döngü, 42 - 52 yaşları arasında düzensizleşir ve sona erer. Oogenezin de sona erdiği bu döneme menopoza denir. Bu dönemde foliküller, FSH ve LH hormonlarına karşı daha az duyarlı hal alır ve foliküllerin östrojen salgılarında azalma görülür [69, 77].

Postmenopozal dönemdeki kadınların kanındaki östrojen sadece, yağ dokusunda bulunan mezenkimal hücrelerin ürettiği zayıf östrojen olan estrondur. Bu dönemdeki insanlarda, yağ dokusu östrojen sentezinin yapıldığı tek yerdir. Daha yağlı dokuya sahip olan postmenopozal kadınlarda östrojen seviyeleri daha yüksek olur ve bu kişilerin osteoporoza karşı eğilimleri daha azdır [77].

Oral kontraseptifler, östrojen ve progesteron kombinasyonlarıdır. Bu hormonlar, ön hipofiz üzerindeki negatif geribildirim şeklinde etki ederler ve gebeliğin oluşması bu şekilde engellenir. Bunlar FSH ve LH salgısını baskılar ve ovülasyon inhibe edilir [63].

Relaksin polipeptid yapıda bir hormondur ve gebe kadınlarda korpus luteumdan, uterus, plasenta ve meme bezlerinden salgılanır. Bu hormon gebe olmayan kadınların luteal döneminde endometriyum ve korpus luteumunda görülür ancak fonksiyonu henüz bilinmez. Doğum sürecindeki görevi ise plasenta ve uterus arasındaki ara bölümün gelişmesini sağlamaktır. Aynı zamanda Uterus serviksini genişlemesini ve aniyogenezi uyarır. Relaksinin en önemli görevi pelvisteki ligamentleri gevşetmek ve doğumu kolaylaştırmaktır [68- 70, 75, 78].

2.5. Ovulasyon

Kadınlarda gametogenez, fertilizasyona hazırlanmak amacıyla ovaryumda germ hücreleri olan oositlerin üretilme sürecidir. Gametogenez sırasında germ hücreleri kromozom sayılarını mayozla azaltır ve olgun hücrelerin üretilmesi gerçekleşir [28, 79].

Ovulasyon ise 28 günlük menstrüel döngünün yaklaşık 14. gününde, foliküllerin gelişmesiyle paralel şekilde büyüme ve olgunlaşma geçiren oositin ovaryum yüzeyinden karın boşluğuna doğru serbest bırakılması sürecidir. Her menstrüel döngüde bir veya iki adet oosit olgunlaşıp fertilizasyon için tuba uterinaya bırakılır. Gelişerek, olgunluğa erişemeyen foliküller ise atrezi olur [6, 80].

Oogenez ilkel germ hücrelerinin önce oogonyumlara, sonra da olgun oositlere dönüşümünün gerçekleştiği süreçtir. Oogenez, doğumdan önce başlar, ergenlik döneminde, cinsel olgunlukla birlikte tamamlanır [24, 79].

2.5.1. Doğum öncesi olgunlaşma

İlkel germ hücreleri, fertilizasyondan 3 hafta sonra vitellüs kesesinin allantoise yakın duvarında endoderm hücreleri arasında belirgin hale gelir [6].

Primordiyal germ hücreleri dördüncü ve altıncı haftalar arası göçlerini gerçekleştirirler. Bu germ hücre göçü, kök hücre faktörü (kit ligand) ve tirozin kinaz aktivitesi olan bir transmembran reseptörü olan C- kit reseptörü aracılığı ile olur [79].

Fetal yaşamda oogenez, primordiyal germ hücreler yani oogonyumların, gonadal çıkıntıya göçü sonrası mitozla bölünme, hacimce büyüme ve çoğalmaları sonrası başlar. Fetal

dönemde başlayan mitoz bölünmeler, fetal dönemin 5. ayına kadar sürer. Bu mitotik bölünme ve çoğalma sırasında, oogonyumların çoğu, mitozla bölünür ancak bazı oogonyumlar fetal dönemin 3. ayından itibaren mayoz bölünmenin profaz dönemine girerek primer oositlere farklılaşırlar [6].

Primordiyal germ hücrelerinin sayısı fetal dönemin 3. ayından itibaren artar ve gelişimin 5. ayında overdeki sayıları maksimuma ulaşarak, yaklaşık 7 milyon olur [28].

Yaklaşık üçüncü ayda, hücre ölümleri başlar ve çok sayıda oogonyum ve primer oosit atrezi geçirir. Yedinci ayda yüzeye yakın olanlar dışında oogonyumların çoğu dejenasyona uğramış haldedir. Atrezi geçirmeyen primer oositlerin tümü 1. mayoz bölünmenin profaz evresine girer. Bu oositler her biri ayrı ayrı ovaryuma ait stroma hücreleri (bağ dokusu hücreleri) sayesinde oluşmuş, tek tabakalı yassı foliküller epitel hücrelerini içeren bir tabakayla sarılırlar. Primer oosit ve çevresindeki yassı epitel hücrelerine primordiyal folikül denir [28].

Primordiyal foliküllerin oluşumu, doğumdan kısa süre sonraya kadar devamlılık gösterir. Primordiyal folikül çevresindeki mezenşim farklılaşır ve primitif ovaryan stromayı oluşturur [79].

Ovaryumdaki foliküllerin gelişimi, 18 ve 20. haftalar arasında medullada yer alan damarların, germ hücre içeriği bol olan kortekse ilerlemeleri sayesinde gerçekleşir. İlk başlarda germ hücreleri solid bir haldedir ancak daha sonra damarların aralarına girmeleriyle bölünmüş küçük adacık görüntüsüne sahip olurlar. Primer oositler, 1. mayoz bölünmeye başlar ancak bölünmesini tamamlayamaz. Ergenlik dönemine kadar primer oositler 1. mayoz bölünmenin profazının diploten evresindedir [24, 79].

Oositlerin 1.mayoza girerek diploten evresinde duraksamaları doğumla birlikte son bulur. Oositler, 1. mayoz bölünmesini ergenlik dönemi sırasında ilk LH pikinin oluşmasıyla tamamlarken, 2. mayoz bölünmeleri spermin penetrasyonu sonucu tamamlanır. 2. Mayoz bölünmesini tamamlayan germ hücresi ovum adını alır [79].

Germ hücreleri ovaryan gelişimi gerçekleşirken, mitozla da çoğalırlar ve 1. mayoz bölünmeyi başlatarak atreziye uğrarlar. Gelişen dişi fetusun overindeki germ hücre atrezisi,

gebeliğin 2. yarısından itibaren görülmeye başlar ve menopoza kadar devam eder. Primordiyal folikülden primer, preantral ve antral folikülün gelişimi intrauterin hayatta da görülebilir. Çoğu folikül atreziye uğradığı için foliküllerin çok azı gelişimini intrauterin hayatta gösterir [79].

Doğum sonrası olgunlaşma

Doğum sırasında primer oositlerin hepsi 1. mayoz bölünmenin profaz döneminde bölünmelerini durdurur. Bu oositler puberteye kadar 1. mayoz bölünmenin profaz evresinde kalırlar. Profaz evresinde oositlerin gelişimlerini inhibe eden ve oositlerin primordiyal folikül aşamasında kalmasını sağlayan oosit matürasyon inhibe edici faktör (OMI) ve endotelin-1 faktörleri bulunur. Primer oositin çevresinde bulunan tek sıralı granuloza hücreleri bu faktörleri salgılar ve granuloza hücreleri puberteye kadar primer oositlerin beslenmesinde de önemli role sahiptir [43, 55, 79].

Doğumda ovaryumda primer oosit sayısı genellikle 2 milyon kadardır. Çocukluk döneminde bu oositler gerileyerek ergenlik döneminde 40, 000 sayıya düşer. Bu kalan oositlerden de sadece 400 tanesi olgunlaşır ve sekonder oosit olarak üreme periyodunda ovulasyonla serbest bırakılır. Olgunlaşmayan oositler dejenere olarak atretik folikül haline gelirler [81].

Puberte döneminde primer oositler büyür, folliküler epitel hücreleri önce kübik daha sonra da prizmatik şekilli olurlar böylece primer follikülünün oluşumu gerçekleşir. Oosit çapı yaklaşık 50 - 80 mikrona ulaştığında, zona pellusida adında hücre içermeyen, renksiz glikoprotein örtüsü belirginleşmeye başlar ve primer oosit bu örtüyle çevrelenir. Bu glikoprotein örtünün oluşumu folliküler hücrelerin yardımıyla gerçekleşir. Zona pellusida içerisinde ZP1, ZP2, ZP3 adında üç adet sülfatlanmış glikoprotein ve sperm için reseptörler vardır. ZP3, yüzey spesifik sperm bağlayıcı bir moleküldür ve kapasitasyona uğramış spermde akrozom faaliyetinin başlatılması, ZP3 proteinine bağımlı olarak gerçekleşir [80].

Zona pellusida yakınında, oosit ve follikül epitel hücrelerinin yüzeyinde mikrovilluslar yer alır ve oosit ile granuloza hücreleri arasındaki perivitellin aralığa uzanırlar [43].

Hücre uzantıları arasında yakın temas olmasına rağmen, sitoplazmik devamlılık yoktur. Oosit ve folikül epitel hücreleri arasında gap junctionlar yer alır [80, 81].

Oositin çevresinde bulunan hücreler çoğalır ve çok katlı halde olan epitele dönüşmeye başlarlar bu epitele, stratum granulozum denir. Tek katlı veya çok katlı prizmatik epitel içerikli farklı boyutlardaki foliküller primer foliküllerdir ancak tek katlı epitel içeren foliküller, unilaminer primer folikül, çok katlı epitele sahip folikül multilaminer primer folikül olarak adlandırılır. Gap junction tipi bağlantılar yaygın şekilde granuloza hücreleri arasındadır ve folikülün ileri yönde gelişimi için gerekli olan uyarı, FSH' ın granuloza hücrelerinde bulunan reseptörlere bağlanmanın gerçekleşmesi ve az miktarda da olsa östrojen salgılamalarıyla sağlanır. Foliküllerde bu değişikliklerin olduğu sırada bağ dokusu da bazı değişiklikler geçirir. Stroma, teka folikülü adında sıkı bir dokunun, folikül çevresinde oluşmasını sağlar. Teka hücreleri, anjiyogenetik faktör adında, damarlanmayı artıran, oositin büyümesini ve bağ dokusundan uzaklaşmasını sağlayan, kalınlaşmış granuloza tabakasındaki hücre beslenmesini kolaylaştırıp, folikül büyümesine katkısı olan bir faktör salgılar. Camsı membran adında bazal bir membran stratum granulozum ve teka arasında görülür. Gelişim ilerledikçe teka folikülü, teka interna adında kan damarlarından zengin iç tabaka ve teka eksterna denilen zengin düz kas hücreleri ve kollajen lif içerikli dış tabaka şeklinde farklılaşır. Teka interna hücreleri LH reseptörü içerirler ve aynı zamanda bu tabakada steroid salgısı yapan hücreler, fibroblastlar, kollajen lifler ve küçük kan damarları da bulunur. Teka interna hücreleri LH etkisiyle, östrojenlerin ön maddeleri olan androjenlerin (androstenedionları) üretimini ve androjenlerin granuloza hücrelerine gönderilerek, FSH etkisi ile üretilen aromataz enzimiyle östrojene dönüşümünü tamamlarlar. Östrojenlerden, teka tabakasına dönenler, tüm vücuda damar yolu ile yayılırlar. Granuloza hücrelerinde bulunan LH reseptörleri sayısını, östrojenler aracılığıyla artırır [43].

Folikül gelişiminin devamıyla, primer folikülün oositi, olgunlaşmasını gerçekleştirir, Balbiani bölgesinde toplanmış olan Golgi kompleksinin elemanları sitoplazmaya yayılır, serbest ribozom, mitokondrilerdeki vezikül ve multiveziküler cisimlerin sayıları artarak granüllü endoplazmik retikulum yaygın hale gelir. Multilaminer primer folikülde, stratum granulozumun hücre kat sayısı 8 - 22' ye ulaştığı zaman, şeffaf bir sıvı ile dolu düzensiz boşluklar hücreler arasında belirginleşmeye başlar. Bu sıvının ilk başta kaynağı granuloza hücreleriyken, daha sonraki dönemlerde kaynağı plazmadır. Bu foliküller sekonder follikül

(preantral follikül) olarak isimlendirilir. Gelişimin devamıyla birlikte, düzensiz sıvı dolu boşluklar birleşerek büyük bir boşluk olan Antrum' u oluştururlar. Sekonder folikülün antrumunun, folikül sıvısı hiyaluronik asitten zengindir. Hiyaluronik asit su tutarak folikül çapını gittikçe artırır. Bu dönemdeki oosit çapı 250 mikronmetreye ulaşır [43].

Granuloza hücreleri antrum boşluğunu çevreler ve çok katlı hücre tabakası oluşur bu tabaka membrana granuloza olarak adlandırılır. Follikülün gelişimiyle birlikte, follikül içinde biriken sıvı artar ve antrum genişler ve oosit, granuloza hücreleri tarafından çevrelenmiş haldedir. Oosit follikülün bir kenarına doğru itilir ve oositle çevresindeki granuloza hücreleri follikül lümenine doğru uzanarak bir tümsek oluşur. Bu tümsek kumulus ooforus' tur. Oositi çevreleyen granuloza hücrelerine de korona radyata denir. Bu aşamadaki folikül ise tersiyer (Graaf) folikülüdür. Korona radyata hücre yüzeyinde ve oosit yüzeyinde mikrovilluslar bulunur bunların arasında gap junction tipi bağlantı kompleksleri yer alır. Granuloza hücreleri intersellüler ortamda Call Exner cisimleri adında PAS + boyanan bir materyal üretir. Bu materyalin hiyaluronik asit ve proteoglikan içeriği boldur. Foliküllerin büyüklüğü, granuloza hücreleri ile üretilen ve antrum sıvısına salgılanan inhibitör faktörlerin etkisinin, kontrolüyle belirlenir [43].

Foliküllerin büyümesinin devamıyla birlikte oosit de gelişimini sürdürür ve ovulasyon öncesi birinci mayoz bölünmesini tamamlar. Oosit, ovulasyondan 6 -12 saat önce 2. mayoz bölünmesine başlar fakat bu mayoz bölünme de ovulasyondan üç saat önce duraklar. Ovulasyondan hemen önceki dönemde tersiyer follikül içinde bulunan oosit, sekonder oosit haldedir. Tersiyer folliküllerin yapısında erken dönemde primer, geç dönemde sekonder oosit vardır. Oosit, 6 cm büyüklüğüne ulaştığında, follikül ovaryum yüzeyine doğru kabarık hale gelir. Oosit ve oositi çevreleyen hücrelerin diğer granuloza hücreleriyle olan bağlantıları gevşer ve oosit atılmak için hazır durumdadır [43].

Primer ve sekonder foliküllerdeki folikül hücrelerinde FSH reseptörleri bulunurken. Graaf folikülünde FSH reseptörleriyle birlikte LH reseptörlerinin varlığı da ortaya çıkar. LH reseptörlerinin varlığının görülmesi, ovulasyon sonrasında yırtılmış folikülün lüteinizasyonunun sağlanması açısından şarttır [55].

Puberte dönemi başlarken normal bir insanda her menstrüel siklus ile birlikte bir oosit olgun hale gelir ve atılır. Diğer oositler dejenere hale gelerek serbest kalırlar. Oositler 1.

mayoz bölünmelerini ovulasyon öncesi tamamlar ancak tamamlamadan önce primer oositler profaz döneminde 12 - 50 yıl duraklamış halde kalabilirler. Foliküler hücreler ve gelişmekte olan yumurta zona pellusida ile gap junctionlar aracılığıyla ilişki kurar. Zona pellusida ile örtülmüş olan primer oosit mayoz bölünmesindeki profaz dönemini erken tamamlamasını önlemek için folikülün olgunlaşması sırasında oosit matürasyon inhibitörü, foliküler hücrelerden oositle temas halinde olur. Foliküler hücrelerin, oositin plazma membranı ile gap junctionlar aracılığıyla bağlantı kurması, ince sitoplazmik uzantılara sahip zona pellusidayı geçerek olur. Oosit matürasyon inhibitörü, geçiş sırasında bu yolu izler. Ovulasyon öncesi mayotik profazının tamamlanmasını uyarmak için oosit kendisini aktifleştirmeyi matürasyon (olgunlaşma) başlatan faktör (MBF) ile sağlar. Bu faktör, hücre döngüsünün farklı dönemlerinde görevli olan oosit mayozunun temel düzenleyicisidir [55, 80].

Olgun bir folikül 1. mayoz bölünmesini tamamladığı zaman, primer oositlerden oluşan iki yavru hücre eşit miktarda kromatin alırken, sitoplazma dağılımı eşit şekilde olmaz. Sitoplazmanın neredeyse tümünü alan yavru hücreler, sekonder oosit adını alır. Az miktarda sitoplazma içerikli diğer yavru hücre ise küçük, daha sonra dejenere olacak 1.polar cisimciği oluşur ve perivitellin aralığa atılır. Sekonder oosit 1. mayoz bölünmesini bitirip 2. mayoz bölünmeye girer ve ovulasyona iki, üç saat kala sekonder oositin çekirdeği ancak metafaz döneminde duraklar [43, 80].

Ovulasyonla, korona radyatayla çevrili sekonder oosit atıldığı sırada 2. mayoz bölünme devam eder haldedir ve bu bölünme metafaz döneminde duraklar. Sekonder oosit bir sperm ile fertilize olduğu sırada 2. mayoz bölünme sona erer ve olgun ovum ile 2. polar cisimcik oluşur. Oluşan polar cisimcikler, dejenere olup daha sonra ortadan kalkar. Oosit gelişimi için gerekli olan mikroçevre foliküller sayesinde oluşur [80].

Ovulasyon öncesi sekonder oositin folikül sıvısında, prostaglandin E, F ve Hidroksieikosatetraenoik asit (HETE) seviyeleri en yüksek seviyeye ulaşacak şekilde artış gösterir. Prostaglandinler, LH ve progesterona yanıt olarak, proteolitik enzimlerin aktifleşmesini (plazmin, kollajenaz) uyarırken, HETE de anjiogenezi ve hiperemiye uyarır. Bu folikül sıvısındaki artış, yumurtalığın ön yüzeyine temas halinde olan Graaf follikülünün bu kısmı yani ovum salınımının gerçekleşmesi için doku yıkımının olacağı yer (stigma) kansız hale gelir ve yırtılır. Bu yırtılma ile dışarıya folikül sıvısı fışkırır ve bu

sının emme kuvvetiyle birlikte sekonder oosit, etrafında yer alan hücrelerle (kumulus ooforus) birlikte dışarıya atılır. Oosit kumulus kompleksinin atılımında ve folikül duvarındaki kollagenin yıkımında proteolitik enzimler ve prostaglandinlerin görevi önemlidir. Sekonder oosit, çatlamış Graaf folikülünden dışarıya çıkarak karın boşluğuna düşmez ancak tuba uterina' ya gider. Sekonder oositin folikülden dışarıya atılması bu şekilde olur. Ovulasyon, graaf folikülünün çatlamasıyla olur [6, 32, 81].

Oositin, sperm ile fertilizasyonuna kadar, oosit ikinci mayoz bölünmesini tamamlanmaz. Ovulasyon sonrası teka interna bulunan kapillerler yırtılır ve folikül boşluğunda az miktarda kanama olur. Böylece korpus hemorajikum oluşur. Folikül duvarı büzülür ve kıvrımlı hale gelir. Bağ dokusu hücreleri folikülü işgal eder ve granuloza ve teka interna hücreleri morfolojik değişimler geçirir. Bu değişiklikler, hücreler sitoplazmalarında yaygın agranüler endoplazmik retikulum, bol mitokondri ve lipid damlaları bulunan steroid sentezleyen hücre özelliği kazanacak şekilde olur. Hücrelerin arasında teka interna kaynaklı çok sayıda kan ve lenf kapillerleri yer alır. Korpus luteum olarak isimlendirilen, endokrin doku özelliği gösteren yapı oluşur [80].

Ovulasyonla serbest hale geçen olgun yumurtanın fertilizasyonu durumunda, korpus luteum gelişim gösterir ve gebelik korpus luteumu oluşur. Gebeliğin ortasına kadar hücreler büyümelerini sürdürürler. Gebelik korpus luteumu daha sonraları, yavaşça geriler ve doğumdan sonra hızla dejenerasyon gösterir. Dejenerasyon sonrası korpus albicans oluşur ve bu yapı menstruasyon korpus luteumundan gelişen yapıdan daha geniş haldedir [80].

Ovulasyonun gerçekleşmesi LH' ın yüksek seviyedeki artışından 10-12 saat sonra olur. LH artışı ovulasyondan 34- 36 saat önce gerçekleşir ve ovulasyon aşamasına gelmiş sekonder folikülün yüksek seviyede östradiolü salgılamasıyla olur. LH artışı ovulasyon zamanını tahmin etmek için kullanılan bir belirteçtir. LH artışıyla birlikte, granuloza hücrelerinin lüteinizasyonu uyarılır ve menstrüel döngü ortasındaki FSH artışını sağlayan progesteron sentezi stimule hale gelir. LH artışı aynı zamanda 1. mayoz bölünmenin tamamlanmasını ve 1. polar cismin perivitellin aralığa atılmasını uyarır [6].

Ovulasyona hangi folikülün gireceğinin belirlenmesinde vaskülarizasyon derecesi önemli bir faktördür. Aynı zamanda foliküler damarlanmanın kontrolünü sağlayan, kaynağı

granüloza hücreler olan Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü' dür (VEBF) . Bir diğer VEBF kaynağı teka hücre tabakasında yer alan damarların endotel hücreleridir. Bu faktör endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu uyarır ve vasküler permeabilityi de artırır. Follikül gelişimi devam ettiği sürece folikül sıvısında VEBF seviyesi artış gösterir. Follikül sıvısındaki VEBF konsantrasyonu, hangi folikülün ovulasyona gireceğinin belirteçidir. Antimüllerian Hormon (AMH) overlerde sadece doğum sonrası sağlıklı ve yavaş büyümekte olan foliküller içindeki granüloza hücrelerinde ifade edilir. Overde folikül büyümesinde ve düzenlenmesinde AMH' nin rolü büyüktür [80].

Bmp15, FSH yolu ile uyarılan progesteron üretiminin baskılanmasında görevli bir proteindir. Primer folikül içindeki oosit bu proteini eksprese eder. Bu protein aynı zamanda granüloza hücre proliferasyonunu da uyarır [80].

Koloni stimule faktör -1 (KSF-1) overlerde makrofaf üretimini düzenler. Oositin gelişimi sırasında makrofajlar folikülün teka tabakasına doğru aktif hale gelirler. Ovulasyon öncesi makrofajlar en yüksek miktardadır. Makrofajlar preovulatuvar folikülün kortikal yüzeyine lokalize durumdadırlar ve folikül yırtılması, over duvarının preluteal onarımında görevlidirler. KSF-1 yokluğunda overdeki gelişen foliküller aktifleşemez ve makrofaj sayısındaki azalma belirgindir [80].

Oositte mayozun devamlılığı ve tamamlanması MTF(MaturasyonTeşvik edici Factor), MOS (proto-onkogen) ve MAPK (Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz) faktörleri arasındaki koordineli ilişki sonucu olur. MTF' nin görevinin protein fosforilasyonunu sağlayan süreci başlatarak oositi mayotik sürece yönlendirmek olduğu düşünülmektedir. NOS / MAPK yolu ise mayoz 1 ve mayoz 2' deki içcik oluşumu, mayoz 1' den mayoz 2' ye geçişteki DNA replikasyonunun baskılanması ve Mayoz 2' deki duraklamanın devamlılığında görevlidir [80].

2.6. İnfertilite

Dünya Sağlık Örgütü (DSO) infertiliteyi, “en az bir yıllık, korunmasız cinsel ilişki sonrası gebe kalamama” olarak tanımlar. İnfertilite, fizyolojik, psikolojik ve sosyolojik gibi önemli etkileri olan sağlık sorunlarından biridir ancak geri dönüşü olmayan bir durum değildir [82, 83].

Kadınlardaki infertilitenin temel nedenleri;

- 1) Ovulasyon bozuklukları (anovulasyon ve düşük over rezervi)
- 2) Anormal semen parametreleri
- 3) Tuboperitoneal faktörler (tubal obstrüksiyon- tuboperitoneal yapışıklıklar, Endometriozis) ve uterusu ait nedenler (uterus anomalileri, myom - polip, adenomyozis, intrauterin yapışıklıklar, enfeksiyon)
- 4) Sperm, oosit ve embriyonun reproduktif yolda taşınması sırasındaki bozukluklar (tubal, uterin, servikal ve peritoneal faktörler)
- 5) Açıklanamayan infertilite oluşturmaktadır [82, 83].

2.6.1. DSO'ne göre anovulasyonun sınıflanması

Ovulasyon bozuklukları, menstrüel siklusa rahatsızlık şeklinde ortaya çıkar ve çiftlerin %25' inde infertiliteye neden olur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ovulasyon bozukluklarını üç gruba ayırmaktadır.

DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) grup I

Ovulasyon bozukluğu olan kadınların yaklaşık %10' unda, grup I ovülasyon bozukluğu vardır. Grup I ovülasyon bozukluklarının kaynağı, hipotalamik hipofiz yetmezliğidir. Hipogonadotropik hipogonadizm olan, düşük gonadotropin ve östrojen eksikliği ile karakterize olan amenore (primer veya sekonder) ile başvuran anovulatuvar kadınlar bu grupta yer alırlar. İdiopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm, Kallmann' s sendromu, Hipofiz tümörü, Hipofiz nekrozu olan hastalar da bu grupta görülebilir [75, 84].

DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) grup II

Ovulasyon bozukluğu olan kadınların yaklaşık % 85' inde grup II ovulasyon bozukluğu vardır. Grup II ovulasyon bozuklukları, hipotalamik pitüiter yumurtalık ekseninin işlev bozuklukları olarak tanımlanır. Normogonadotropik hipogonadizm veya östrojenik ovulatuvar disfonksiyonu olan hastalar bu grupta yer alır. Bu hastalar anovulatuvar kadınlardır ve genel olarak gonadotropin düzeyleri normaldir. Endojen östrojen aktiviteleri vardır. Grup 2' deki hastaların çoğu PKOS' ludur, bazen hiperprolaktinemi amenore' li hastalar da bulunabilir [83].

DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) grup III

Ovulasyon bozukluğu olan kadınların yaklaşık % 5' inde grup III ovulasyon bozukluğu vardır. Hipergonadotropik hipogonadizmli hastalar bu grupta yer alır. Grup 3 Ovulasyon bozuklukları ovaryum yetmezliğinden kaynaklıdır. Aynı zamanda iatrojenik, otoimmün nedenler, enfeksiyonlara sahip hastalar da bu grupta görülebilir [83,84].

DSÖ grup 1 ve 2 ovulasyon bozuklukları, ilaç tedavileri, yaşam tarzı değişiklikleri ve / veya cerrahi yöntemlerle tedavi edilebilirken grup III ovulasyon bozukluğu olan kadınlar (over yetmezliği) yalnızca oosit bağıışı ve ardından IVF yoluyla tedavi edilebilir [85].

2.7. Ovulasyon İndüksiyonu (OI)

DSÖ tip 1 ve DSÖ tip 2 anovulatuvar hastalarda overin monofoliküler gelişimini veya açıklanamayan infertilite (AI) ve IVF için multifoliküler gelişimi sağlamak ya da artırmak amacıyla çeşitli ovulasyon indüksiyon ajanları ile overde folikülogenez ve steroidogenezin uyarılmasıdır. Ovulasyon indüksiyonu, ovulasyonu olan kadınlarda da foliküler gelişimi yönlendirmek, ovulasyonun zamanlamasını ya da gametlerin buluşma ihtimalini artırmak amaçlı da kullanılır. Çeşitli ovulasyon indüksiyon ajanı ve tedavi protokolleri vardır [79,80].

Ovulasyon indüksiyonu sonucu elde edilen başarı ve oluşan yan etkinin ilişkisi, hastanın durumu, gonadotropin preparatları ve uygulanan protokoller, ovaryan cevabın monitorizasyonu ve fazla cevap verilen durumlarda siklusu iptal etme isteği gibi faktörlere bağlıdır [83].

Genel olarak kullanılan 3 değişik tipte ovülasyon indüksiyon uygulaması vardır.

1. *Substitution (yerine koyma) Tedavisi:* Gonadotropin eksikliği olan amenore kadınları (DSÖ tip I) tedavi etmede kullanılır.
2. *Regülasyon Tedavisi:* Oligoovülasyonu veya sürekli anovülasyonu olan kadınları (PKOS gibi) tedavi etmek için uygulanır.
3. *Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon (KOH):* İntrauterin inseminasyon ile birlikte multifaktöryel infertilitesi olan veya açıklanamayan infertiliteye sahip olan hastaları tedavi sürecinde kullanılır. Hafif endometriosis, geçici anovülasyon, hafif

oligoastenoteratospermi, servikal mukus bozuklukları, tek taraflı tubal tıkanıklık veya bu rahatsızlıkların kombinasyonları görüldüğünde KOH tedavi amaçlı uygulanabilir [75].

2.7.1. Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon (KOH)

Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon IVF' in temel basamaklarından birini oluşturan ve 1970' li yıllardan beri uygulanan protokollerden biridir.

KOH protokolleri en ideal sayıda ve kaliteli nitelikte oositin eldesi ve aynı döngüde çok sayıda follikülün geliştirilmesi prensiplerini temel alan uygulamalardır [7, 86].

KOH protokollerinde amaç, oosit kalitesi ve canlı doğum oranlarının artışı sağlamak, düşük over rezervi olan hastalarda over yanıtını iyileştirerek ovaryan hiperstimulasyon riskini azaltmaktır. KOH protokolleri her hastaya uymadığından tedavilerin bireyselleştirilmesi, kadının yaşı, over rezervi, endokrin durumu, endometriozis, polikistik over sendromu (PKOS) ve over kisti gibi ilişkili durumlara bakılarak yapılır [86].

KOH protokolleri, hipotalamus hipofiz over aksının tedavi siklusu öncesinde baskılanıp baskılanmamasına göre uzun ve kısa protokoller şeklinde uygulanır [84].

KOH' da uzun protokoller, ideal follikül gelişimi bir önceki siklusun midluteal döneminde başlayan GnSH analogu ile overlerin baskılanmasını takiben gonadotropin uyarısı ile gerçekleştirilir. Bu protokolde LH' nın erken ve kontrolsüz artışının önlenmesi amaçlanır. Overlerin baskılanması, endojen FSH ve LH, GnSH analogunun etkisi ile olduğu sırada follikül gelişimi ekzojen gonadotropin preparatlarının yardımı ile sağlanır. KOH' daki kısa protokollerin uygulanması ise over rezervi kısıtlı olan hastalarda yaygındır. Bu hastalar "kötü" veya "zayıf yanıt veren" olarak adlandırılır ve overleri ovulasyon indüksiyonuna kısıtlı derecede cevap verir. Bu protokoller uzun protokole göre daha pratiktir [6, 86].

KOH uygulamaları sırasında OHSS gelişimi ve çoğul gebelik riski ovaryan stimülasyonun derecesine, cevabın durumuna ve çok fazla sayıda folikül geliştiğinde siklusun iptal edilme durumuna bağlı olarak değişim gösterir [83].

KOH siklusları gerçekleşirken önemli bir problem erken lüteinizasyondur. Erken lüteinizasyon, gonadotropinlerle yapılan indüksiyon sikluslarının %10-20' sinde olan LH kaçağından kaynaklı gerçekleşir. KOH sikluslarında erken luteinizasyon sorununu önlemek için endojen gonadotropinlerin baskılanması amacıyla gonadotropin agonist ya da antagonistleri kullanılır [7].

2.8. Ovulasyon'u Uyaran Ajanlar (OIA; Ovulasyon İndüksiyon Ajanları)

Ovulasyon indüksiyonu oluşturmak için oral ajanlardan klomifen sitrat, tamoksifen, aromataz inhibitörleri, insülin hassaslaştırıcılar, dopamin agonistleri ve parenteral ajanlardan ise gonadotropinler, GnSH agonist ve antagonistleri kullanılır. Klomifen sitrat, yan etkisi az, kullanımı kolay olduğu için ovulasyon indüksiyonunda en yaygın kullanılan ajandır [65].

Ovulasyon indüksiyon ajanları tek başlarına veya kombine şekilde değişik protokollerle birlikte kullanılabilir. İlaç ve uygulanacak protokol seçimi, tedavi maliyeti, süresi, hastanın primer patolojisi, hasta seçimi ve zaman unsurları göz önüne alınarak belirlenir [79, 80].

2.8.1. Klomifen sitrat (KS)

Klomifen sitrat 1950' li yıllarda sentez edilen ancak klinik kullanımına 1960' lı yıllarda başlanan en yaygın kullanılan ovulasyon indüksiyon ajanıdır. Selektif Östrojen Reseptör Modülatörleri (SERM) içerisinde trifeniletillen grubunda yer alan Klomifen Sitrat, östrojenik ve antiöstrojenik etkisi olan nonsteroidal yapıda sentetik bir östrojendir [78, 79].

Klomifen sitrat' ın izomerine göre değişen yaklaşık 5 - 21 gün süren uzun yarılanma ömrü vardır. Klomifen sitrat, farklı özelliklere sahip olan izomerin (enklomifen ve zuklomifen) inaktif karışımı sonucu oluşur [65, 68].

KS, oral alımında gastrointestinal yoldan iyi absorbe olur, karaciğerde metabolize edilerek, büyük oranda dışkı ile atılır [78, 79].

Klomifen Sitrat, etkisini intrasellüler östrojen reseptörlerine bağlanarak, bu reseptörü birkaç hafta süreyle işgal ederek gösterir. KS önce zayıf östrojenik etki yaratır daha sonra ise uzun süre reseptörü bloke ederek antiöstrojenik etki gösterir. Östrojenin

hipotalamohipofizer sistemdeki negatif etkisini inhibe eder ve hipotalamohipofizer sistemden gonadotropin salınımını artırır [65, 79].

Klomifen sitrat, Tip II anovulatuvar infertilitesi olan kadınlarda ovulasyon indüksiyonu için ilk tedavi yöntemidir. Bu grup hastalar genelde %70 - 75 PKOS hastalarıdır. Klomifen' in aynı zamanda düzensiz ovülasyonu veya anovulasyonu olan kadınlarda da kullanımı mevcuttur [69, 75, 79].

Klomifen sitrat' ı n 50 mg' lik tabletler halinde standart 5 günlük uygulaması sırasında, LH ve FSH seviyeleri yükselir ancak tedavi tamamlanınca bu hormon seviyeleri düşüş gösterir [68, 78].

Klomifen Sitrat' ın normal ovulasyona sahip kadınlara verilmesi, hipotalamustan GnSH salgısını ve hipofizden LH ve FSH salgılarının miktarında değişiklik yapmadan sıklıklarını artırmasıyla sağlanır. Klomifen sitratın anovulatuvar kadınlara verilmesi ise GnSH salgısının maksimum sıklıkta salgılanmasına bağlı olarak, LH ve FSH' un salgılanma sıklığını artırır bununla birlikte salgı miktarında da artış yaratır. Bu kadınlarda klomifen sitrat overleri doğrudan etkiler ve granuloza hücrelerini gonadotropinlere karşı duyarlı hale getirir. Böylece hücrelerde bulunan LH reseptörleri FSH tarafından uyarılır ve aromatisasyonda artış görülür. KS doğrudan ovulasyonu uyarmaz ve normal menstrüel siklusun fizyolojik değişikliklerini gerçekleştirerek ovulasyon oluşumuna katkıda bulunur [65].

Klomifen ile ovulasyon indüksiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için vücutta yeterli seviyede endojen östrojenin varlığı ve endojen gonadotropinleri salgılayan sağlam bir hipotalamo/ hipofizer aksa gereksinim vardır [68].

Klomifen sitrat kullanımı sonrası, folikül veya korpus luteumda steroidogeneizde, servikal mukus miktarı ve kalitesi üzerinde, oosit, ovum fertilizasyonu, embriyo gelişimi ve endometriyum üzerinde (endometrial bez sayısında azalma, vakuolizasyonda artış ve estrogen progesteron reseptörlerinde azalma, endometriyum kalınlaşması ve matürasyonu gibi) olumsuz antiöstrojenik etkiler de oluşabilir [68, 79].

Klomifen aynı zamanda siklusların periimplantasyon dönemi ve erken salgı dönemi sırasında uterin kan akımını azaltır. Klomifen kullanımı sonrası %35 - 60 oranında multifoliküler gelişim, büyük bölümü ikiz gebelikle sonuçlanan %7 - 10 oranda çoğul gebelik görülür. %5 - 7 oranda overlerde kist gelişimi ve %13. 5 oranda over büyümesi görülür. KS kullanımı, Ovaryan Hiperstimulasyon Sendromu (OHSS) ve uzun süre kullanımı over kanseri riskinde artışa neden olabilir. Spontan abortus ve teratojenite riski açısından artış yoktur [68, 78].

Klomifen sitrat kullanımı sonucu bulantı, kusma, baş ağrısı, baş dönmesi, mastalji, ateş basması (kullanan kadınların %10' unda en sık), görme bozuklukları (bulanıklık, skotom, çift görme (geridönüşümlü)), vazomotor kızarıklıklar, göğüslerde ağrı, saçlarda dökülme, pelvik ağrısı gibi yan etkiler görülebilir [68, 78, 79].

Klomifen sitrat ile ovulasyon indüksiyonu sonucu, ovulasyon oranları yüksektir ancak gebelik oranları daha düşük seviyededir. Bunun nedenleri, klomifenin endometriyuma karşı olan antiöstrojenik etkisi, uterin kan akımında görülen azaltıcı etkisi, gebelik kayıpları, tubal pasaja olan etkisi ve oosit kalitesine olan olumsuz etkileridir [79].

Klomifen sitrata cevap vermeyen hastalar için tedaviye gonadotropin hormonunun da eklenmesi faydalı olabilir [78].

2.8.2. Tamoksifen (TMK)

Tamoksifen, 1970 yılından beri kullanılan, KS' a yapısal olarak benzeyen nonsteroidal bir trifeniletiledir. Tamoksifen antiöstrojenik özellikli, nonselektif östrojen reseptör modülatörüdür. KS' den farklı olarak bu ajan, geometrik izomerizm göstermez ve sadece bir trans izomeri mevcuttur. Bu ajan meme kanserinin tüm basamaklarında ve ovulasyon indüksiyonu için tercih edilir [86, 87].

TMK, 7 günlük uzun bir biyolojik yarılanma ömrüne sahiptir. Bu ajanın % 99' u protein bağlıdır ve vücuttan atılımı ilk altı hafta içinde olur [87].

Tamoksifenin kullanımı, siklusun 2- 5. günleri arasında 20 mg / gün dozu şeklindedir [7].

Ovulasyon indükleyici bir ajan olan TMK, LH ve FSH' nin dolaşımdaki seviyelerini hipotalamus yoluyla artırır. Östrojen reseptörlerini bloke eder, hipotalamusu, endojen östrojenin negatif geribildirim etkisinden serbest bırakır böylece LSH aktivitesi artar. Hipofizer gonadotropinlerin, özellikle de FSH' nin ortaya çıkışı foliküler büyümeyi uyarır. Ayrıca, TMK' in hipofiz ve over üzerinde direkt bir etkisi vardır. Tamoksifen, bir bölgede antiöstrojenik ve diğerinde östrojenik olması nedeniyle hedef doku için spesifite gösterebilme özelliğindedir. Tamoksifen over, uterus endometriyumu ve servikal mukus üzerinde etkisi vardır. Folikülogeneze yol açan overde agonist bir etkisi varken, endometriyum üzerindeki antagonist etkisi önemli klinik etkilere sebep olur [87].

Normogonadotropik, normoprolactinemic anovulatuvar kadınlarda TMK' in kısa süreli kullanımı, hipofizer gonadotropinlerde özellikle FSH' de artışa neden olur ve foliküler büyüme uyarılır. Dolaşan östrojen düzeylerindeki artış, subfertil kadınlarda ovulasyona neden olur. TMK postmenopozal kadınlarda kemik yoğunluğunu korumada görevlidir. Menopoz dönemi öncesi kadınlarda ise hafif ancak belirgin kemik kaybı yaratır. Ancak ovulasyon indüksiyonu için kısa süreli olarak uygulandığında bu etkiler görülmez [87].

TMK' in diğer antiöstrojenlerle birlikte uygulanması mide bulantısı, karın ağrısı, sıcak basması, trombositopeni, tromboembolik hastalık, kornea opasitesi ve retinopati gibi yan etkilere neden olabilir. Yan etkileri genellikle KS' den daha az belirgindir. TMK ile ovulasyon indüksiyonu sonucu ovaryan hiperstimülasyon protokolü seyrek ve hafif şekilde gerçekleşir. TMK' in uzun dönem kullanımında endometriyal hiperplazi ve endometriyal kanser gibi durumlarda artış görülebilir [87].

Tamoksifen KS ile aynı aileden gelmesine rağmen KS' a göre kullanımı daha azdır ve endometriyum ve servikal mukusa olan antiöstrojenik etkisi KS' dan daha azdır [86, 87].

Ovulasyon indüksiyonu amacıyla Tmk kullanımı % 50 - 90 ovulasyon ve % 30 - 50 gebelik oranlarına neden olur. Tamoksifenin kullanımı diğer ajanlara göre ovulasyon, gebelik oranları, servikal mukus skorunun yüksek olması ve korpus luteumun daha iyi çalışması ve ucuz olması nedeniyle avantajlı olabilir. Tmk OHSS' ye ve çoğul gebeliklere neden olmaz [88- 91].

2.8.3. Aromataz baskılayıcıları

Aromataz bir sitokrom P- 450 enzim kompleksidir. Aromataz inhibitörleri, overde Androstenedion (A) ve Testoseron (T)' un östrojenlere (sırasıyla estron (E1) ve estradiyol (E2' e)) dönüşümünü sağlayan, aromataz enziminin aktivitesini geri dönüşümlü olarak engelleyen ajanlardır. Ovulasyon indüksiyonu için klomifen sitrata alternatif bir yoldur [68, 71, 73, 80].

Polikistik over sendromu, endometriozis, östrojen bağımlı kanserlerde fertilite istemi, koagülasyon bozuklukları açısından yüksek riskli hastalar aromataz inhibitörlerinin hedef olduğu hasta gruplarıdır [68, 71, 73].

Aromataz enzim aktivitesi, overler, beyin, yağ dokusu, kas, karaciğer, meme dokusu gibi pek çok normal dokuda görülürken aynı zamanda malign meme tümörleri gibi patolojik dokularda da görülür. Premenopozal kadınlarda dolaşımda östrojenin ana kaynağını overler, postmenopozal kadınlarda ise kaynağı periferik yağ dokusu oluşturur [68].

Aromataz inhibitörleri 3 grup içerir:

1. Grup: Aminoglutetimid
2. Grup: Fadrazol, Rogletimid
3. Grup: Anastrozol (Arimidex), Letrozol (Femera), Exemestan (Aromasin) [80].

Letrozol ve Anastrozol üreme periyodunda kullanıldığında bu bileşikler akut dolaşımdaki serum östrojen düzeyini azaltır, bu sırada da granuloza hücrelerinde aromataz aktivesi baskılanır. Androjenlerin östrojenlere dönüşümü böylece baskılanır. Hipofiz üzerindeki negatif geri bildirim etkisi azalır ve aynı zamanda negatif geri bildirim yolu ile hipotalamus uyarılır. Hipofizden ekstra gonadotropin salgılanır ve over etkisi ile yerel östrojenin androjen dönüşümü bloke edilerek androjenler birikir. Böylece overde aktivin yapımı uyarılır, foliküler FSH reseptör ekspresyonu artar ve folikülogenez teşvik edilir. Aromataz inhibitörlerinden kullanım açısından en yaygın olanı Letrozol' dür [6, 71, 80, 86].

Östrojen reseptörleri pozitif olan meme kanserli postmenopozal kadınların tedavisinde 3. grup aromataz inhibitörleri kullanılır. Bu inhibitörler letrozol (Femara), anastrozol (Arimidex) ve exemestan (Aromasin)' dir [68].

Letrozol (Femara), triazol türevli son derece güçlü, spesifik, nonsteroidal, geri dönüşümlü bir ajandır ve androjenlerin östrojene dönüşümünü engeller [68, 73].

Letrozol östrojen reseptör antogonisti değildir ve yarılanma ömrü kısa olduğu için endometriyum ve serviks üzerine olumsuz etkisi yoktur. Bu nedenlerden dolayı klomifen sitrata göre infertilite tedavisinde daha uygun bir yapıya sahiptir [68].

Letrozol' ün ovulasyon indüksiyonu amacıyla kullanım şekli, oral yolla adet 3-7 günleri arasında 2, 5 -5 mg / gün dozunda 5 gün boyuncadır. Anastrozol (Arimidex 1mg tb) aynı şekilde 1 mg / gün dozunda kullanılır. Bu dozlarda yan etkiler çok az görülür. Monofoliküler gelişim sağladığından çoğul gebelik hızı düşük şekilde görülür. İyi tolere edilebilen ajanlardır ve yarılanma ömürleri yaklaşık 48 saattir. Letrozol vücutta hızlı bir şekilde başlıca karaciğerde temizlenir. Aromataz inhibitörlerde endometrial kalınlık Klomifen sitrat' a oranla daha fazla görülür. Bu ajanlar Klomifen sitrat' a benzer veya daha iyi ovulasyon hızına sahiptir. Letrozol oral yolla verildikten sonra 2 - 4 gün yarılanma ömrüyle tamamen emilir ve 2 - 3 gün içinde maksimum östrojen baskılamasını gerçekleştirir [68, 73, 80].

Aromataz inhibitörleri kullanımları sonrasında hafif sıcak basması, asteni, gastrointestinal rahatsızlıklar (bulantı ve kusma), baş ağrısı, sırt ağrısı ve bacak krampları gibi yan etkiler görülebilir [68].

Aromataz inhibitörleri ovaryan stimülasyon amacı ile tek başına veya ekzojen gonadotropinlere yardımcı olarak kullanılabilirler. Tek başına kullanımlarının PKOS gibi bir anovulatuvar infertilite durumunda monofoliküler ovulasyonu sağlayabilmesi gibi avantajı vardır. Aromataz inhibitörleri hem tek doz hem de çoklu doz rejimlerle menstrüel siklusun erken dönemlerinde verildiği zaman anovulasyon kadınlarda ovulasyonu sağlamada etkilidirler. Tek doz rejimi şeklinde kullanımı kolaylık sağlar fakat daha yüksek dozlarda kullanılırsa yan etki sıklığı da artabilir. Letrozol' ün klomifene göre daha az yan etkisi olduğu için kadınların bu ajanı iyi tolere ettiği gözlenmektedir [68].

2.8.4. İnsülin'e duyarlaştırıcılar

İnsülin duyarlaştırıcılar, insülin direncini azaltır, hiperandrojenizmde normalizasyon yaparak, overlerin FSH' a hassasiyetini artırır ve ovulatuvar sikluslar oluştururlar. Bu şekilde endokrin durum sırasında düzelme sağlarlar. Bu ajanların, bulantı, kusma ve diyare gibi ağır gastrointestinal yan etkileri vardır. Bu yan etkiler uzun süreli kullanımlar sonucu görülür [86].

Metformin

Metformin oral biguanid grubundadır ve antihiperglisemik bir ajan olarak en sık kullanılan insülin duyarlaştırıcı ajandır. Metformin ilk olarak 1957 yılında insülin bağımlı olmayan bir tedavide, oral glukoz düşürücü ajan olarak kullanılmıştır [78, 80].

Metformin teratojenite açısından orta derecelidir. Bu ajan, periferik dokularda primer olarak insülin duyarlılığını artırarak pankreatik insülin salınımını artırır, bu yüzden normoglisemik kişilerde hipoglisemiye neden olmaz [80].

Metformin, insülin düzeylerini düşürerek total ve serbest testosteron düzeylerini azaltır ve hiperandrojeneminin klinik bulgularında iyileşme gerçekleştirir [78].

Metformin, diyabetle ilişkili ölüm hızını azaltır ve diyabetik yan etkilere karşı koruyucu özellikler içerir. Metforminin kanser çalışmalarında da kullanımı mevcuttur. Metformin, PKOS'taki over fonksiyonunu, insülin direncini azaltarak ve doğrudan overleri etkileyerek iki yönlü şekilde gösterir [92].

Metformin'in gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyon amaçlı kadınlara verilmesi, canlı doğum oranını artırabilir [93].

Metformin'in KS ile kombinasyonu, KS' a oranla ovulasyon indüksiyonu ve gebelik oranları 3-4 kat yükseltir. Metformin, OHSS ve abortus riskini düşürür. Ovulasyon indüksiyonu ajanı olarak metformin, günde 1500 mg kullanılarak spontan ovulasyon ve fertilite oranlarında artış görülür [80].

Metforminin böbrek yetmezliği olan hastalarda ender görülen, fakat ciddi şekilde olan yan etkisi laktik asidoz' dur [75].

2.8.5. Gonadotropinler

Gonadotropinler yaklaşık 30, 000 dalton molekül ağırlığında glikoprotein yapılardır. FSH ve LH 'nın bileşiminden oluşan idrardan elde edilen iMG formları veya idrardan elde edilen FSH formları vardır. Gonadotropinlerin aynı zamanda yapılarında % 20 oranda karbonhidrat vardır. İmg ve FSH formları yanında gonadotropinlerin rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen FSH ve LH hormonları da bulunur. Rekombinant şekilde üretilen hormonlar idrardakilere göre daha saf durumda ve homojeniteleri iyidir [75, 86, 94].

Glikoprotein gibi yaşamsal görevi olan proteinlerdeki sialik asit içeriği değişkendir ve bu farklılık yarılanma ömrü açısından çeşitliliğe yol açar. Sialik asit miktarının fazlalığı, proteinin uzun yarılanma ömrü olmasına neden olur. Sialik asit kalıntı şeklinde görülür, İKG' de 20 kalıntı varken, FSH 5, LH 1 veya 2 kalıntı içerir. Bu kalıntıların temizlenmesi kanda bulunan hormonun yarı ömrünü kısaltır [95].

Gonadotropinlerin uygulamasının ilk tercih edildiği hasta grubu hipotalamik - pituiter yetmezliği olanlardır. Bu hastaların genel özellikleri, tipik olarak amenore olmaları ve bir progesteron testi sonrası vajinal kanamayı geri çekmemeleridir [94].

Gonadotropinler iMG veya saf FSH olarak, ovulasyon bozukluğu olan kadınlara uygulanır, bu hastalar genelde PKOS hastalarıdır. Bu hastalara gonadotropin, hastaların klomifene karşı dirençleri olduğu için verilir [69, 86].

Gonadotropinlere artan isteğin karşılanması için gonadotropin preparatları laboratuvar da üretilir ve bu hormonların da infertilite tedavisinde kullanımı mevcuttur. Bunlara rekombinant preparatlar denir ve deri altına verildikleri zaman etkili olurlar [94, 96].

Gonadotropinler klinik kullanım açısından 4 gruba ayrılmaktadır. Bunlar FSH, LH, İKG, İMG ve rekombinant şekilde bunların preparatlarıdır.

Folikül Stimule Edici Hormon (FSH), Hipotalamustan salgılanan GnSH' a cevap şeklinde hipofizin ön lobundan sentezlenir. İnfertil kadınlarda folikül gelişimi FSH' a bağımlıdır ve

kontrollü ovaryan hiperstimülasyon protokollerinin başında folikül geliştirilmesi amacıyla kullanılır. FSH 34, 000 dalton molekül ağırlığındaki glikoprotein yapıdır ve kovalant olmayan bağlarla birbirine bağlı olan alfa ve beta subunitlerini içerir. Alfa subuniti LH ve KG' ninin aynısıdır. Beta subunitlerinin farklılığı biyolojik aktivitelerinin özel hale gelmesine nedendir. FSH, 17 saatlik bir yarıömrüne sahiptir ve metabolik temizlenmesi glomerüler filtrasyon ve hepatik metabolizmayla 0, 5L / saat şeklinde olur. FSH işlevini G proteinine bağımlı bir reseptör olan FSH reseptörüne (FSHR) bağlanarak gerçekleştirir. Eğer FSH' un işlevi folikül gelişimiye, granuloza hücrelerinin membranlarına özel olan FSH reseptörlerine bağlanır ve gelişimin başlaması uyarılır [86, 94].

FSH granuloza hücrelerinin proliferasyonunu, aromataz aktivitesinde artışı bununla artan östrojen sentezini, granuloza hücrelerinde LH reseptör, inhibin artışı ve progesteron sentezinde görevli enzimin aktifleşmesini teşvik eder. Folikülogenez ve ovulasyonun olağan şekilde ilerlemesi FSH' un seviyesinin belirli miktarda olması ve folikül varlığıyla ilişkilidir [7].

Saf şekilde FSH eldesi postmenopozal dönemdeki kadınların idrarından edilir ve iMG yerine kullanılır. Saf şekildeki preparatlarda 1 IU' den az LH ve 75 IU FSH bulunur. FSH ve LH' ın ikisinde olması ovulasyon için gereklidir ancak saf FSH' ın PKOS hastalarında kullanımı daha yaygındır [65].

Rekombinant teknoloji aracılığıyla elde edilen FSH, r-FSH' dir. Rekombinant FSH' nin yarı ömrü 2 saattir ve metabolik temizlenmesi 0, 15L / saat şeklinde olur. R - FSH intramüsküler veya subkutan şeklinde uygulanabilir. R- FSH ile ovulasyon indüksiyonu FSH' a göre daha az ampülle sağlanabilir ve bu yolla elde edilen oosit sayısı, üretilen embriyo sayısı saf FSH kullanımı sonucuna göre daha fazladır. Buna bağlı olarak klinik gebelik oranının, implantasyon oranının da saf FSH kullanım sonucuna göre daha yüksektir. Rekombinant teknoloji uygulamasının embriyo canlılığını artırabileceği düşünülmektedir [86, 94].

LH alfa ve beta olmak üzere iki altbirimden oluşur ve 28, 000 dalton molekül ağırlığı vardır. Dolaşımdaki yarıömrü 1 saattir. LH, LH / KG reseptörlerine bağlanarak aktivite gösterir [65, 86, 94].

LH, follikülogenez, steroid hormon sentezi, ovulasyonun uyarılması, luteinizasyon, korpus luteum oluşumu ve devamlılığının sağlanması aynı zamanda da oosit ve embriyo kalitesi üzerinde etkilidir [7].

LH, mayoz bölünme ve yeniden folikül olgunlaşmanın başlamasını engelleyen inhibisyonun sağlanmasında önemlidir. Bunun için en fazla düzeyde LH gereklidir ve oositin olgunlaşması gerçekleşene kadar bu LH seviyesi 14 - 27 saat aynı düzeyde kalmalıdır [7, 86].

R - LH, Lüteinleştirici hormonun rekombinant yolla elde edilen şeklidir. R - LH' ın yarı ömrü 10 saattir. Yarı ömrü kısa olduğu için rh - LH yüksek veya multiple doz ile uygulanır. R - LH' ın kullanışı intramüsküler ya da subkutan şeklindedir ve karaciğerde metabolize edilir [80, 86].

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon protokollerinde rekombinant LH, rekombinant FSH ile birlikte folikül olgunlaşmasını gerçekleştirmek amacıyla kullanılır. Bu şekilde folikül sayısında da artış elde edilir [86].

İnsan Koryonik Gonadotropin (İkg) 38, 000 daltonluk moleküler ağırlığa sahiptir ve FSH, LH, TUH hormonlarının da bulunduğu dimerik glikoprotein hormon ailesinde yer alır. İkg, fertilizasyon sonrasında gelişen blastokist tarafından sentezlenir ve embriyonun implantasyonunu destekler. İkg plasenta tarafından da daha sonra salgılanır. İkg' nin sialik asit içeriği yüksektir. Sialik asitin yüksek olması İkg' ye 24-36 saatlik uzun yarı ömür ve artmış biyolojik aktivite özelliği kazandırır. Ovulasyon indüksiyonu amaçlı, üriner İkg, siklularda intramüsküler şekilde verilir. İmg' nin dozu tek doz şeklinde 10, 000 IU miktardadır ve uzun sürede uygulanır [80, 94].

İkg kontrollü ovaryan stimülasyon sırasında oosit matürasyonunu indüklemek, Endojen LH pikini uyarmak, fertilizasyon sonrası korpus luteum fonksiyonunu desteklemek, gerilemesini önlemek, gebeliğin ilk trimesterinde progesteron devamlılığını sağlamak amaçları doğrultusunda kullanılır [86].

İkg' nin hücre kültür sisteminde üretilen çeşiti R - İKG' dir. R – İkg, saf ikgye göre daha etkilidir. Yarı ömrü uzun ve kısa faz olmak üzere iki evrelidir. % 80' i karaciğerde metabolize olurken bazı kısımları metabolize olmaz ve idrarla dışarı atılır [86].

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon protokollerinde rekombinant iKG' nin rolü oosit matürasyonunu indüklemek ve gebelik şansını artırmaktır. R-kg'nin saf İkg'ye göre yüksek serum iKG konsantrasyonu, yüksek serum progesteron konsantrasyonu ve lokal reaksiyonlarının az olması gibi avantajları vardır [86].

İnsan menopozal gonadotropin (İMG) 75IU FSH ve 75IU LH içeren gonadotropinlerdir ve ilk kez 1949 yılında menopoz dönemindeki kadınların idrarından elde edilir. İMG' nin kullanımına 1958 yılında başlanır ve bu hormonla ilk gebelik 1960 yılında elde edilir. ⁷

İmg' ler oral yolla inaktif şekildedirler. Bu hormonlar idrardan elde edilirse intramusküler şekilde, rekombinant teknolojisiyle elde edilirse subkutan şekilde uygulanırlar [65, 75, 97] .

Bu hormonun kullanımı Hipogonadotropik hipogonadizmlı hastalarda tedavi için etkilidir. Ancak altı siklus sonrasında % 91, 2 oranında gebelik elde edilir.

İMG kullanımının OHSS ve çoğul gebelik gibi yan etkileri görülebilir [65] .

Gonadotropinler ile ovülasyon indüksiyonu, gonadotropinin türüne, dozajına ve zamanlamasına yönelik bir dizi protokollerle uygulanır [96].

Gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu, siklusun 2 - 3. günü hasta bazal olarak değerlendirildikten sonra, infertilite nedeni ve hastanın over rezerv parametre değerlerine göre doz belirlenerek yapılır. Ovulasyon indüksiyonu kronik düşük doz step up veya düşük doz step down ve ardışık (sequential) protokollerinden biri seçilerek uygulanır [7, 80].

Ovulasyon indüksiyonunda gonadotropin kullanımının direk olarak yan etkisi yoktur. Ancak overler, tedavi sırasında abdominal rahatsızlıklara neden olacak şekilde büyüebilir, Bu büyüme de ciddi derecelere ulaştığında mide bulantısına, kusmaya, OHSS gelişimine ve çoklu gebelik gibi yan etkilere neden olabilir. Gonadotropin tedavisi gören kadınlarda OHSS riski %2' nin altındadır [96].

2.8.6. GnSH agonistleri

Östrojen, androjen ve gonadotropinleri yüksek seviyede olan kadınların ovulasyon indüksiyonuna iyi cevap vermedikleri fark edildiği zaman, endojen hormon üretimleri GnSH- a kullanımıyla kontrol altına alınabilmektedir [65].

GnSH medial basal hipotalamustan salınır ve portal sistem ile hipofize etki eder. Agonistler, hipofizer GnSH reseptörüne bağlandıktan kısa bir süre FSH ve LH salınımının artışına sebep olurlar. Daha sonra ise hipofizi inibe ederek, gonadotropinler ve buna bağlı olarak overlerden steroid hormon sekresyonunun azalmasına neden olurlar. GnSH agonistlerinin birkaç dakikalık yarıömrü vardır. Bu agonistler 6. ve 10. aminoasit yapısında değişiklik yaparlar. Bunun sonucunda enzimatik degradasyon önlenir ve reseptör afinitesi artar [7].

Bu aminoasit yapılarındaki değişiklik 1970' li yıllarda analogların gelişimine neden olmuştur. Aminoasit yapısındaki değişiklik sonucu leuprolide, busereline, nafareline, gosereline, triptorelin gibi GnSHa çeşitleri üretilir. GnSH agonistlerinin oral kullanımıyla sağladığı biyolojik etki düşük seviyededir [7].

GnSH agonistlerinin IVF sikluslarında kullanılması, folliküler gelişimin uyumlu bir şekilde ilerlemesini sağlar ve prematür LH artışlarının % 25' lerden % 1' e kadar düşmesine sebep olur. GnSH agonistleri günlük şekilde subkütan, intranasal, depo formunda intramusküler şekilde de kullanılabilirler. IVF için yapılan ovülasyon indüksiyonlarında uzun, kısa ve ultrakısa protokolleri kullanılır. Gonadotropinlerle ovülasyon indüksiyonunda folikül gelişimlerinin senkronize olmaması ve erken LH artışı gibi sorunlar vardır. GnSH agonistleri bu sorunların üstesinden, hipofizde desensitizasyon yaparak ve hipogonadotropik hipogonadizm oluşturarak gelir [7, 75].

Gonadotropin ve GnSH agonist analogu ile tedavide spontan abortus hızı %18'dir [83].

GnSH agonistlerinin luteal fazda kullanımı, hypoöstrojenizme neden olarak sıcak basmaları, uykusuzluk, baş ağrısı gibi yan etkiler gösterebilir [80].

2.8.7. GnSH antagonistleri

GnSH antagonistleri iyi ve kötü over yanıtı olan hastalar için alternatif bir ajandır ve saatler içerisinde gonadotropinleri baskılayabilirler [6].

GnSH antagonistleri (Cetrotide ve Ganirelix) genellikle FSH uygulaması sonrası öncü folikül 13 - 14 mm' ye ulaştığı zaman tek doz (3mg) veya multiple doz (0, 25mg / gün) şeklinde uygulanmaya başlanır ve iKG gününe kadar devam edilir. Böylece prematür luteinizasyon engellenir ve oositin yüksek LH' nin zararlı etkilerinden korunması sağlanırken foliküler gelişim engellenmez [75].

Antagonistler etkilerini saatler içinde gösterir, “flare-up” etkileri yoktur ve ilaç kesildiği sırada gonadal fonksiyonlar geri döner. 3. generasyon antagonist (cetrotide ve ganirelix) kullanımı sonrası sistemik veya lokal ciddi yan etkiler gözlenmez. Antagonistlerin, oosit ve embriyo üzerine direk olumsuz etkileri olmazken yüksek doz antagonist sikluslarında endometrium üzerine etkisi düşük implantasyon oranları şeklinde görülebilir [7].

Antagonistlerin kullanımı analoglardan avantajlıdır çünkü antagonistlerin analoglara göre kısa tedavi süreleri, daha az gonadotropin ihtiyaçları, düşük OHSS riskleri ve daha az folikül oluşturma özellikleri vardır [80].

2.9. Kullanılan Antikorlar

2.9.1. İntegrin $\beta 1$

İntegrin proteinleri Ekstrasellüler Matriks (ESM) reseptörlerinin büyük sınıfı olarak adlandırılan, plasma membranında yer alan transmembran glikoproteinlerdir [12].

İntegrinler sinyallerini iki yönlü olarak dıştan içe ve içten dışa gerçekleştiren sinyal reseptörleridir ve integrin ailesinin keşfi yaklaşık 30 yıl öncedir, ancak hücrelerin ESM' e bağlanması için gerekli bir molekül olduğu 1980' lerin sonlarında kanıtlanmıştır [98, 99].

İntegrinlerin, katyon bağımlı heterodimerik transmembran adheziv reseptörleri içeren geniş N-terminal hücre dışı (alfa altbirimi için 1000 kalıntı, beta altbirimi içeren 700 kalıntı),

transmembran bölge ve kısa C-terminal sitoplazmik bölgeleri vardır. Bunlar ESM proteinleri ve hücre yüzey molekülleri içeren geniş ligantlarla iletişim içindedir [100, 101].

Bugüne kadar integrinlerin 18 alfa ve 8 beta altbirimleri tanımlanmıştır ve bu altbirimler bilinen 24 heterodimer üretirler. Her heterodimer için ligant özgüllüğü, alfa ve beta alt ünitelerin özel kombinasyonu ile belirlenmektedir. Birçok beta altbirim, birden fazla alt birimle ilişki kurabilmektedir [102].

Bütün integrin reseptörlerinin çoğu tripeptidi, arginin- glisin- aspartik asit (RGD) sekansı ESM bileşenleri arasında yaygın olarak görülür [103].

İntegrinler hücre- hücre adezyon molekülleridir ve bu moleküller hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerinde, hücre göçü ve farklılaşmasında, sinyal, epitel polaritenin sağlanması ve gelişimi, plasental sitotrofoblastların invaziv fenotipe dönüşmesinde görev alırlar [12, 104].

İntegrinlerin farklı dokulardaki dağılımı epitel ve stromal hücrelerde ESM ligantlarının lokalizasyonlarına göre değişmektedir [8].

İntegrinler; endometriyal, desidual ve ekstrasvillöz sitotrophoblast hücrelerinde bulunabilmektedir. İntegrinlerin bir kısmı, endometrial bez epitelinin lümeninde ifade edilirken, uterusun miyometriyumundaki düz kaslarda da ifadelenen integrinler mevcuttur [9 - 11].

Endometriyumun epitel hücrelerindeki integrin ifadesinde siklik bir değişim vardır ve maksimum ifadeleri implantasyon döneminde görülür. İnsanlarda implantasyon penceresi sırasında ifade edilen ve uterus reseptivitesinin belirteci olduğu düşünülen integrinler $\alpha 1\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha v\beta 3$ ’dür [8, 105].

Deney hayvanlarından farelerde $\alpha 4\beta 1$ ve $\alpha v\beta 3$ integrinlerin, ratlarda ise integrin $\beta 3$ ve $\alpha v\beta 3$ integrinlerin implantasyonda önemli rol oynadığı gösterilmiştir [106 - 109].

İntegrin $\beta 1$, menstrual döngü sırasında sentezlenen ve fare blastokistlerde bu proteinin eksikliği implantasyon başarısızlığına neden olmaktadır. Bunun nedeninin ise alt

epitelyal stroma yapışmasına veya invazyon yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir [110].

2.9.2. E-kadherin

Kalsiyum bağımlı aile üyesi olan kaderinler, alt sınıfları olan E-kaderin (Epitelyal kaderin veya uvomorulin), P- kaderin (Plasental kaderin) ,N - kaderin (nerual kaderin) ,T - kaderin ve V- kaderini içerir ve kalsiyum varlığında bu moleküller hücre - hücre adezyonunda görevlidirler [10].

Kaderinler, 5 ekstrasellüler kaderin tekrarı, bir transmembran bölge, armadillo proteinleri, p120 katenin ve beta katenin için son derece korunmuş bir sitoplazmik bölge içerirler [111].

E-kadherin uvomorulin olarak da bilinen, 5 saatlik yarı ömrü olan, tip-1 klasik kaderinlerin prototip üyesidir ve ilk olarak Ca^{+2} bağımlı hücre yüzey proteinlerinde, hücre hücre adezyon aracılığıyla olma durumlarına göre, erken fare embriyo blastomerlerinde keşfedilmiştir [15-18].

E-kaderinler fonksiyonlarını göstermek için, Kalsiyum (Ca^{+2}) iyonlarına homofilik olarak bağımlıdır. E- kaderinler homofilik bağlanma yoluyla α ve beta katenin ile işbirliği içinde hücre- hücre adezyonuna aracılık ederler [112- 114].

E-kaderin insan endometriyumunda ifade edilen bir moleküldür. E- kaderin molekülünün menstrüel döngü sırasında dağılımının değişmediği, ancak E-kaderin için haberci ribonükleik asit (mRNA) seviyelerinin luteal faz sırasında önemli derecede yüksek olduğu gösterilmiştir [115- 116].

Kaderinlerin kalsiyum bağımlı hücre- hücre adezyon, hücre göçü sırasında hücre morfogenezinde, hücre polaritesini, doku morfolojisinin, hücre- hücre etkileşimleri, bağlantı komplekslerinin oluşumu, büyüme ve proliferasyon baskılayıcı olarak tümör invazyonunda ve üreme dokularında yapının korunması, farklılaşmasında önemli rolleri vardır [18- 21].

Bir çalışmada insan endometriyumunda E-kadherin ve β -katenin mRNA seviyelerinin ovölasyon sonrası arttığı gösterilmiştir. Bu artışla birlikte kaderin bağlantıların işlevinin endometrial epitel hücrelerinin adezyon kapasitesini implantasyon penceresiyle birlikte düzenleyebileceği düşünölmüştür [117].

E-kadherin' in aşağı regölasyonu, uterusda epitel bariyerin bozulmasını ve hücre dışı mezenkimal matriks içerisindeki progresyonu içeren invaziv süreçlerle ilişkilendirilmiştir, aynı zamanda adherens junctions kompleksinin bozulmasında da E-kaderin' in invazyon ve bir dizi kanserin metastazı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [118, 119].





3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından *G.Ü. ET-17.027* kod numarası ile onaylı olan çalışmamızda, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'nden sağlanan Wistar albino cinsi, 18 adet, 150 - 200g ağırlığında, 8 haftalık dişi sıçanlar kullanıldı.

Deney öncesinde, vajinal smear örnekleri alınarak 3 - 5 döngü süresince izlenen ve ovaryan siklusları düzenli olan sıçanlar çalışmaya dahil edildi. Denekler deney süresince 12 saat gündüz ve 12 saat gece döngüsü uygulanan, $23 \pm 2^{\circ} \text{C}$ 'lik sıcaklıkta tasarlanmış laboratuvar da tutuldular. Özel kafeslere yerleştirilen tüm deneklerin su ve besine serbest erişimi sağlandı.

Çalışmada her grupta 6 denek olacak şekilde rastgele seçilen sıçanlar 3 gruba ayrıldı:

Grup 1: Kontrol Grubu (n = 6)

Grup 2: Deney 1 Grubu (3 Tekrar KOH uygulanan) (n= 6)

Grup 3: Deney 2 Grubu (5 Tekrar KOH uygulanan) (n= 6)

3.2. Deneyin Yapılışı

3.2.1. Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon (KOH) protokolü

Bu çalışmada dişi sıçanlarda folikülogenezi stimüle etmek amacıyla, FSH analogu olan Hamile Kısırak Serum Gonadotropini (PMSG) (PMSG, HOR-272, Peptides International) ve ovulasyonu indüklemek için, LH analogu olan İnsan Koryonik Gonadotropin (hCG, Lot: C1063-1VL, Sigma) kullanıldı.

Gonadotropinlerin hazırlanışı ve uygulanması

PMSG ve hCG her uygulama öncesinde steril enjeksiyonluk su içerisinde 100 I.U./ml olacak şekilde çözöldü ve enjeksiyonun yapılacağı gün hazırlanan bu stok solüsyonlar deney gruplarına aşağıda belirtilen şekilde uygulandı.

Kontrol grubu olarak belirlenen 1. gruptaki deneklere gelişimlerinin 2. ayında protokolün ilk günü, 0, 1 ml 0.9 % NaCl enjeksiyonu intraperitoneal olarak yapıldı. Bu işlemden 48 saat sonra yine 0, 1 ml 0.9 % NaCl solüsyonu verildi. Bu işlem toplamda 5 kez tekrarlandı ve uygulamanın ardından denekler sakrifiye edilerek uterus dokuları alındı.

3 tekrarlı KOH grubu olarak belirlenen Deney 1 grubuna gelişiminin 2. ayında protokolün ilk günü 10 IU / 0,1 ml Hamile Kısırak Serum Gonadotropin (PMSG) (HOR - 272, Peptides International) ve 48 saat sonra 10 IU İnsan Koryonik Gonadotropin (iKG) (Lot: C1063-1VL, Sigma) intraperitoneal uygulandı ve bu hiperstimülasyon, toplamda 3 kez tekrarlandı. Her uygulama arasında 1 hafta süre verildi. Denekler, son uygulamanın ardından sakrifiye edildi ve uterus dokuları alındı.

3 grup olarak belirlenen 5 tekrarlı KOH, deney 2 grubuna ise gelişimin 2. ayında protokolün ilk günü deneklere 10 IU Hamile Kısırak Serum Gonadotropin (PMSG) ve 48 saat sonra 10 IU İnsan Koryonik Gonadotropin (hCG) intraperitoneal uygulandı ve bu hiperstimülasyon, toplamda 5 kez tekrarlandı. Her uygulama arasında 1 hafta süre verildi. Çalışmada, menstrual siklusun belirlenmesinde vajinal smear örnekleri kullanıldı, Ovülasyon indüksiyonu metöstrus ve diöstrus döneminde uygulandı. Tüm uygulamalar her hafta aynı gün ve aynı saatte insülin iğnesi kullanılarak arka bacağa kas içi enjeksiyon ile uygulandı. Deneklerde kas dokusu harabiyetini engellemek amacıyla enjeksiyonlar her hafta farklı taraftan yapıldı. Tüm gruplarda denekler, son uygulamayı takip eden 7. günde sakrifiye edildi.

Deney bitiminde, denekler intramüsküler ketamin (45 mg/ kg) ve ksilazin (5mg/ kg) enjeksiyonu ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası deneklerin karın bölgeleri açılarak kan örnekleri ve uterus dokuları alındı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra, vücut ağırlıkları ve uterus ağırlıklıkları ölçüldü.

Deneklerin kan örneklerinde FSH, LH ve E2 tayini ELISA ile bakıldı. Dokuların kuru ağırlıklarının tartılmasının ardından bir kısmı ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak % 10' luk nötral formaldehit solüsyonunda en az 72 saat tespit edilerek rutin takip işlemlerinin ardından parafin bloklar elde edildi ve hazırlanan parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Dokulardan alınan kesitlere Hematoksilen- Eozin ve

İntegrin- β 1 ve E-kadherin primer antikorları ile immunohistokimya boyaması uygulanarak resimlendirildi.

3.3. Işık Mikroskopik Yöntem

Uterus doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için % 10' luk nötral formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku örnekleri kasetlere konularak akar su altında 24 saat süresince yıkandı. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan derecelerde alkol serilerinden (%70, %80, %90, %100) geçirildiler. Sonrasında dokular parlatılmaları amacıyla ksilolden geçirilip parafine gömüldüler. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4 mikron kalınlığındaki kesitler

Hematoksilen- eozin ve İntegrin - β 1 ve E - kadherin primer antikorları ile immunohistokimya ile boyandı. Kesitler Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğrafları çekildi.

3.3.1. Hematoksilen – eozin boyama yöntemi

Boya solüsyonlarının hazırlanması

1- Harris'in Hematoksilen Solüsyonu

- Hematoksilen 1gr
- 90 °C Alkol 10ml
- Potasyum alum (alüminyum potasyum sülfat) 20gr
- Distile su 200ml
- Merkür oksit 0,5gr
- Glasiyal asetik asit 8ml

2- Eozin Solüsyonu

- Eozin 1gr
- Distile su 100ml
- 1küçük kristal timol

Boyama yöntemi

Deney gruplarından alınan 4 mikron kalınlığındaki kesitler 70°C etüvde 30 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlandı. Daha sonra lamalar sırasıyla azalan etil alkol serilerinden geçirilerek (%100, %96, %80, %70, %50) havada kurutuldu. 10 dakika akar suda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen’de 10-15 dakika boyandı ve lamalar 10 dakika akar suda yıkandı. % 70 alkol + 2 – 3 damla glasiyel asedik asit karışımına batırılıp yeniden 10 dakika akar suda yıkandı. Sonrasında 5-10 dakika Eozin’ de boyanan lamalar 10 dakika süreyle akar suda yıkandılar ve artan dereceli etil alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x15 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldılar.

3.3.2. İmmünohistokimyasal boyama yöntemi

Kontrol ve deney gruplarına ait uterus dokusu bloklarından polilizinli camlara 4 mikron kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı.

Çalışmada immünohistokimyasal yöntemler ile E-kaderin (tavşan poliklonal antikoru (bs-100098, Lot:9102VS, Bioss Antibodies), İntegrin-β1 (ITGB1) poliklonal antikoru (bs-0486R, Lot: AF09128545 Bioss Antibodies) kullanılarak boyamalar yapıldı.

Kesitler 37 ° C’ deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57 ° C’ ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15’er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100 , %96, %80’lik etil alkol serilerinden 10’ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5’er dakika distile sudan geçirilerek alkolden arındırıldı.

Doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla, kesitlere sitrat tamponu (pH 6,0) (Cat: AP-9003-500, Lot: MK170506,Thermo Scientific) ile mikrodalga fırında retrieval işlemi uygulandı. Kesitler, retrieval işleminden sonra, sitrat tamponu içerisinde oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra, soğuyan kesitler sitrattan arındırılmak için 2 kez 5’er dakika distile suda bekletildi. Dokuların çevresi PAP-pen(Cat: PEN01, Patolab) ile çevrilerek nemli ortam olmasına dikkat edilen immünohistokimya barına dizildi. Dokular 3 kez 3’er dakika PBS (Phosphate Buffer

Saline) (Ph:7,4) (Cat: AP-9009-10, Lot: BBI120127, Thermo Scientific Fremont, USA) ile yıkandı. 15 dakika süreyle %3'lük hidrojen peroksit (Cat: TA-125-HP, Lot: HP41515, Thermo Scientific) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem sonrasında PBS ile lamalar yıkandı. Yıkanan lamlara 5 dakika UltraV block (Cat: TA-125-UB, Lot: AUB161208AI, Thermo Fisher Scientific) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemten sonra dokular yıkanmadan primer antikör aşamasına geçildi. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan, E - kaderin (bs-100098, Lot:9102VS, Bioss Antibodies) ve İntegrin - $\beta 1$ (ITGB1) (bs-0486R, Lot: AF09128545 Bioss Antibodies) primer antikörlerine etkin bırakıldı ve primer antikör uygulanan kesitler +4 derecede 1 gece inkübe edildi. Primer antikörden sonra lamalar 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı. Yıkamanın ardından 10 dakika biotinli sekonder antikör (Cat:TP-125-BN Lot: PBN170512AB, Thermo Fisher Scientific) uygulandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular 10 dakika streptavidin peroksidaz (Cat: TS- 125- HR, Lot: SHR170413AC, Thermo Fisher Scientific) kompleksine etkin bırakıldı. İşlem sonrasında dokular yine 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı. Diaminobenzedin içeren (DAB) substratı (Cat: TA-125- HD, Lot: HD39609, Thermo Fisher Scientific) içeren kromojen DAB eklenerek yaklaşık 5-10 dakika bekletildi ve gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. DAB'ın kromojen olarak kullanılması sonrasında zemin boyamasında Mayer'in hematoksileni kullanıldı. DAB ile boyanan camlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında fotoğraflandırılarak değerlendirildi.

3.4. ELISA Yöntemi

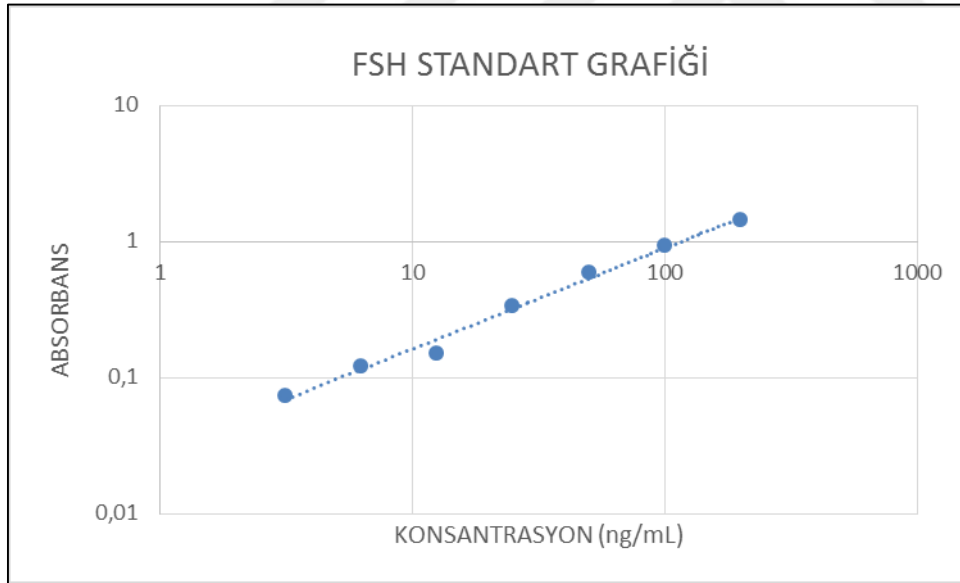
FSH, LH Serumların Hazırlanması: Deneklerden alınan kan örnekleri 3000 rpm'de +4°C'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı, elde edilen serum örnekleri küçük porsiyonlar halinde polipropilen tüplere konularak analizler yapılana kadar -20°C'de saklandı.

Serum FSH, LH düzeylerinin belirlenmesi: Serum FSH (Lot: E-EL-R0391, Elabscience Biotechnology Inc/United States), LH (Lot: E-EL-R0026, Elabscience Biotechnology Inc/United States) düzeylerini belirlemek için rat ELISA kitleri kullanıldı. 96 kuyucuklu mikropakanın bir kuyucuğu kör olarak kullanılmak üzere boş bırakıldı, 6 kuyucuğa 100 μ l farklı konsantrasyonlardaki standart solüsyonlar eklendi. FSH için standartlar 200, 100, 50,

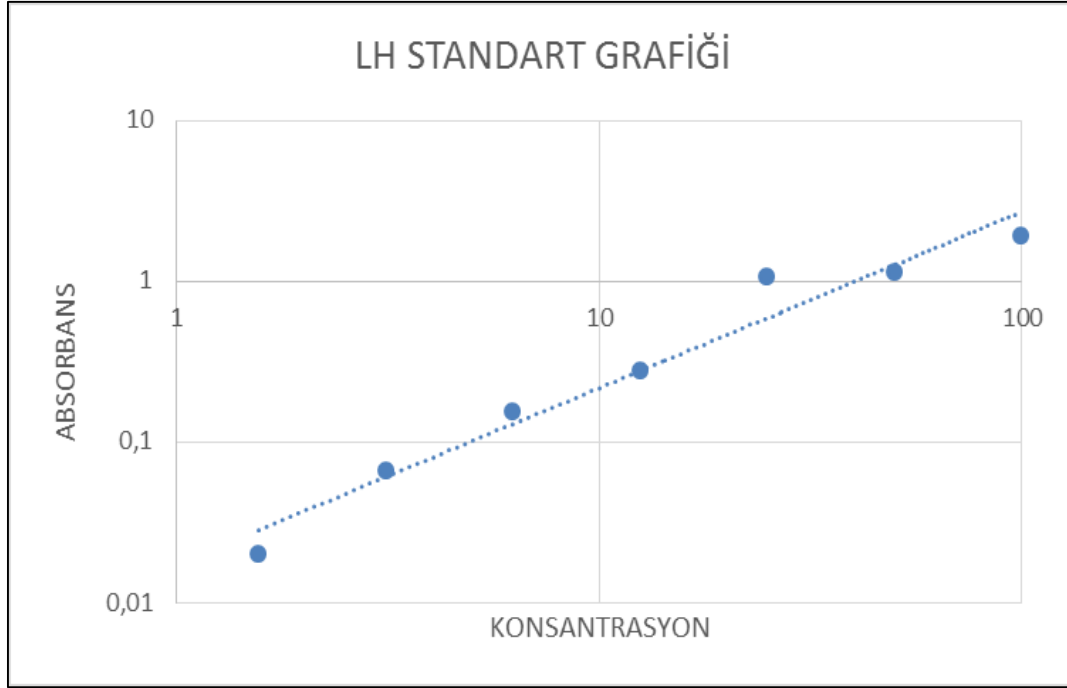
25, 12,5; 6,25; 3,13; 0 ng/mL, LH için de 100, 50, 25, 12, 5; 6, 25; 3, 13; 1,56; 0 mIU/mL konsantrasyonlarda hazırlandı. Diğer kuyucuklar serum örnekleri için kullanıldı. Her bir kuyucuğa (kör hariç) 100 µl serum örneği koyuldu ve 90 dakika 37°C’de inkübe edildi . Kuyucuklardaki solüsyon tamamen aspire edildikten sonra 100 µl biyotin işaretli antikor tüm kuyucuklara eklendi. 37°C’de 1 saat inkübe edildi. Kuyucuklara 350 µl yıkama solüsyonu eklenerek 3 kez yıkandı. 100 µl Avidin - HRP konjugatı konuldu. 30 dakika 37°C’de inkübe edildi. Kuyucuklardaki solüsyonlar aspire edildikten sonra 350 µl yıkama solüsyonu eklenerek 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 90 µl substrat eklendi, 37°C’de 15 dk karanlıkta inkübe edildi. 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mikropilaya okuyucuda 450 nm’ de absorbans değerleri okundu ve veriler analiz edildi.

FSH için analiz aralığı: 3,13 -200 ng/mL, sensitivite: 1,88 ng/mL, CV <%10

LH için analiz aralığı: 1,56 -100 mIU/mL, sensitivite: 0,94 mIU/mL, CV <%10



Şekil 3.1. Serum FSH standart grafiği



Şekil 3.2. Serum LH standart grafiği

E2 serumların hazırlanması

Alınan kan örnekleri 3000 devirde 20 dakika süreyle santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiş; ayrıştırılan serum örnekleri çalışılacağı güne kadar -80 °C’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Rat Serum E2 düzeylerinin belirlenmesi

Serum E2 düzeyi ölçümünde ELISA (enzyme-linked immune sorbent assay) kiti (Lot No: E-EL-R0065, Elabscience Biotechnology Inc/United States) kullanılmıştır. Bu kit ile E2 analizinde biotin ile işaretli antikor kullanılmaktadır, ölçüm prensibi sandviç elisa metodudur. Önceden E2 monoklonal antikor ile kaplanmış kuyucuklara hasta serumu (E2) eklenip, inkübe edilir. İnkübasyon sonrasında biotin işaretli anti E2 antikorları eklenir; streptavidin-HRP ile birleşerek immün kompleks oluşumu sağlanır. İnkübasyon ve yıkama sonrasında bağlanmamış enzimler uzaklaştırılır. Sonrasında substrat A ve B eklenir. Solüsyon mavi renk alır ve asidin etkisiyle sarıya döner. Solüsyonun renk tonu ve serum E2 konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon vardır. E2 seviyeleri pg/mL olarak verilmiştir.

E2 düzeylerinin ELISA ile ölçümünde temel çalışma prosedürü şu şekildedir:

Standart solüsyonların dilüsyonu: Kitten çıkan orijinal konsantrasyondaki standart solüsyon dilüe edilerek; 0 pg/mL, 40 pg/mL, 150 pg/mL, 300 pg/mL 700 pg/mL ve 1500 pg/mL konsantrasyonlarında standart solüsyonlar elde edilir.

Örneklerin enjeksiyonu: Kör kuyucuk: Örnek koyulmaz. Biotin ve streptavidin-HRP işaretli anti E2 antikor; kromojen reaktif A ve B eklenir.

Standart solüsyon kuyucuğu: 50µl standart ve 50µl streptomisin-HRP eklenir (biotin antikorları standart ile birleşik halde olduğu için biotin antikoru konulmaz).

Örnek kuyucuğu: 40µl örnek, ardından 10µl E2 antikoru, 50µl streptavidin - HRP eklenir. Sonrasında sızdırmaz bir film ile kaplanarak karışması için iyice çalkalanır ve 37 °C’de 1 saat süreyle inkübe edilir.

Yıkama: her kuyucuk yıkama solüsyonu ile doldurulur ve 30 saniye sonra boşaltılır. Bu işlem 5 kez tekrarlanır.

Renk oluşumu: Önce her kuyucuğa 50µl reaktif A, ardından 50µl reaktif B eklenir. İyice çalkalanır. 10 dakika süreyle 37 °C’de karanlıkta inkübe edilir.

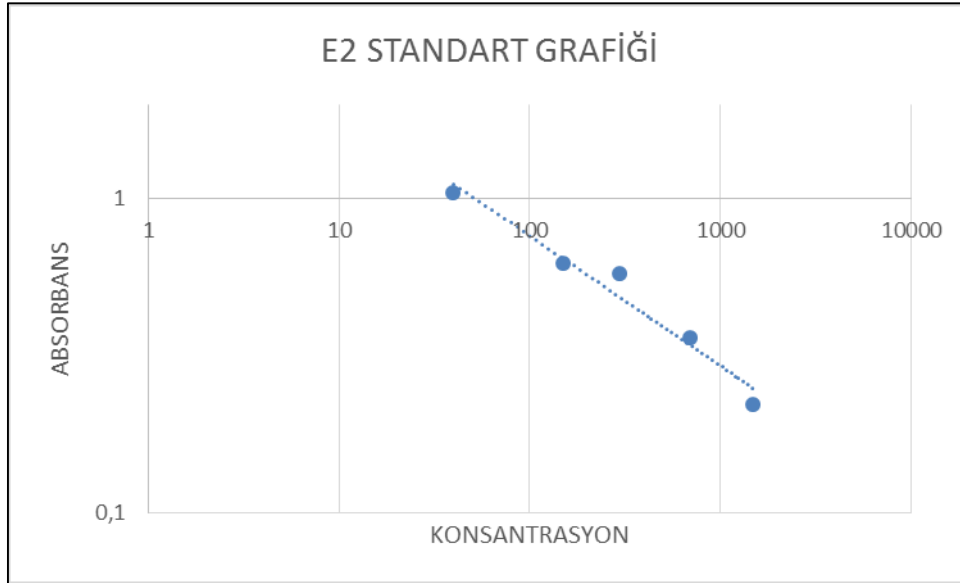
Durdurma: Her kuyucuğa 50µl durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon sona erdirilir (mavi ve sarı arasında renk değişimi gözlenir).

Analiz: Kör kuyucuk 0 olarak alınır. 450 nm dalgaboyu altında her kuyucuğun absorbansı ölçülür. Bu aşama durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde tamamlanmalıdır.

Standart konsantrasyonlar ve onlara denk gelen absorbans değerleri göz önüne alınarak standart eğri elde edilir ve lineer regresyon denklemi hesaplanır. Sonrasında örneklerin absorbansına göre konsantrasyonları hesaplanır.

Analiz aralığı: 40 - 1500 pg/mL, sensitivite: 25 pg/mL, CV <%15.

Standartlardan Microsoft Office 2010 Excel programı kullanılarak standart grafiği elde edilmiş ve rat sonuçları bu grafik ile hesaplanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Serum E2 standart grafiği

3.5. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel değerlendirme yapabilmek için, her denekten hematoksilen – eozin ile boyanan kesitlerden, uterus dokusunun geliştiği güzel altı farklı bölgesinde endometriyum, miyometriyum ve tüm uterus duvar kalınlığı ölçüldü ve her bir deneğin bez sayıları sayıldı. Ölçümler Leica QWin V3 programı kullanılarak dijital ortamda yapıldı. Verilerin analizleri SPSS 16. 0 paket programını kullanılarak değerlendirildi.

Gruplar arası farklar verilerin dağılımına göre ANOVA ve Kruskal- Wallis testleriyle değerlendirildi. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Endometriyum, miyometriyum kalınlıkları, bez sayısı, dejenerasyon kriterleri parametreleri one- way ANOVA, tüm uterus duvar kalınlığı Kruskal- Wallis testi ile değerlendirildi. İmmünohistokimya için veriler anova ve Kruskal- Wallis testleri ile analiz edildi. E2,LH, FSH hormonları one-way ANOVA testi ile değerlendirildi. Gruplar arası anlamlı fark posthoc Tamhane ve Tukey testleri ile değerlendirildi. Boxplot grafikleri SPSS 16. 0 paket programıyla gerçekleştirildi.



4. BULGULAR

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra, vücut ağırlıkları ve uterus ağırlıklıkları ölçüldü. Hayvan ağırlığının KOH tekrarıyla arttığı, farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. 5 tekrar KOH grubunda uterus ağırlığı diğer gruplardan fazla olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

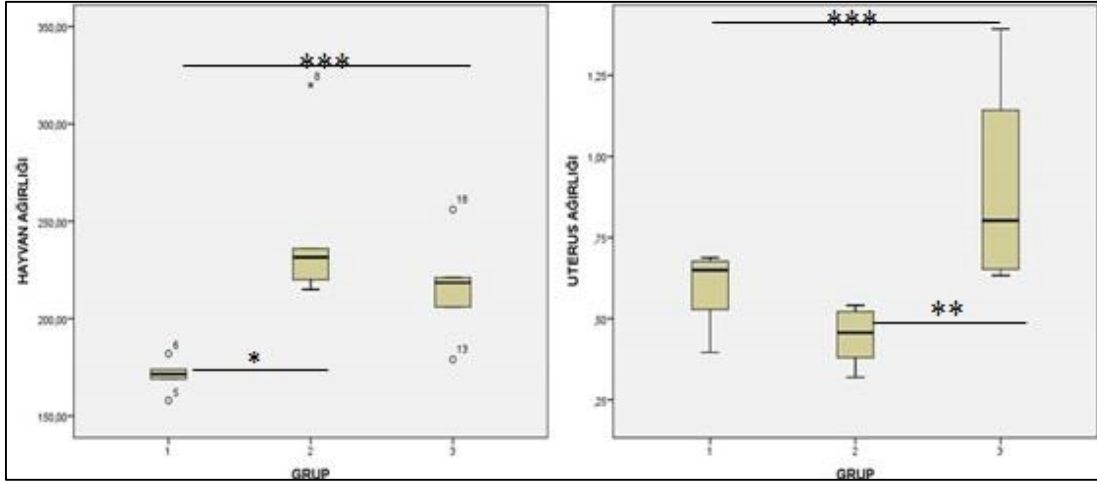
3 tekrar KOH grubunda uterus ağırlığının diğer gruplardan az olmasına karşın kontrol grubuyla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı görülmedi. Tanımlayıcı veriler ve p değerleri “Çizelge 4. 1” ve “Çizelge 4. 2” de ve ağırlıklara ilişkin gruplar arası anlamlı farklılıklar “Şekil 4. 1” de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Ağırlıklara ilişkin tanımlayıcı veriler

Parametreler	Grup no	Ortalama değer	Standart hata	Ortanca değer	Standart sapma	En düşük değer	En yüksek değer
Hayvan ağırlığı	1	1,71	3,204	1,71	7,848	158,00	182,00
	2	2,42	15,871	2,31	3,887	215,00	320,00
	3	2,16	10,174	2,18	2,492	179,00	256,00
Uterus ağırlığı	1	0,59	0,046	0,64	0,114	0,40	0,69
	2	0,44	0,034	0,45	0,085	0,32	0,54
	3	0,90	0,127	0,80	0,312	0,63	1,39

Çizelge 4.2. Ağırlıklara ilişkin istatistiksel sonuçlar

Parametreler	P değerleri	Grup (1)	Grup (2)	P değeri
Hayvan ağırlığı	0,001	1	2	0,001
			3	0,027
		2	1	0,001
			3	0,255
Uterus ağırlığı	0,004	1	2	0,401
			3	0,043
		2	1	0,401
			3	0,003



Şekil 4. 1. Ağırlıklara ilişkin gruplar arası anlamlı farklılıklar (1-2 arası *, 2,3 arası **, 1-3 arası anlamlı farklılıklar ***)

4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

4.1.1. Hematoksilen – eozin boyama bulguları

Kontrol grubu

Kontrol grubuna ait kesitlerde proöstrüsün sonu östrüs evresinin başında sakrifiye edilen ratların uterus dokularına ait lümenlerin genişlemiş olduğu izlendi (Resim 4. 1).

Endometriyumun yüzey epitel hücreleri tek katlı kübik yer yer prizmatik görünümdeydi. Epitel hücrelerinin bir kısmının vakuoler yapılar içerdiği ve sakrifiye edildikleri dönemle uyumlu olarak nekrotik olduğu izlendi. Endometriyuma ait bezlerin epitelleri de yüzey epiteli ile uyumlu histolojik bulgular sergiledi. Bezlerde ödem izlenmedi (Resim 4. 2).

Endometriyumun bazal tabakasında kıvrıntılı ve düz arterioller normal yapılarında izlendi. Bununla birlikte miyometriyum tabakasını meydana getiren iç sirküler ve dış longitudinal düz kas katmanları arasında yerleşik arkuat arterlerin normal yapıları izlendi. Damar duvarlarında ödem izlenmedi. Kas katmanları arasında yerleşik sinir sonlanmaları normal histolojik yapılarında izlendi (Resim 4. 2).

Kontrol grubuna ait tüm denekler incelendiğinde bazı epitel hücrelerinin de piknotik çekirdekli apoptotik hücreler olduğu gözlemlendi ve stromal ödeme pek fazla rastlanmadı.

Endometriyumun fonksiyonel tabakasında, özellikle epitel altı bölgede, bazal membran komşuluğunda inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 4. 3).

Deney 1 (3 Tekrarlı KOH) grubu

Epitel boyunun daha alçak olduğu, kübik hücreler daha çoğunlukta izlendi ancak prizmatik hücrelerin de bulunduğu kesitte, prizmatik hücrelerin apikalinde pinopod benzeri yüzey farklanmaları izlendi (Resim 4. 4).

Prizmatik hücrelerin çekirdek ve çekirdekçiklerinin korunduğu gözlemlendi. Kontrol grubundaki yüzey epitel hücrelerinde izlenen dev vakuoller yapıların bu grupta daha da arttıkları saptandı (Resim 4. 4).

Yüzey epitel hücrelerinde yer yer hiperplazi izlendi ve mitotik figürlere çok sık rastlanmadı (Resim 4. 4).

Yüzey epitelinde vaküolizasyon, hiperplazi ve hipertrofi, bazal membrandan ayrılma, bez sayısı, bez lümeninde dilatasyon, miyometriyumda bağ doku artışı, arter ve arteriollerde dilatasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, stromal ödem parametrelerinde Deney 1 grubunun kontrol grubuyla farklılığı istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi (Çizelge 4.4).

Ayrıca endometriyumun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kalınlaştığı gözlemlendi ve istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu (Şekil 3. 2).

Miyometriyumu oluşturan iç sirküler ve dış longitudinal düz kas katmanları arasında bağ doku miktarının arttığı ve arkuat arterlerin kesit yüzeyine bağlı olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha fazla sayıda ve dilate oldukları izlendi (Resim 4. 5).

Miyometriyum kalınlığı ve bez epitelinde vaküolizasyon parametrelerinde ise deney 1 grubunun diğer gruplarla farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4. 4).

Proöstrus sonu östrus evresinin başında görülen normal bez yapısının, daha az kıvrıntılı olduğu ve lümenlerinin dilate olduğu izlendi. Bezlerin deney 1 grubunda sayıca arttığı görüldü ve istatistik açıdan bu artış anlamlı bulundu (Şekil 3. 3). Bezlerde mitotik figürlere çok sık rastlanmadı (Resim 4. 6).

Deney 2 (5 Tekrarlı KOH) grubu

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Deney 2 grubunda görülen değişimler tüm duvar kalınlığı haricinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 3. 2). Endometriyum tabakasının kontrol grubu ile kıyaslandığında belirgin kalınlaşma gösterdiği izlendi (Resim 4. 7).

Yüzey epitelinin yer yer bazal membrandan ayrılmalar gösterdiği ve dökülme eğiliminde olduğu gözlemlendi (Resim 4. 7).

Yüzey epitelini oluşturan hücreler alçak boylu kübik veya yer yer yassı olarak izlendi. Epitel hücrelerinin ökromatik çekirdek yapısında bozulmalar izlendi ve piknotik çekirdekli hücrelerde artış izlendi. Çekirdekçik yapısının ayırt edilemediği belirlendi (Resim 4. 7).

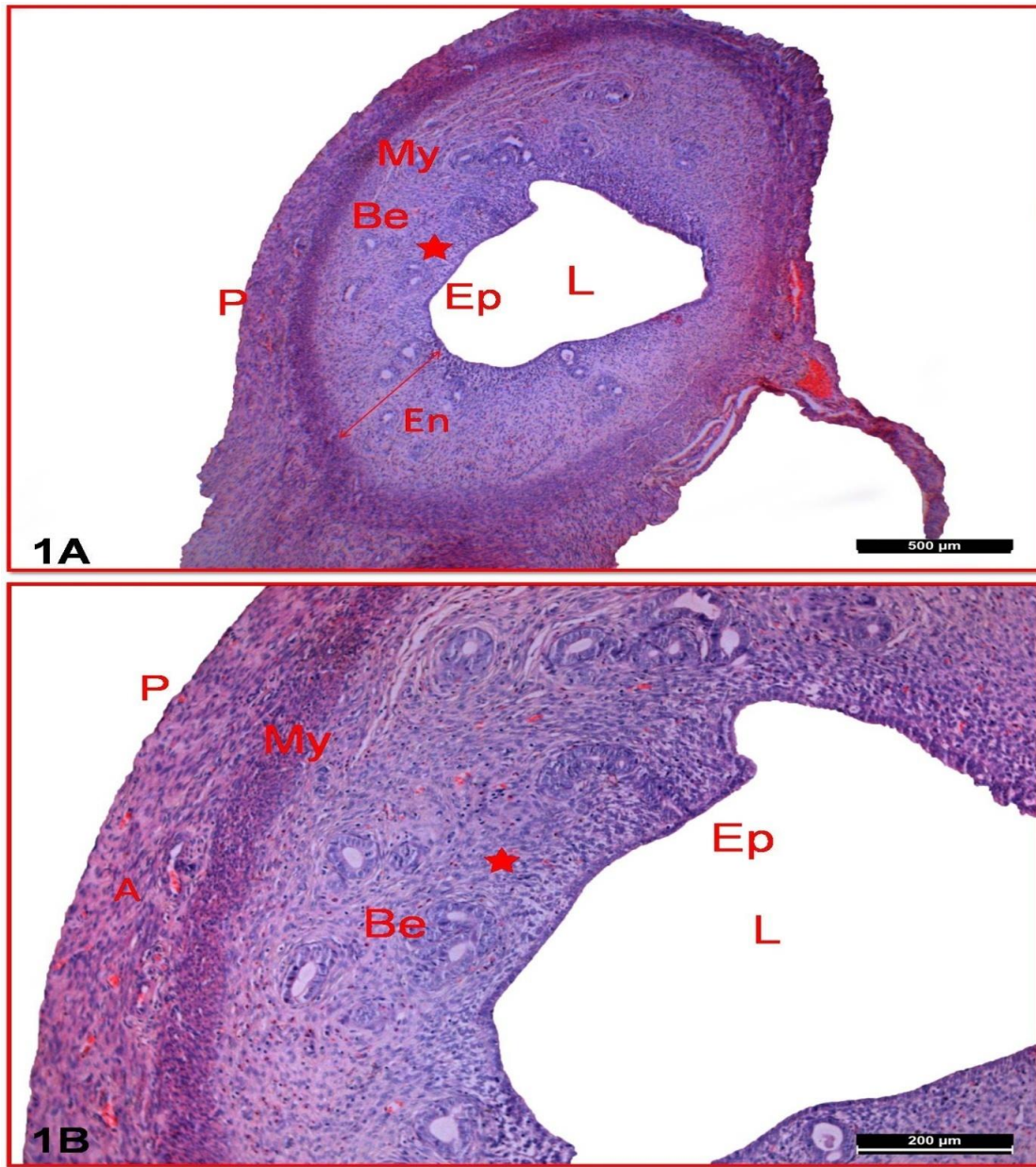
Epitelde hiperplazi ve hipertrofinin arttığı izlendi. Endometriyumun bazal tabakasında sık olmakla birlikte dilate görünümlü, düzensiz lümenli bezler gözlemlendi. Bez epitelinde hiperplazi, şiddetli vakuolizasyon, nekroz ve piknotik çekirdekli apoptotik hücreler izlendi. Bez epitel hücrelerinin çoğu yassı olmakla beraber kübik yapılı bez epitel hücrelerinde çekirdek kromatininde bozulmalar, mitotik figürlerin izlendiği bez epitel hücrelerinde hipertrofi bezleri dejenerasyonlar izlendi ve büyük vakuoler oluşumlar izlendi. Stromada epitel altında lenfosit infiltrasyonu oldukça belirgindi. Bu lenfositler bezler çevresinde de oldukça belirgin olarak artmış düzeyde saptandı. Lenfositlerin çoğunu eozinofiller oluşturmaktaydı (Resim 4. 8).

Miyometriyumun iç sirküler ve dış longitudinal düz kas katmanları arasında bağ doku artışı ve arkuat arterlerin dilate olduğu ve çevrelerinde duvarında bağ dokusunda önemli bir artış olduğu saptandı (Resim 4. 9).

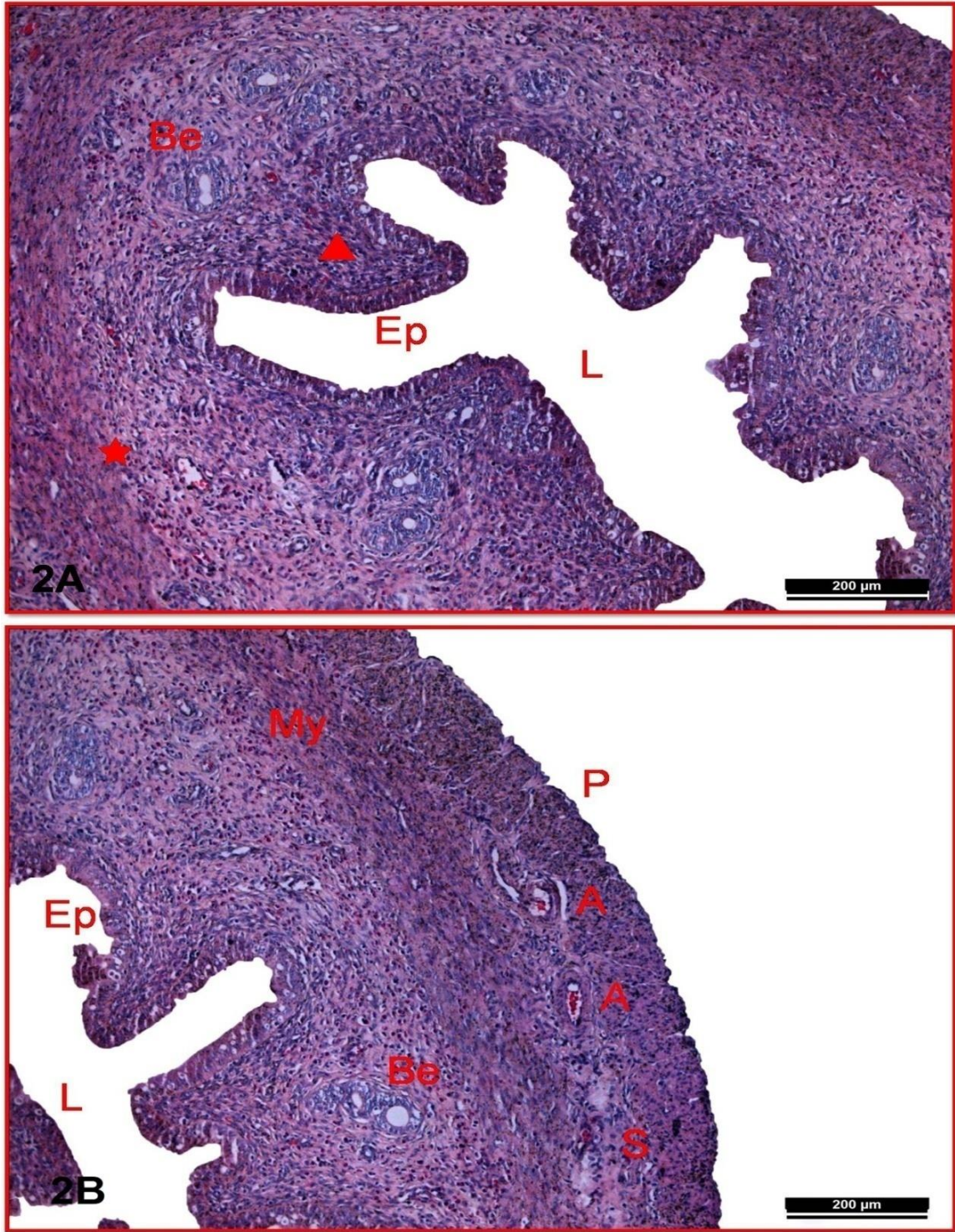
Endometriyumda oldukça dilate ve geniş lümenli düz arterioller izlendi. Endometriyumun fonksiyonel tabakasında yoğun olarak lenfosit infiltrasyonu görüldü. Miyometriyum kas katmanları arasındaki sinir yapıları ışık mikroskopta minimum düzeyde ödemliydi (Resim 4. 9).

Dejenerasyon kriterlerinden yüzey epitelinde hiperplazi ve hipertrofi, bez lümeninde dilatasyon, arter ve arteriollerde dilatasyon parametrelerinde deney 1 ve deney 2 grupları

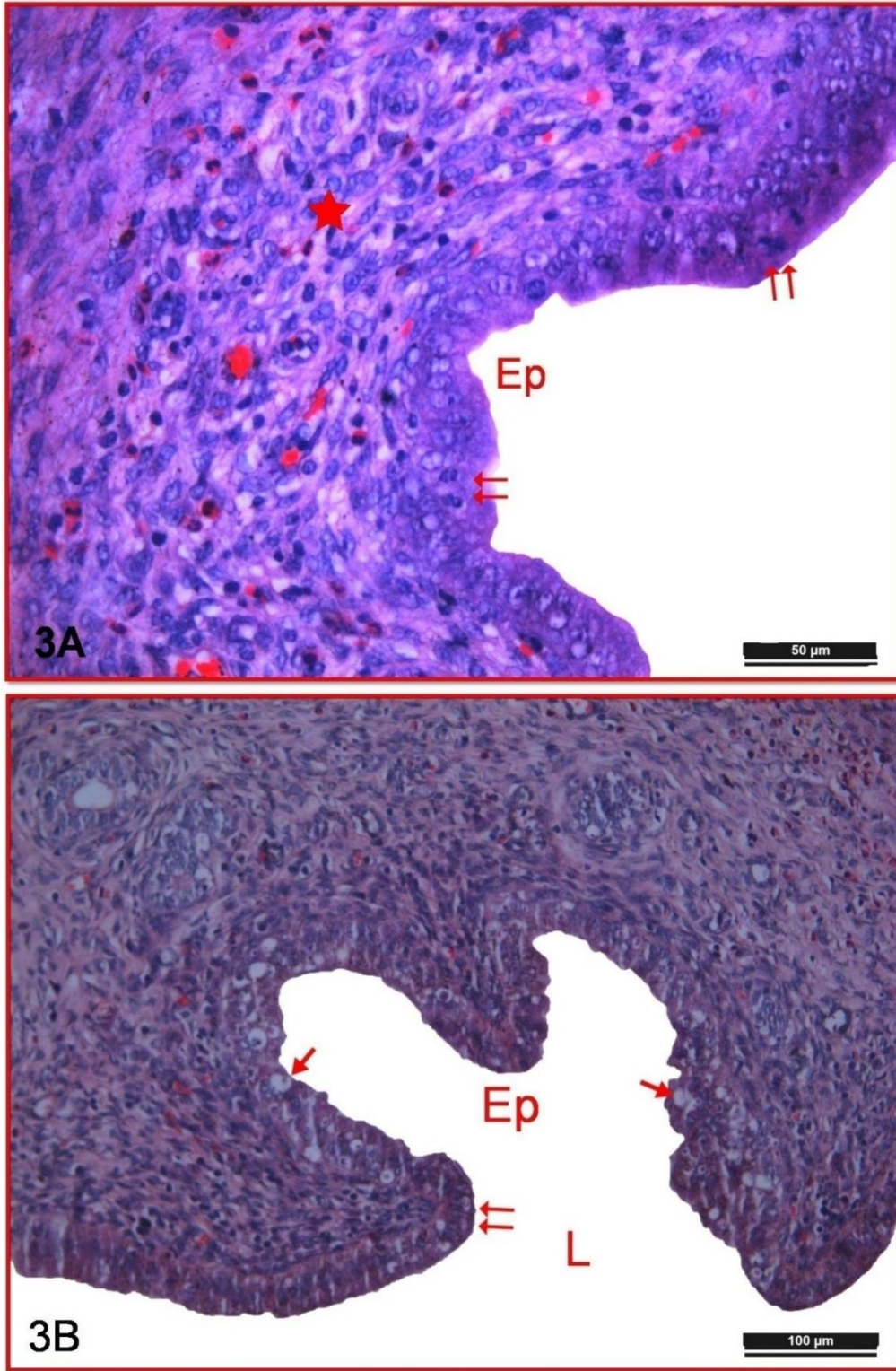
arasında izlenen farklar da istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Yüzey epitelindeki ve bez epitelindeki mitotik figürler, arter ve arteriöl duvarında ödem gibi parametrelerde deney 1 grubunun kontrol grubuyla olan farkları istatistiksel olarak anlamlı değilken, deney 2 grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık görüldü (Şekil 4. 1). Tanımlayıcı veriler ve istatistiksel sonuçlara ilişkin veriler “Çizelge 4. 3” ve “Çizelge 4. 4” te verilmiştir. Hematoksilen eozin değerlendirmesine ait resimler “Resim 4. 1-4.10” arasında gösterilmiştir.



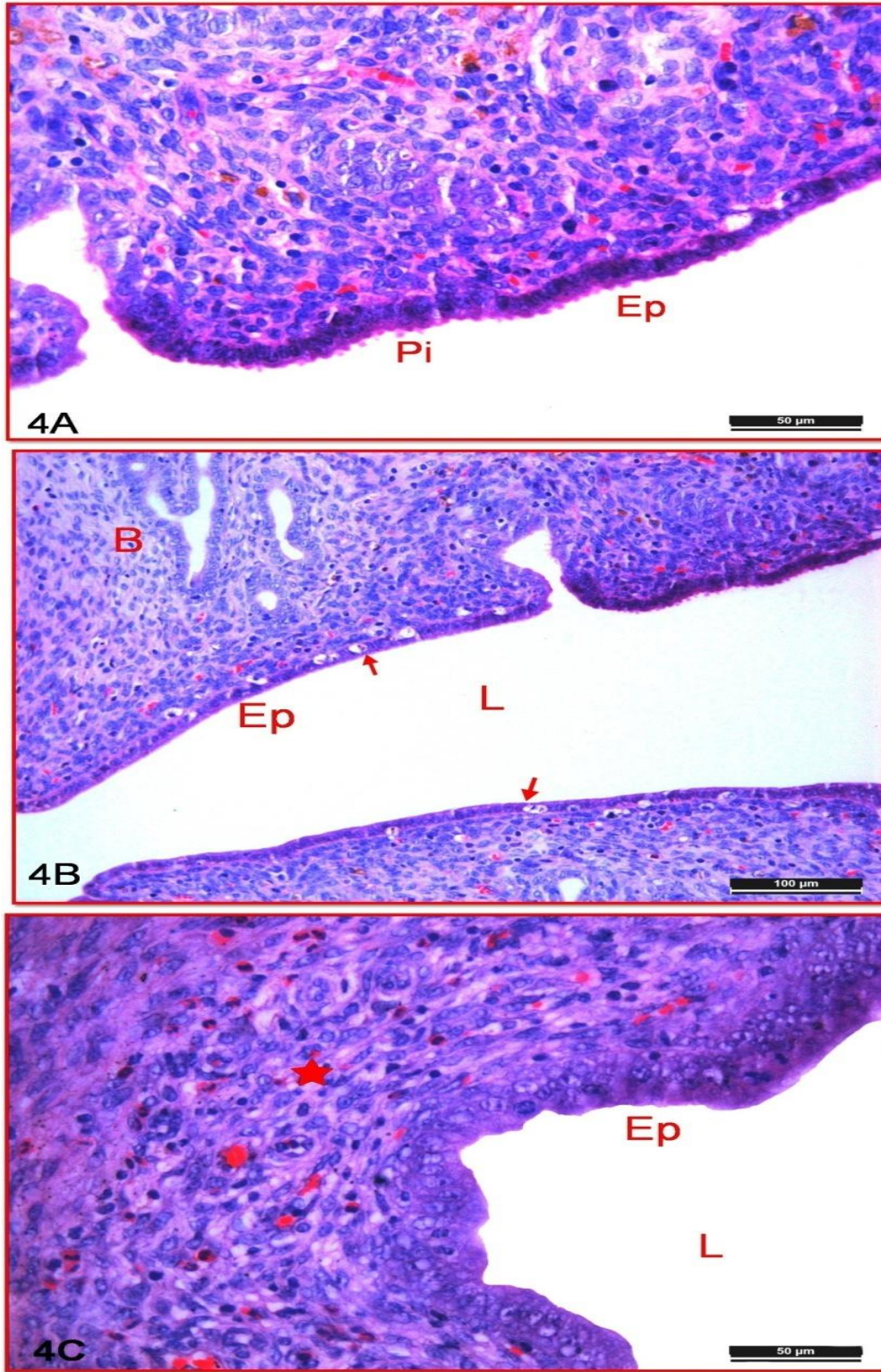
Resim 4.1. A, B: Kontrol grubuna ait uterus doku kesitlerinde lümen (L), tek katlı prizmatik yüzey epitel (Ep), bez epitel (Be), stroma (★), endometriyum (En), miyometriyum (My), perimetriyum (P) ve arkuat arter (A) gözleniyor (Hematoksilen- Eozin X 4, X10)



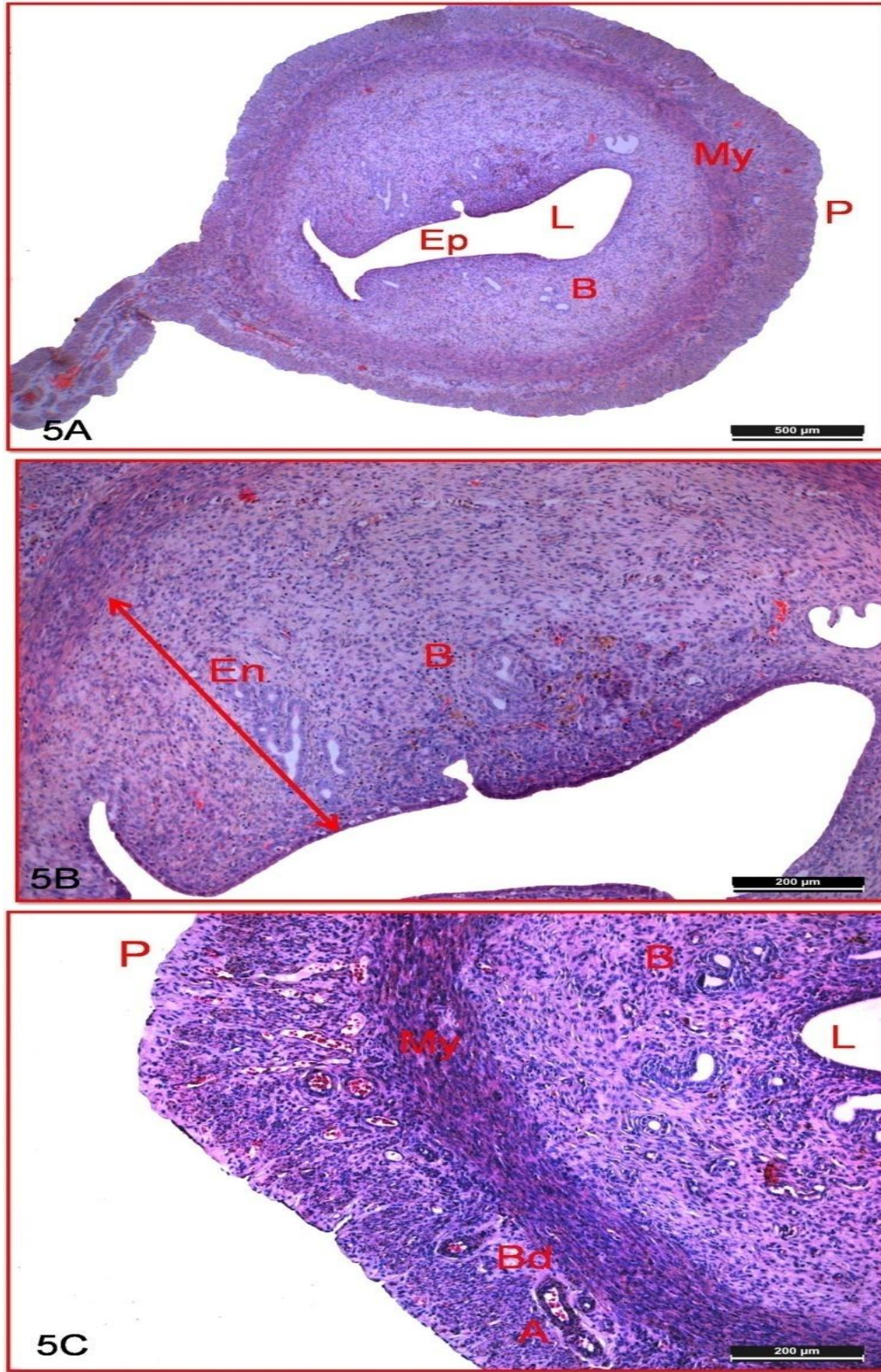
Resim 4.2. A, B: Kontrol grubuna ait uterus doku kesitlerinde lümen (L), tek katlı prizmatik yüzey epiteli (Ep), bez epiteli (Be), stroma (★), arkuat arterler (A), sinir sonlanmaları (S), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (▲), miyometriyum (My) ve perimetriyum (P) ayırt ediliyor (Hematoksilen- Eozin X 10, X10)



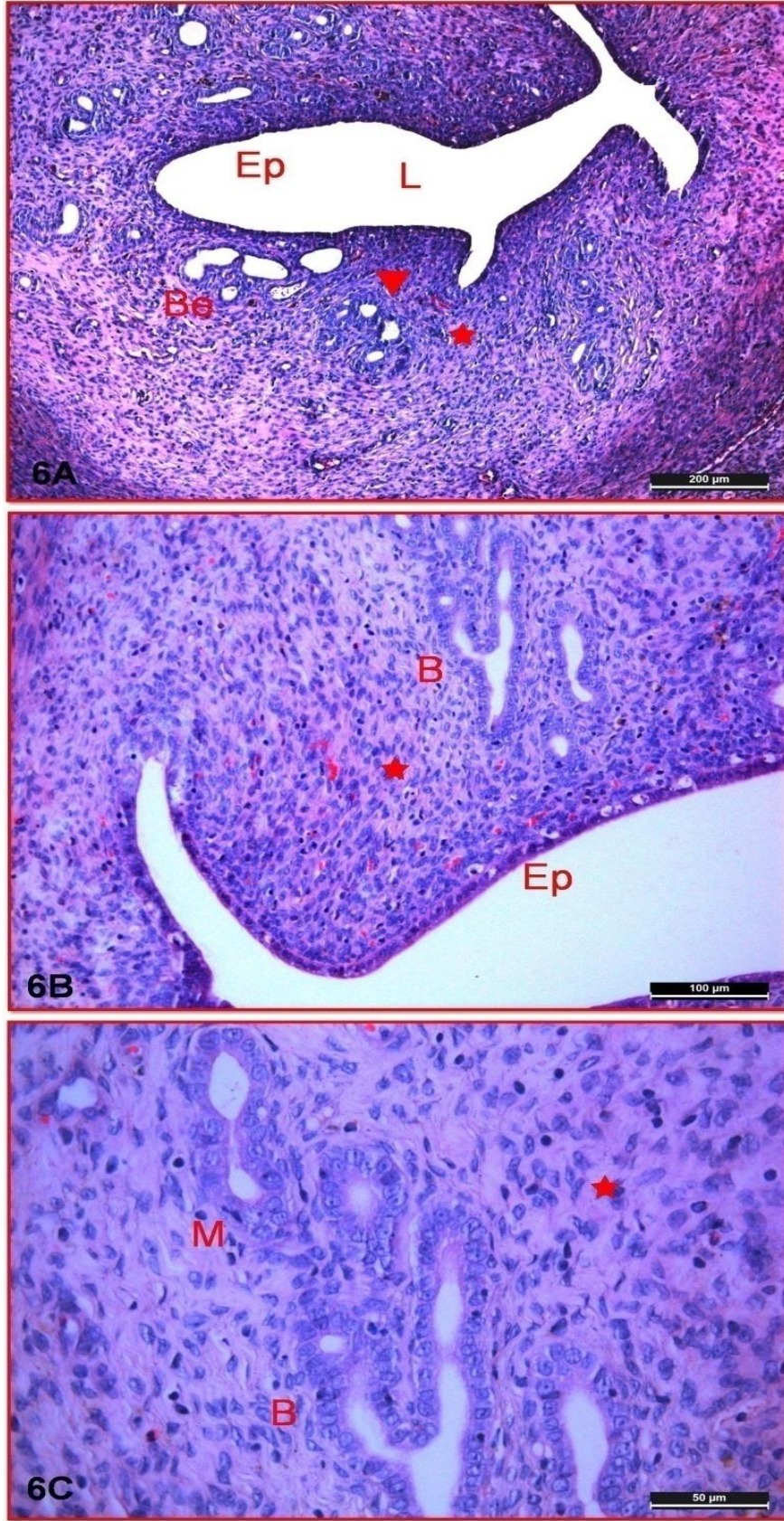
Resim 4.3. A, B: Kontrol grubuna ait uterus doku kesitlerinde lümen (L), tek katlı prizmatik yüzey epiteli (Ep), stroma (★), piknotik çekirdekli apoptotik hücreler (→) ve yüzey epitelinde vakuol (→) izleniyor (Hematoxilen- Eozin X 40, X20)



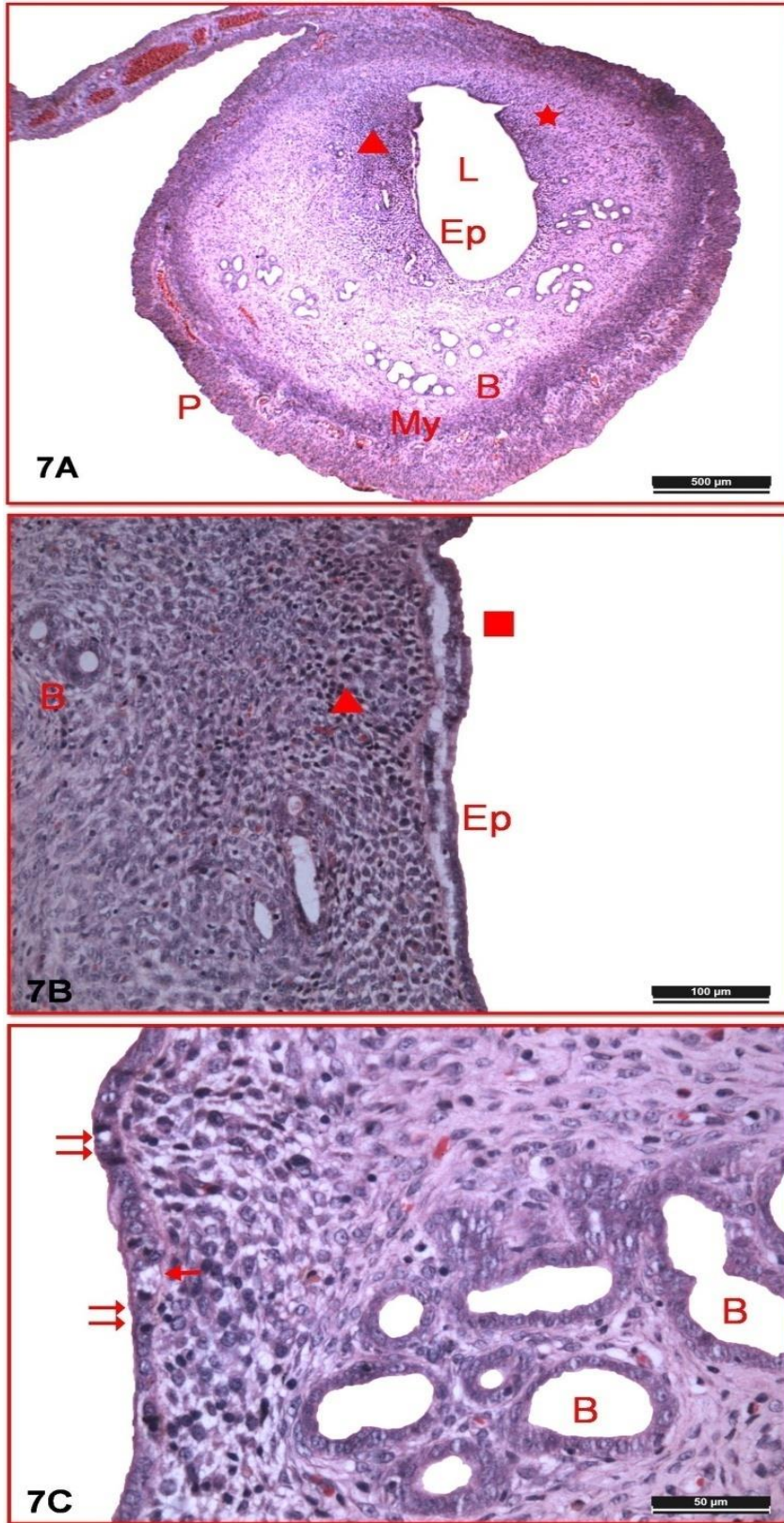
Resim 4.4. A, B, C: Deney 1 grubuna (3 tekrar) ait uterus doku kesitlerinde lümen (**L**), tek katlı prizmatik yüzey epiteli (**Ep**), stroma (**★**), yüzey epitelinde vakuol (**→**), uterus bezi (**B**) ve yüzey epitelinde pinopodlar (**Pi**) gözleniyor (Hematoksilen- Eozin X40, X20, X40)



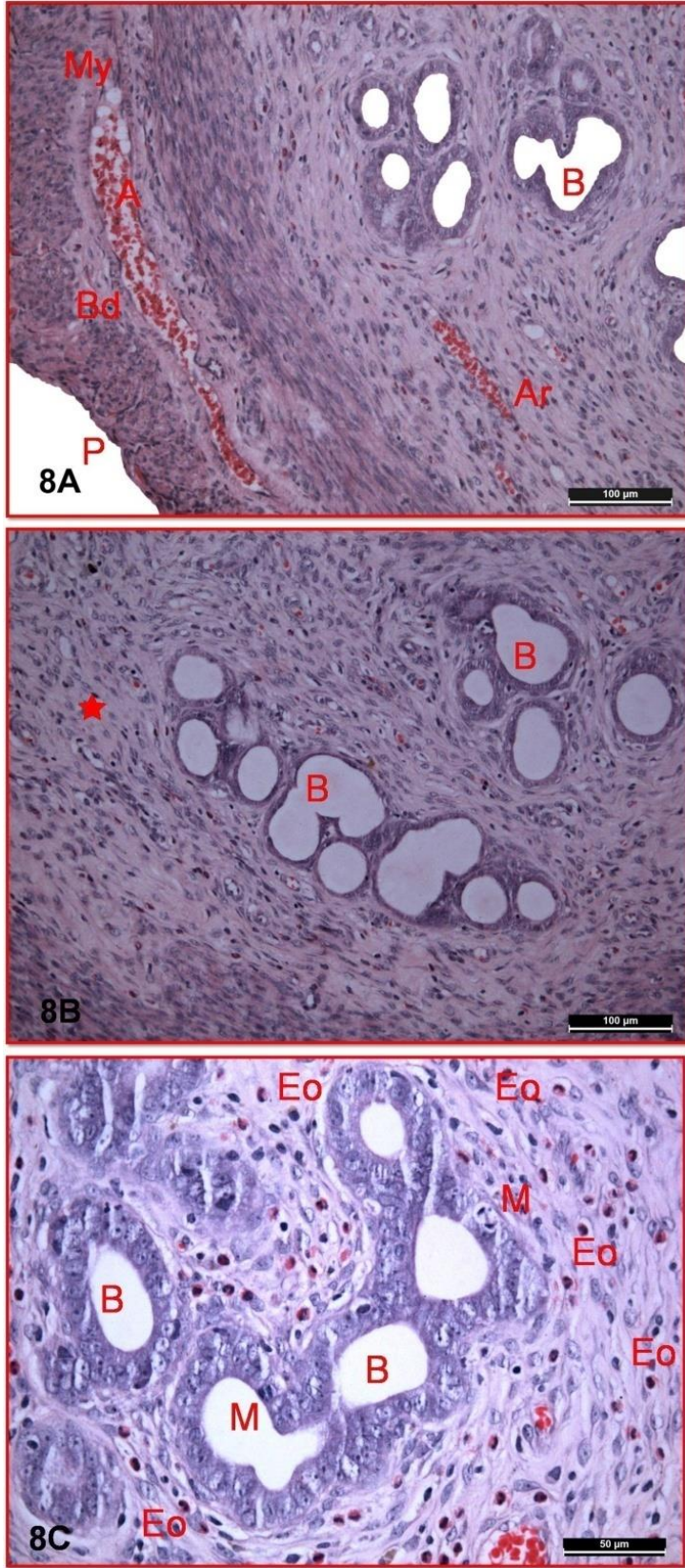
Resim 4.5. A, B, C: Deney 1 grubuna (3 tekrar) ait uterus doku kesitlerinde tek katlı prizmatik yüzey epiteli (**Ep**), lümen (**L**), uterus bezi (**B**), bağ doku (**Bd**), arkuat arter (**A**), endometriyum (**En**), miyometriyum (**My**), perimetriyum (**P**) gözleniyor (Hematoksilen- Eozin X4, X10, X10)



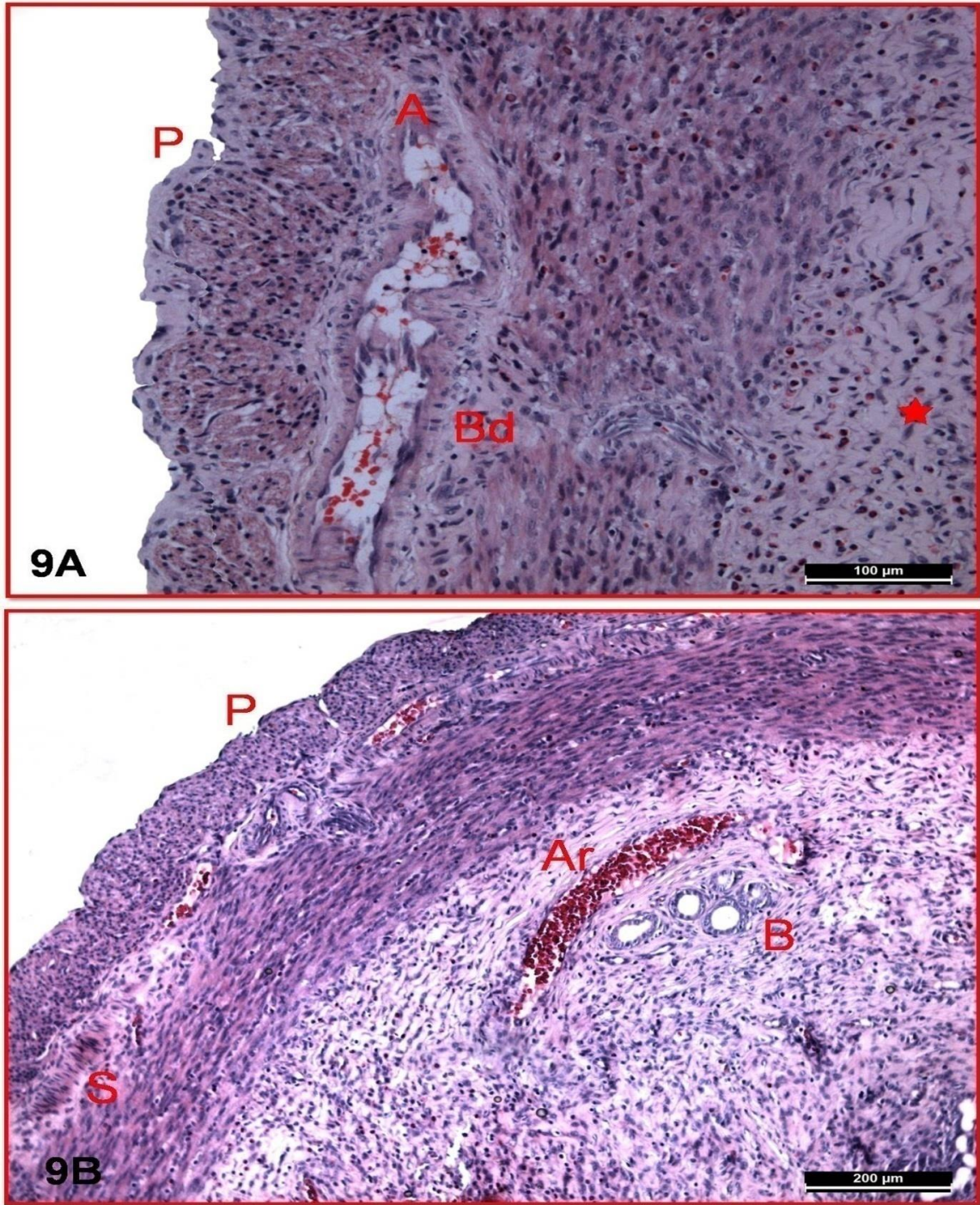
Resim 4.6. A, B, C: Deney 1 grubuna (3 tekrar) ait uterus doku kesitlerinde lümen (L), tek katlı prizmatik yüzey epiteli (Ep), bez epiteli (Be), stroma (★), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (▲) ve bez epitelinde mitotik figürler (M) gözlemleniyor (Hematoxilen - Eozin X10, X20, X40)



Resim 4.7. A, B, C: Deney 2 grubuna (5 tekrar) ait uterus doku kesitlerinde lümen (L), tek katlı prizmatik yüzey epiteli (Ep), uterus bezi (B), stroma (★), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (▲), piknotik çekirdekli apoptotik hücreler (⇨), yüzey epitelinde vakuol (→), bazal membrandan ayrılan yüzey epiteli (■), miyometriyum (My) ve perimetriyum (P) gözlemleniyor (Hematoksilen- Eozin X4, X20, X40)



Resim 4.8. A, B, C: Deney 2 grubuna (5 tekrar) ait uterus doku kesitlerinde uterus bezi (B), stroma (★),bez epitelinde mitotik figürler (M), bağ doku (Bd), arkuat arter (A), arteriyol (Ar), perimetrium (P) ve eozinofiller (Eo) dikkat çekiciydi (Hematoxilen- Eozin X20, X20, X40)



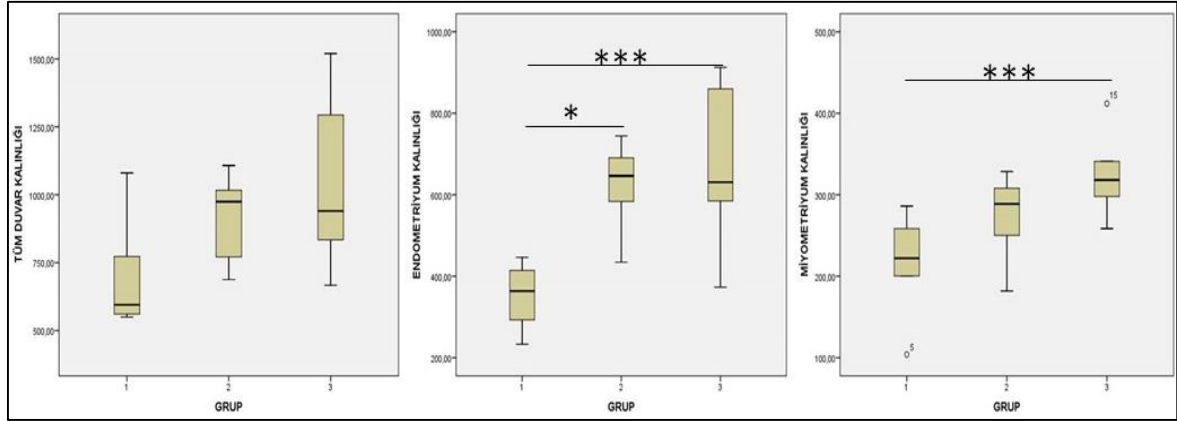
Resim 4.9. A, B: Deney 2 grubuna (5 tekrar) ait uterus doku kesitlerinde uterus bezi (B), stroma (★), bağ doku (Bd), arkuat arter (A), arteriyol (Ar), sinir sonlanmaları (S) ve perimetriyum (P) gözleniyor (Hematoksilen- Eozin X 20, X10)

Çizelge 4.3. Histokimyasal değerlendirmeye ilişkin tanımlayıcı veriler

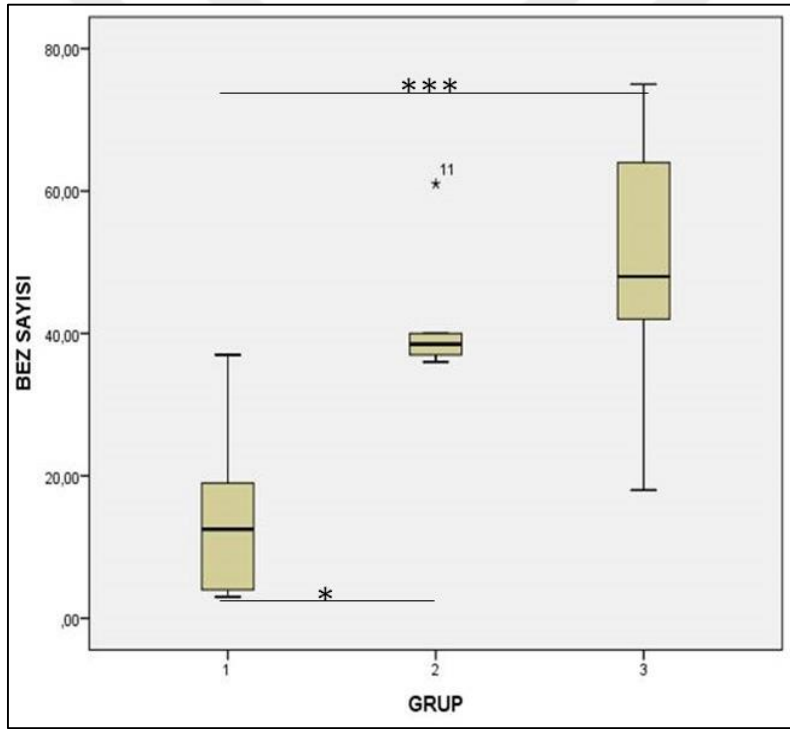
Parametreler	Grup no	Ortalama değer	Standart hata	Ortanca değer	Standart sapma	En düşük değer	En yüksek değer
Tüm duvar kalınlığı	1	6,92	84,441	5,94	2,068	549,71	1080,44
	2	9,21	65,033	9,74	1,592	687,51	1107,78
	3	1,03	1,307	9,40	3,203	666,50	1519,82
Endometriyum kalınlığı	1	3,52	33,830	3,63	8,286	233,05	446,44
	2	6,24	43,742	6,46	1,071	434,58	744,26
	3	6,65	80,905	6,30	1,981	373,06	912,79
Miyometriyum kalınlığı	1	2,15	25,734	2,22	6,303	103,94	286,07
	2	2,74	21,773	2,88	5,333	181,82	328,42
	3	3,24	21,154	3,18	5,181	258,52	411,89
Bez sayısı	1	14,66	5,129	12,50	1,256	3,00	37,00
	2	41,83	3,893	38,50	9,537	36,00	61,00
	3	49,16	7,989	48,00	1,956	18,00	75,00
Yüzey epitelinde vaküolizasyon	1	1,67	0,211	2,00	0,516	1	2
	2	2,67	0,211	3,00	0,516	2	3
	3	2,83	0,167	3,00	0,408	2	3
Yüzey epitelindeki mitotik figürler	1	0,83	0,167	1,00	0,408	0	1
	2	1	0	1	0	1	1
	3	2,17	0,167	2,00	0,408	2	3
Yüzey epitelinde hiperplazi/ hipertrofi	1	0,50	0,342	0	0,837	0	2
	2	2	0	2	0	2	2
	3	3,17	0,167	3,00	0,408	3	4
Yüzey epitelinin bazal membrandan ayrılması	1	0,33	0,211	0	0,516	0	1
	2	1,83	0,401	1,50	0,983	1	3
	3	3,00	0,365	3,00	0,894	2	4
Bez epitelinde vaküolizasyon	1	1,50	0,224	1,50	0,548	1	2
	2	2,17	0,167	2,00	0,408	2	3
	3	3,00	0,258	3,00	0,632	2	4
Bez epitelinde mitotik figürler	1	1	0	1	0	1	1
	2	1	0	1	0	1	1
	3	2,00	0,258	2,00	0,632	1	3
Bezlerde lümen dilatasyonu	1	0,50	0,224	0,50	0,548	0	1
	2	1,83	0,167	2,00	0,408	1	2
	3	3,00	0,258	3,00	0,632	2	4
Miyometriyum da bağ doku artışı	1	0,17	0,167	0	0,408	0	1
	2	2,50	0,342	3,00	0,837	1	3
	3	3,50	0,224	3,50	0,548	3	4
Arter/arteriollerde dilatasyon	1	0,33	0,211	0	0,516	0	1
	2	1,33	0,211	1,00	0,516	1	2
	3	2,67	0,211	3,00	0,516	2	3
Arter/arterioller duvarında ödem	1	1,17	0,167	1,00	0,408	1	2
	2	1,67	0,211	2,00	0,516	1	2
	3	3,00	0,258	3,00	0,632	2	4
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	1	1,33	0,211	1,00	0,516	1	2
	2	2,33	0,211	2,00	0,516	2	3
	3	2,83	0,167	3,00	0,408	2	3
Stromal ödem	1	0,17	0,167	0,00	0,408	0	1
	2	2,00	0,258	2,00	0,632	1	3
	3	2,83	0,167	3,00	0,408	2	3

Çizelge 4.4. Histokimyasal değerlendirmeye ilişkin istatistiksel veriler

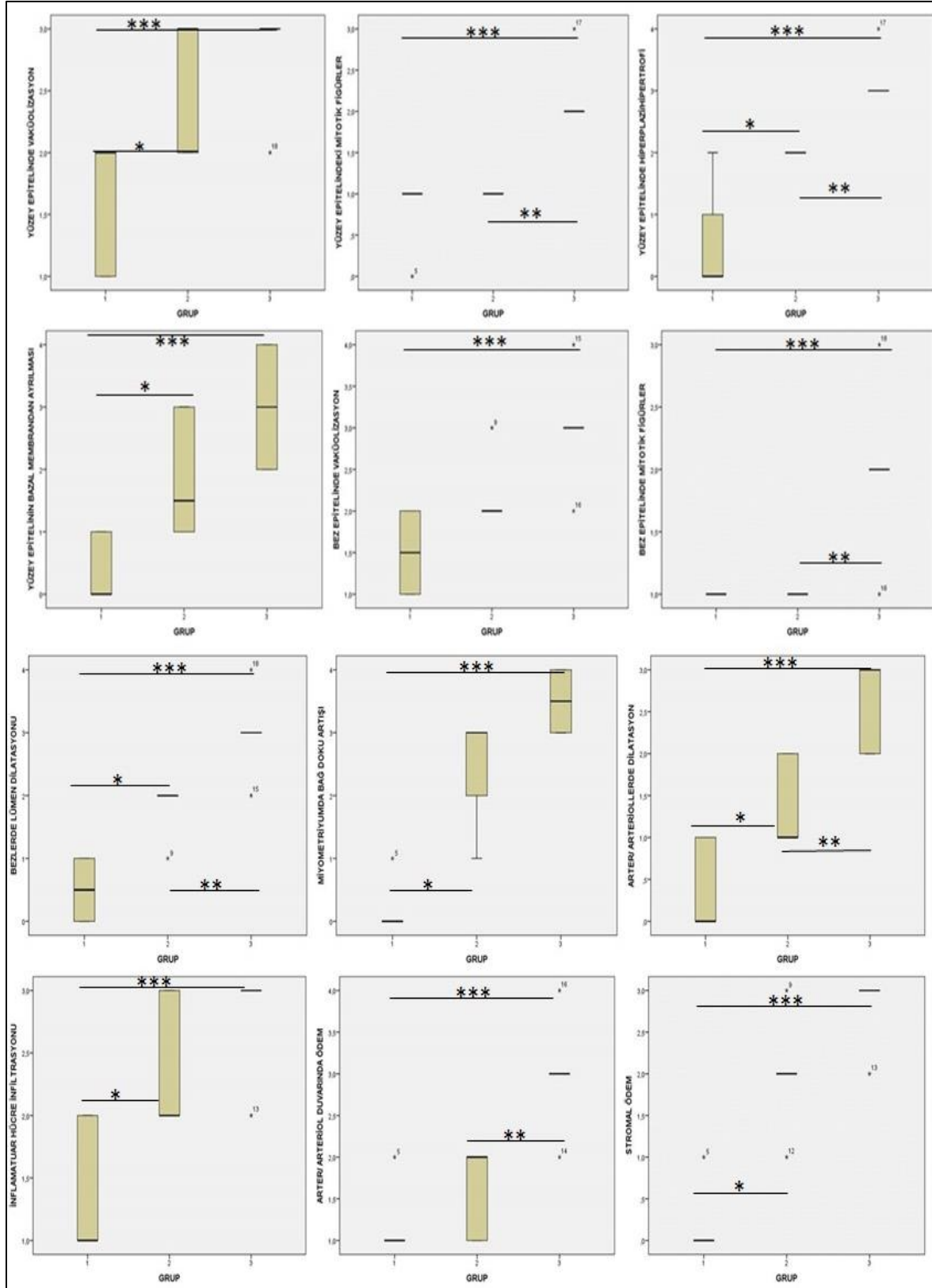
Parametreler	P değerleri	Grup (1)	Grup (2)	P değeri
Tüm duvar kalınlığı	0,073	-	-	-
Endometriyum kalınlığı	0,003	1	2	0,010
			3	0,004
		2	1	0,010
			3	0,867
Miyometriyum kalınlığı	0,015	1	2	0,200
			3	0,012
		2	1	0,200
			3	0,303
Bez sayısı	0,007	1	2	0,006
			3	0,018
		2	1	0,006
			3	0,820
Yüzey epitelinde vaküolizasyon	0,007	1	2	0,022
			3	0,005
		2	1	0,022
			3	0,909
Yüzey epitelindeki mitotik figürler	0	1	2	0,742
			3	0,001
		2	1	0,742
			3	0,001
Yüzey epitelinde hiperplazi/ hipertrofi	0	1	2	0,021
			3	0,001
		2	1	0,021
			3	0,003
Yüzey epitelinin bazal membrandan ayrılması	0,003	1	2	0,034
			3	0,001
		2	1	0,034
			3	0,162
Bez epitelinde vaküolizasyon	0,004	1	2	0,115
			3	0,004
		2	1	0,115
			3	0,073
Bez epitelinde mitotik figürler	0	1	2	1
			3	0,001
		2	1	1
			3	0,001
Bezlerde lümen dilatasyonu	0,001	1	2	0,003
			3	0,000
		2	1	0,003
			3	0,014
Miyometriyumda bağ doku artışı	0,001	1	2	0,001
			3	0,000
		2	1	0,001
			3	0,109
Arter/arteriollerde dilatasyon	0,001	1	2	0,022
			3	0,000
		2	1	0,022
			3	0,004
Arter/arteriol duvarında ödem	0,002	1	2	0,256
			3	0,001
		2	1	0,256
			3	0,008
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	0,004	1	2	0,022
			3	0,001
		2	1	0,022
			3	0,256
Stromal ödem	0,001	1	2	0,001
			3	0,000
		2	1	0,001
			3	0,073



Şekil 4.2. Uterus kalınlıklarına ilişkin grafikler ($p < 0,05$ * işaretiyle gösterilmiştir, *: Grup 1-2 arası, **: Grup 2-3 arası, ***: Grup 1-3 arası anlamlı farklılıklar)



Şekil 4.3. Bez sayısına ilişkin grafikler ($p < 0,05$ * işaretiyle gösterilmiştir, *:Grup 1-2 arası, **: Grup 2-3 arası, ***: Grup 1-3 arası anlamlı farklılıklar)



Şekil 4.4. Dejenerasyon kriterlerine ilişkin grafikler ($p < 0,05$ * işaretiyle gösterilmiştir, *:Grup 1-2 arası, **:Grup 2- 3 arası, ***:Grup 1-3 arası anlamlı farklılıklar)

4.1.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

İntegrin β_1 ve e - kaderin bulguları

Kontrol grubu

Kontrol gruplarına ait kesitlerde, integrin β_1 ve E- kaderin immünreaktiviteleri karşılaştırıldığında integrin β_1 ' in immünreaktivitesinin yüzey epiteli, bez epiteli, stromal hücreler ve doku genelinde yaygınlığının daha az olduğu izlendi (Resim 4.10).

İntegrin β_1 molekülünün, yüzey epitelinde fokal bağlantı birimlerinde rol aldığı düşünülecek olduğunda, zonula adherens gibi hücreleri kuşak gibi çepeçevre saran ve aynı zamanda zonula adherense ek olarak desmozomların da yapısında bulunan E-kaderin immünreaktivitesinin integrin β_1 ile karşılaştırıldığında daha yaygın immün tutulumunun anlamlı olduğu saptandı (Resim 4.11).

Uterus dokusuna ait kontrol kesitlerinde integrin β_1 immünreaktivitesinin yüzey epitelinde kuvvetli membranöz ve orta dereceli sitoplazmik, bez epitelinde de tüm sitoplazma ve membranda yaygın, orta dereceli tutulumu saptandı. E-kaderin'in yüzey epitelindeki tutulumu daha çok hücrelerin apikallerinde yerleşik olmasına rağmen, endometriyuma ait bez epitelinde hem sitoplazmik hem de yaygın, kuvvetli membranöz E-kaderin tutulumu saptandı (Resim 4.12).

Yüzey epitelinin bağ dokusu komşuluğunda stromada orta dereceli integrin β_1 immünreaktivitesi izlendi. Endometriyumda bazı stromal hücrelerde ortadan kuvvetliye değişen sitoplazmik ve membranöz integrin β_1 tutulumu dikkat çekiciydi. Endometriyumun fonksiyonel tabakasında bazı stromal hücrelerin de sitoplazmik E-kaderin pozitifliği dikkat çekiciydi. Hücrelere ait çekirdek yapıları immün negatif olarak saptandı (Resim 4.13).

E-kaderin ile karşılaştırıldığında tüm damar yapılarının endotel hücrelerinde integrin β_1 immünreaktivitesi oldukça zayıf izlendi. Endotel hücrelerinin oldukça ince ve sitoplazmadan fakir hücreler oldukları düşünüldüğünde, ortadan kuvvetliye değişen sitoplazmik tutulumları normal sağlıklı uterus dokusu integrin β_1 tutulumuna uyumlu olarak tespit edildi. Perimetriyuma ait hücrelerde ise ortadan kuvvetliye değişen integrin β_1 immünreaktivitesi saptandı. Miyometriyumu oluşturan iç sirküler, dış longitudinal düz kas

katmanları E-kaderin yönünden immün negatif izlenirken, düz kas katmanları arasında yerleşik bulunan arkuat arterlere ait endotel hücreleri ile perimetriyumun E-kaderinle kuvvetli immünreaksiyon gösterdiği saptandı. Endometriyumun fonksiyonel tabakasına ait kapiller endotelleri ve bazı stromal hücrelerin de sitoplazmik E-kaderin pozitifliği dikkat çekiciydi. Hücrelere ait çekirdek yapıları immün negatif olarak saptandı (Resim 4.14).

Deney 1 (3 Tekrarlı KOH) grubu

Deney 1 grubunda hem integrin β_1 hem de E-kaderin immünoreaktivitesinin deney gruplarında kontrol gruba oranı hem doku genelindeki yaygınlığı hem de immünpozitifliğinin ifadenmesinin kontrole oranla azalmış olduğu saptandı. Deney 1 grubunun uterus kesitlerine uygulanan integrin β_1 immün boyaması sonucunda aynı E-kaderin immünoreaktivitesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında deney grubunda düşmesi gibi, integrin β_1 immünreaktivitesi de deney 1 grubu kesitlerinde kontrole oranla azalmış olarak saptandı (Resim 4.15).

Deney 1 grubunda stromal hücrelerde tutulumun hem yaygınlığının hem de immünreaktivitesinin yoğunluğunun azalmış olduğu, zayıftan ortaya değişen integrin β_1 tutulumu olduğu saptandı. Stromal hücreler ve damar yapılarına ait endotel hücrelerinde de E-kaderin immünreaktivitelerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında orta dereceli olduğu saptandı (Resim 4.16).

Yüzey epitelinde çoğunlukla immünnegatif veya zayıf integrin β_1 reaktivitesi izlenirken, bez epiteli hücrelerinde orta dereceli sitoplazmik ve membranöz yaygın integrin β_1 tutulumu izlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney 1' deki E-kaderin tutulumunun doku genelindeki yaygınlığının oldukça azalmış olduğu ve kontrol grubunda kuvvetli immünreaksiyon gösteren yüzey ve bez epitel hücrelerinin deney 1 grubunda zayıftan ortaya değiştiği, bazı bez epitel hücrelerinde kuvvetli immünreaktiviteyi koruduğu saptandı (Resim 4.17).

Deney 1 grubunda bez epiteli hücrelerinde orta dereceli sitoplazmik ve membranöz yaygın integrin β_1 tutulumu izlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney 1'deki E-kaderin tutulumunun doku genelindeki yaygınlığının oldukça azalmış olduğu ve kontrol grubunda kuvvetli immünreaksiyon gösteren yüzey ve bez epitel hücrelerinin deney 1 grubunda

zayıftan ortaya değiştiği, bazı bez epitel hücrelerinde kuvvetli imm nreaktiviteyi koruduğu saptandı. Tutulum kontrol grubunda membranöz ve sitoplazmik iken deney 1 grubunda bez epiteline ait bazı dejeneratif hücrelerin çekirdek tutulumu da gösterdiği saptandı (4.18).

Miyometriyumun i  sirküler ve dış longitudinal düz kas katmalarında integrin β_1 imm nreaktivitesine rastlanmadı. Damar endotel hücrelerinde ve perimetriyum hücrelerinde zayıftan ortaya değişen immünreaktivite izlendi. Stromal hücreler ve damar yapılarına ait endotel hücrelerinin de E-kaderin imm nreaktivitelerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında orta dereceli olduğu saptandı (Resim 4.19).

Endoteldeki, E-kaderin ve integrin β_1 tutulumunun Deney 1 grubunda, kontrole ve Deney 2 grubuyla olan farkları anlamlı bulunmuştur. Diğer parametrelerde gruplar arası farklar anlamlı bulunmamıştır ( izelge 4.6).

Deney 2 (5 Tekrarlı KOH) grubu

Deney 2 grubunun uterus duvarını oluşturan tüm histolojik yapılarıdaki E-kaderin imm nreaksiyonu, integrin β_1 imm nreaksiyonuna çok benzer şekilde izlendi (Resim 4.20). Yapılara ait, gruplar arasındaki immünreaksiyon ifadelerindeki farklılıklar “şekil 4.2” de verilmiştir.

Miyometriyum tabakasının i  sirküler, dış longitudinal düz kas d zenleniminin yer yer bozulduğu ve bu bölgelerde integrin β_1 ve E-kaderin immünreaktivitesinin düz kas dokusu arasında yerleşik bağ doku hücrelerinde oldukça zayıf yer yer orta dereceli integrin β_1 ve E-kaderin ifadenmeleri izlendi. Miyometriyumun düz kas katmanları arasında yerleşik bulunan arkuat arterlere ait endotel hücreleri ile perimetriyumun E - kaderinle immünreaksiyon göstermediği saptandı (Resim 4.21).

Deney 2 grubunda uterus dokusu kesitlerinde integrin β_1 immünreaktivitesinin özel olarak yüzey epitelinde son derece azalmış olduğu dikkat çekti. Yüzey epitelinde dejenere tek t k bazı hücrelerde integrin β_1 immünreaktivitesi zayıf gözlendi. Deney 2 grubuna ait uterus dokusu kesitlerindeki yüzey epitel hücrelerine ait E-kaderin immünreaktivitesinin kontrol grubu ve deney 1 grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta en düşük tutulumu sergilediği

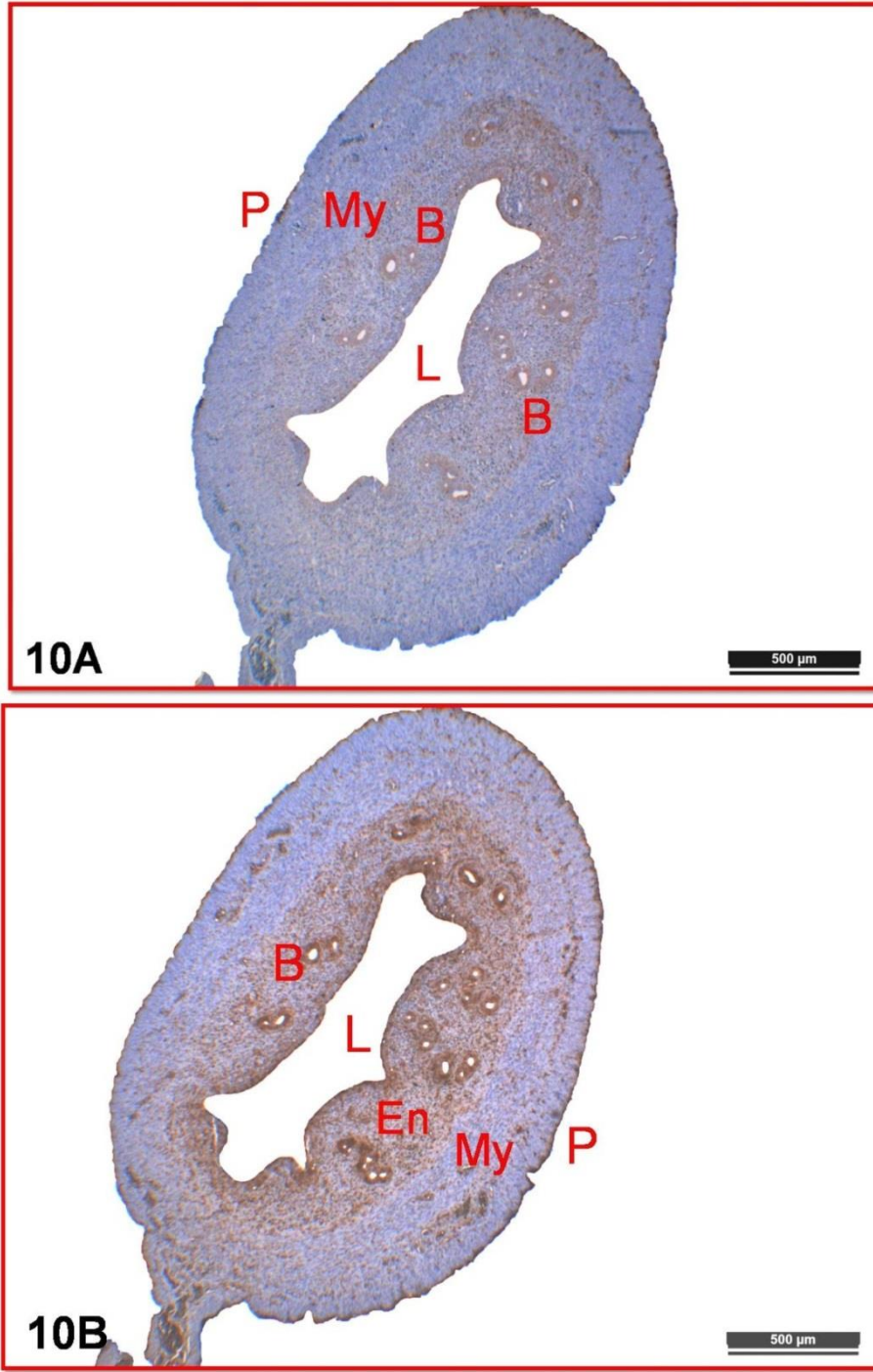
izlendi. Epitel altı lenfosit infiltrasyonu, lenforetiküler sisteme ait hücrelerin hiçbirinde integrin β_1 immünreaktivitesi saptanmadı (Resim 4.22).

Deney 2 grubunda “E-kaderin” primer antikoru, bez epitel hücrelerinde hem E-kaderin, hem integrin β_1 kontrol ve deney1 gruplarının immünreaktiviteleri ile karşılaştırıldığında bu grubun en düşük immünreaksiyon gösteren grup olduğu gözlemlendi. Çoğu bez epitelinde zayıf sitoplazmik ve membranöz integrin β_1 immünreaktivitesi izlenirken, az sayıdaki bazı bez epitel hücrelerinde orta dereceli immünreaktivite gözlemlendi (Resim 4.23).

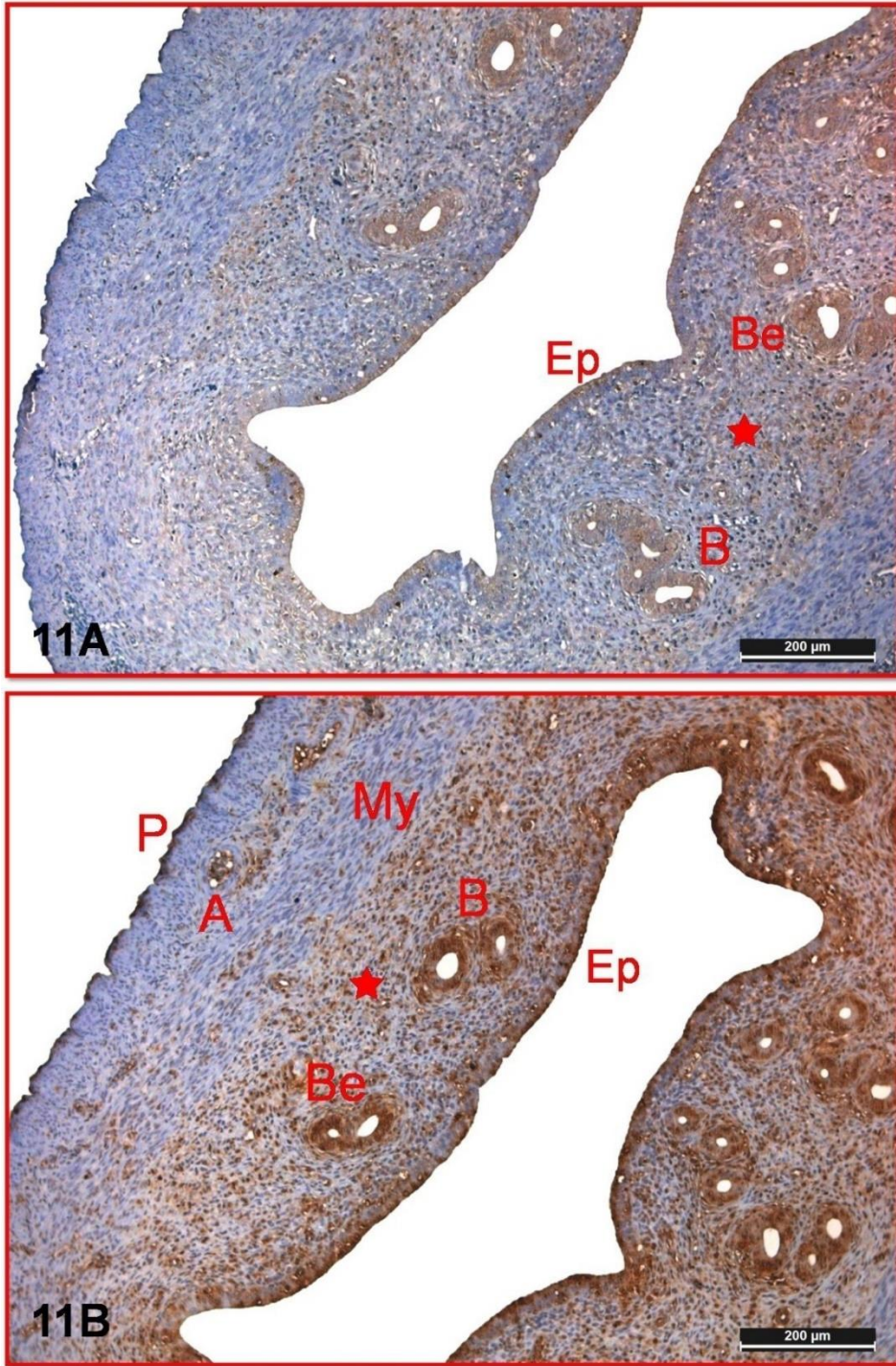
Deney 2 grubunda epitelin hemen altında yerleşik olan stromal hücrelerde immünreaksiyon gözlenmezken, endometriyumun fonksiyonel tabakasının derin kısmında ve bazal tabakasında bulunan stromal hücrelerde zayıf ve orta dereceli sitoplazmik integrin β_1 immünreaktivitesi saptandı. Stromal hücrelerde E-kaderin tutulumunun hem yaygınlığının hem de immünreaktivitesinin olduğu gözlemlendi. Deney 2 grubunda, tüm uterus duvarı damar yapılarının endotel hücreleri integrin β_1 zayıf immünreaksiyon gösterdi. Endotel ve perimetriyumun tabakasına ait hücreler zayıftan ortaya değişen integrin β_1 immünreaktivitesi gösterdi. Miyometriyumun iç sirküler ve dış longitudinal düz kas katmanlarında E-kaderin tutulumu izlenmedi. Miyometriyumun düz kas katmanları arasında yerleşik bulunan arkuat arterlere ait endotel hücreleri ile perimetriyumun E-kaderinle immünreaksiyon göstermediği saptandı (Resim 4.24).

İstatistiksel testler sonucunda Deney 2 grubundaki yüzey epitelinde ve endoteldeki E-kaderin tutulumunun, endoteldeki ve stromal hücrelerdeki integrin B_1 tutulumu değişimlerinin kontrollerle arasında anlamlı farklar olduğu bulundu (Şekil 4. 2).

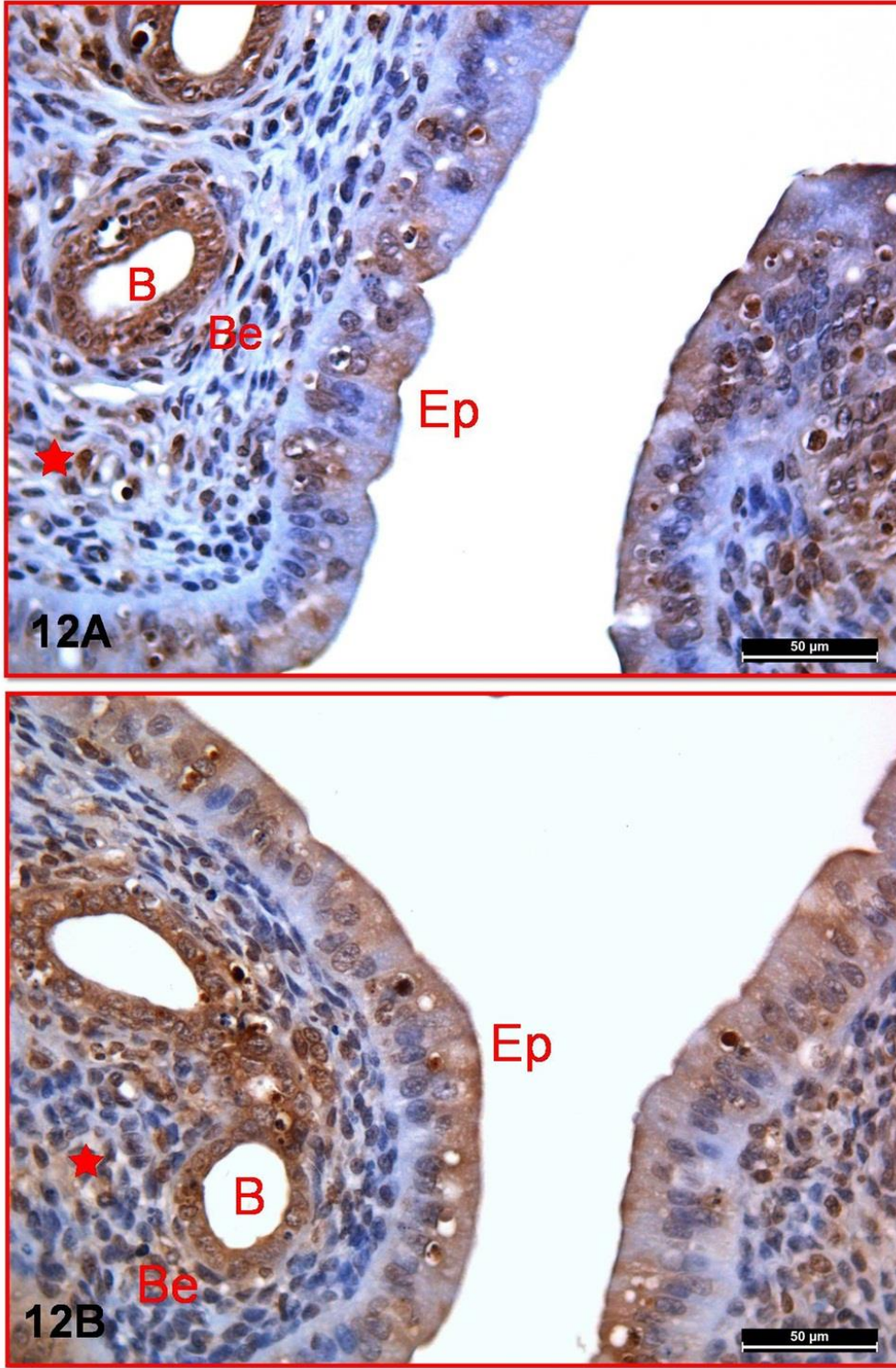
Tanımlayıcı veriler ve istatistiksel sonuçlara ilişkin veriler “Çizelge 4. 5” ve “Çizelge 4.6”da verilmiştir. İmmünohistokimya değerlendirmesine ait resimler “Resim 4.10 - 4.24” arasında gösterilmiş, E-kaderin ve İTGB1 primer antikollarının bölgelere göre immünreaksiyon yoğunluklarına grafikler “Şekil 4. 5” de gösterilmiştir.



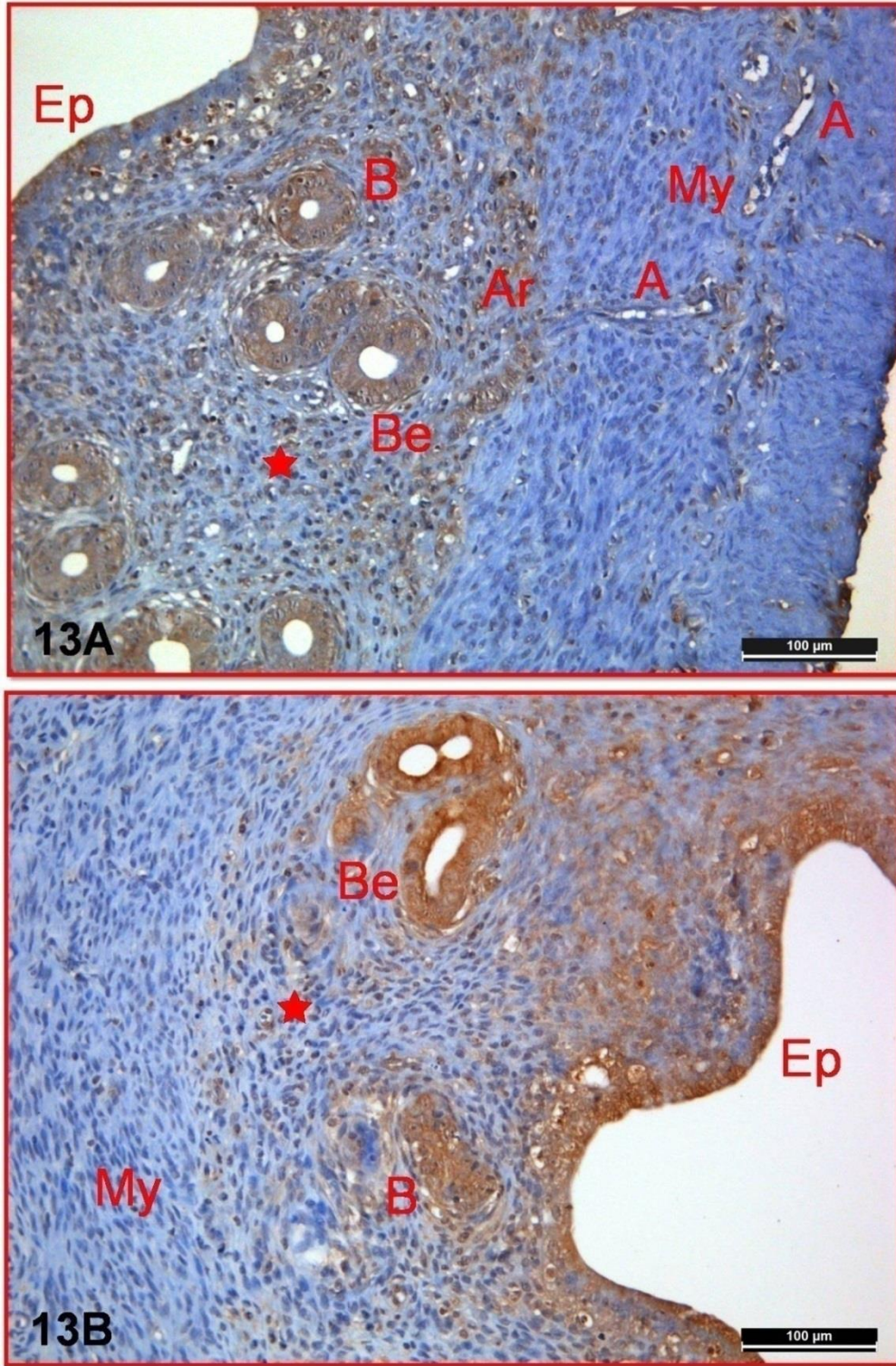
Resim 4.10. A, B: Kontrol gruplarında integrin $\beta 1$ ve E-kaderin primer antikorları ile yapılan değerlendirmede küçük büyüttmeli resimde normal yapıda izlenen uterus dokusu görülüyor. İntegrin $\beta 1$ ' in organ genelindeki immünreaktivitesi bezlerde (**B**) ve endometriyumda (**En**) E-kaderin primer antikoruna göre daha zayıf izleniyor. **L**: Lümen, **My**: Miyometriyum, **P**: Perimetrium (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X4, X4)



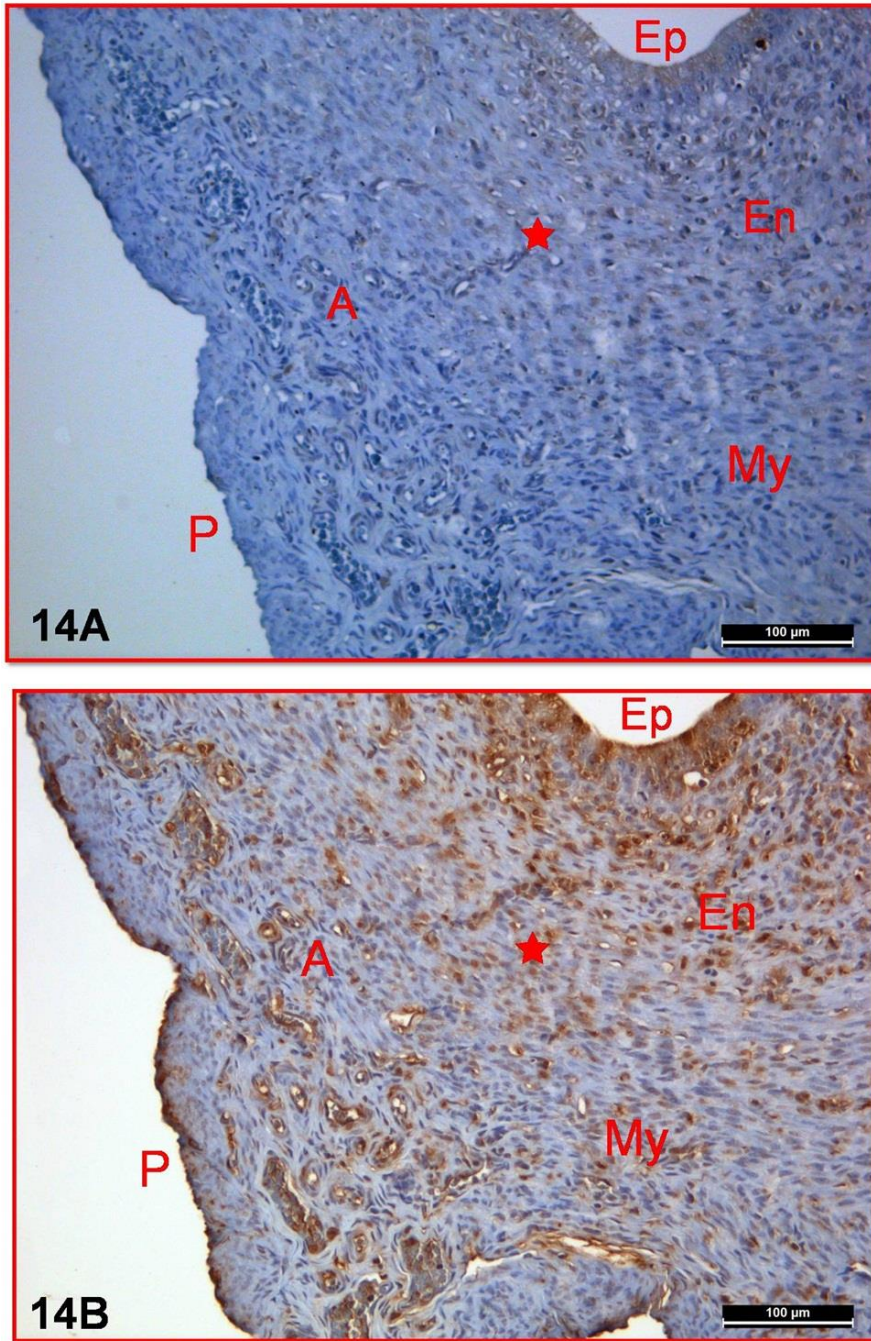
Resim 4.11. A, B: Kontrol gruplarında integrin β_1 ve E-kaderin primer antikorları ile yapılan değerlendirmede uterus dokusunda integrin β_1 'in immünreaktivitesi yüzey epitelinde (Ep), bez (B) ve bez epitelinde (Be), stromada (★), arkuat arterlerde (A) ve perimetriumda (P), E-kaderin primer antikoruna göre daha zayıf izleniyor. İntegrin β_1 ve E-kaderin primer antikorlarının miyometriyumda (My), immünreaktivitesi negatif olarak izleniyor (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 10, X10)



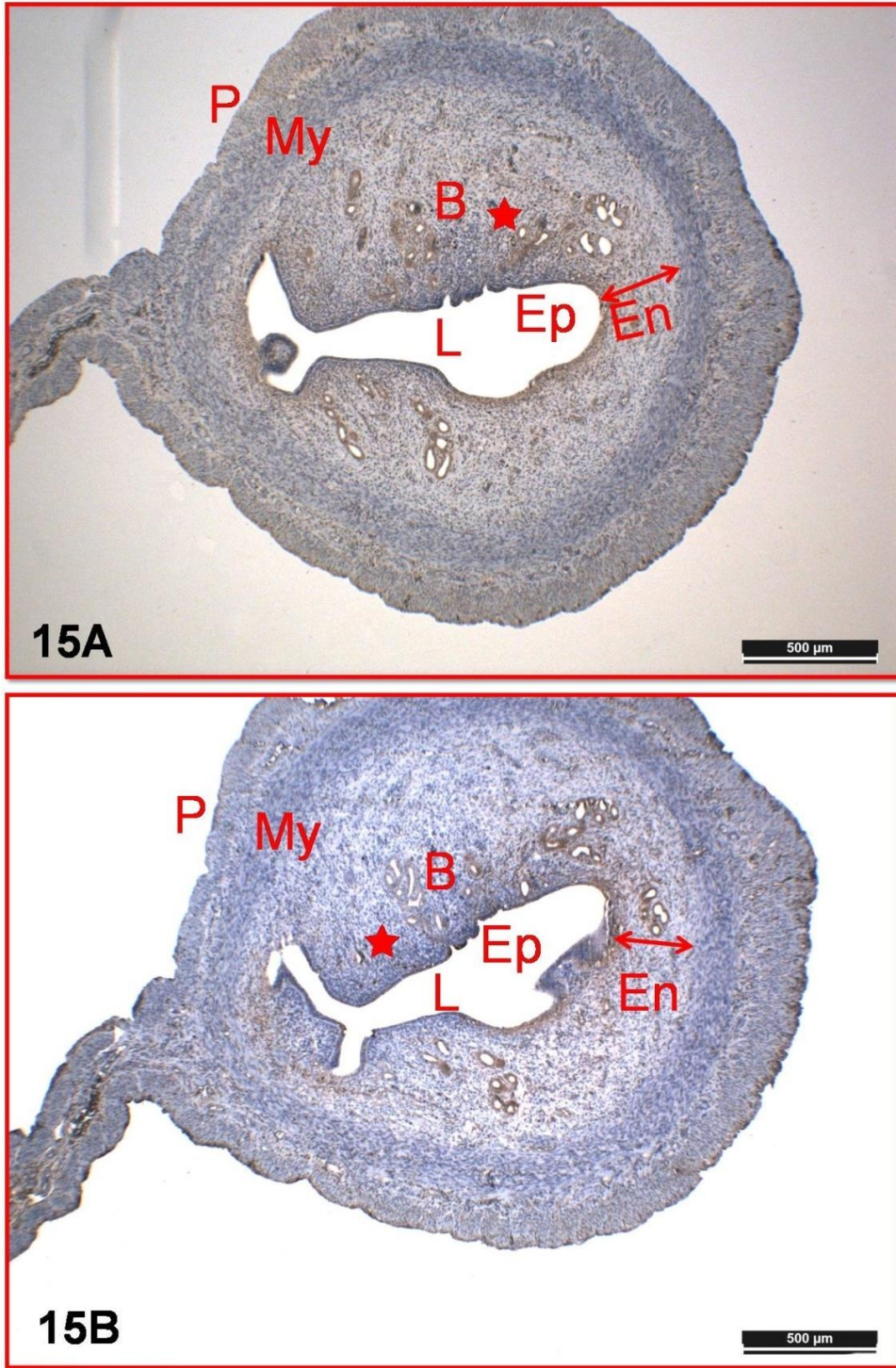
Resim 4.12. A: Kontrol gruplarında integrin β_1 ve E-kaderin primer antikorları ile yapılan değerlendirmede uterus dokusunda integrin β_1 'in immünreaktivitesi yüzey epitelinde (**Ep**) kuvvetli membranöz ve orta dereceli sitoplazmik, bez epitelinde (**Be**) de tüm sitoplazma ve membranda yaygın, orta dereceli tutulumu izleniyor. B: E-kaderin'in tutulumu ise, yüzey epiteli hücrelerinde daha çok apikal membranda ve lateral membranın apikalinde yerleşik, kuvvetli membranöz ve sitoplazmik şekilde, bez epitelinde ise hem sitoplazmik hem de yaygın, kuvvetli membranöz şekilde izleniyor. **B**: Bez, ★: Stroma (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X40, X40)



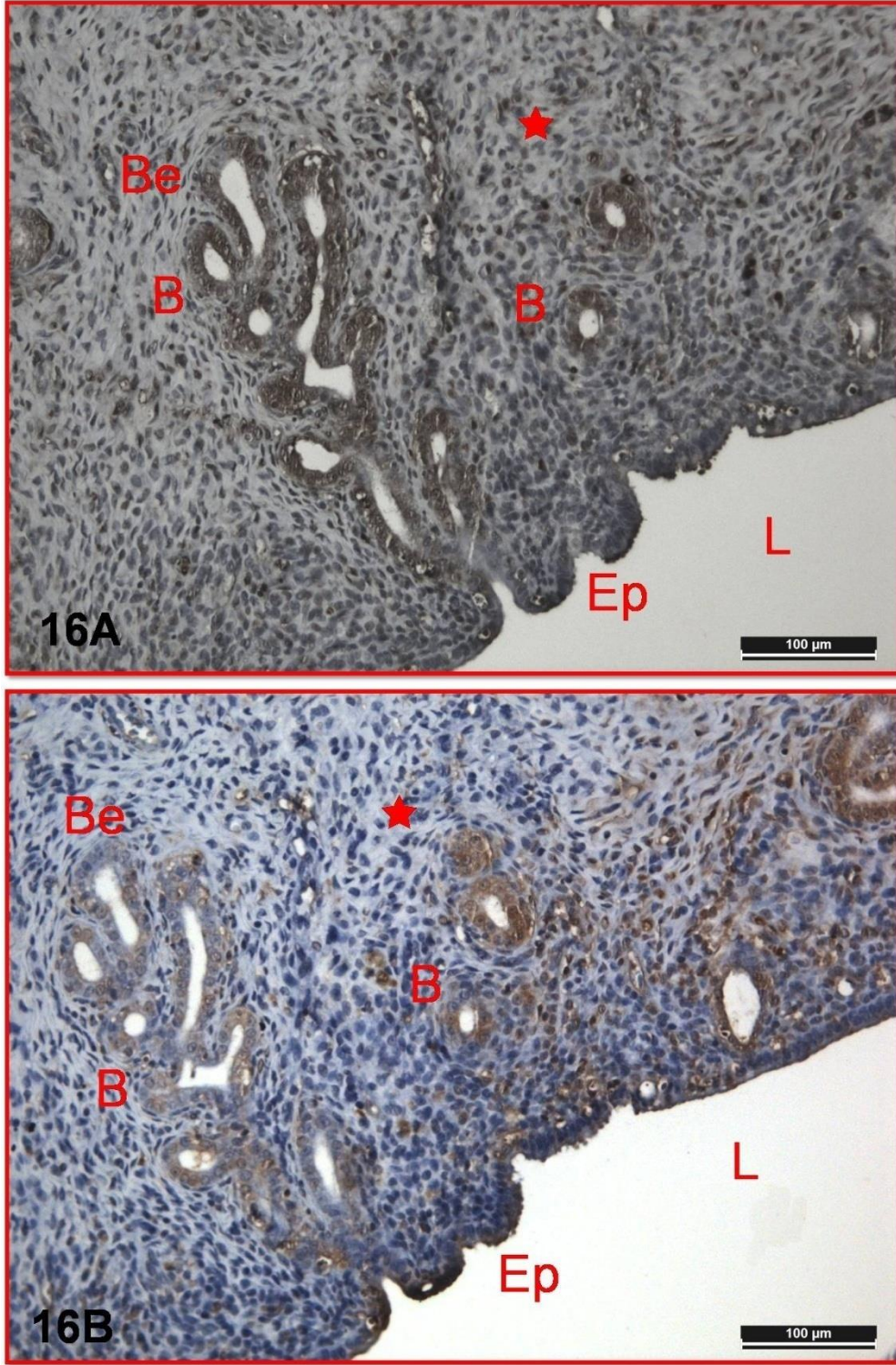
Resim 4.13. A, B: Kontrol gruplarında integrin β_1 ve E-kaderin primer antikorları ile yapılan değerlendirmede uterus dokusunda integrin β_1 ' in immünreaktivitesi yüzey epitelinde (Ep), bez (B), bez epitelinde (Be), stromada (★), arkuat arterlerde (A) ve perimetriumda (P), E-kaderin primer antikoruna göre daha zayıf izleniyor. İntegrin β_1 ve E-kaderin primer antikorlarının miyometriyumda (My), immünreaktivitesi negatif olarak izleniyor (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 20, X20)



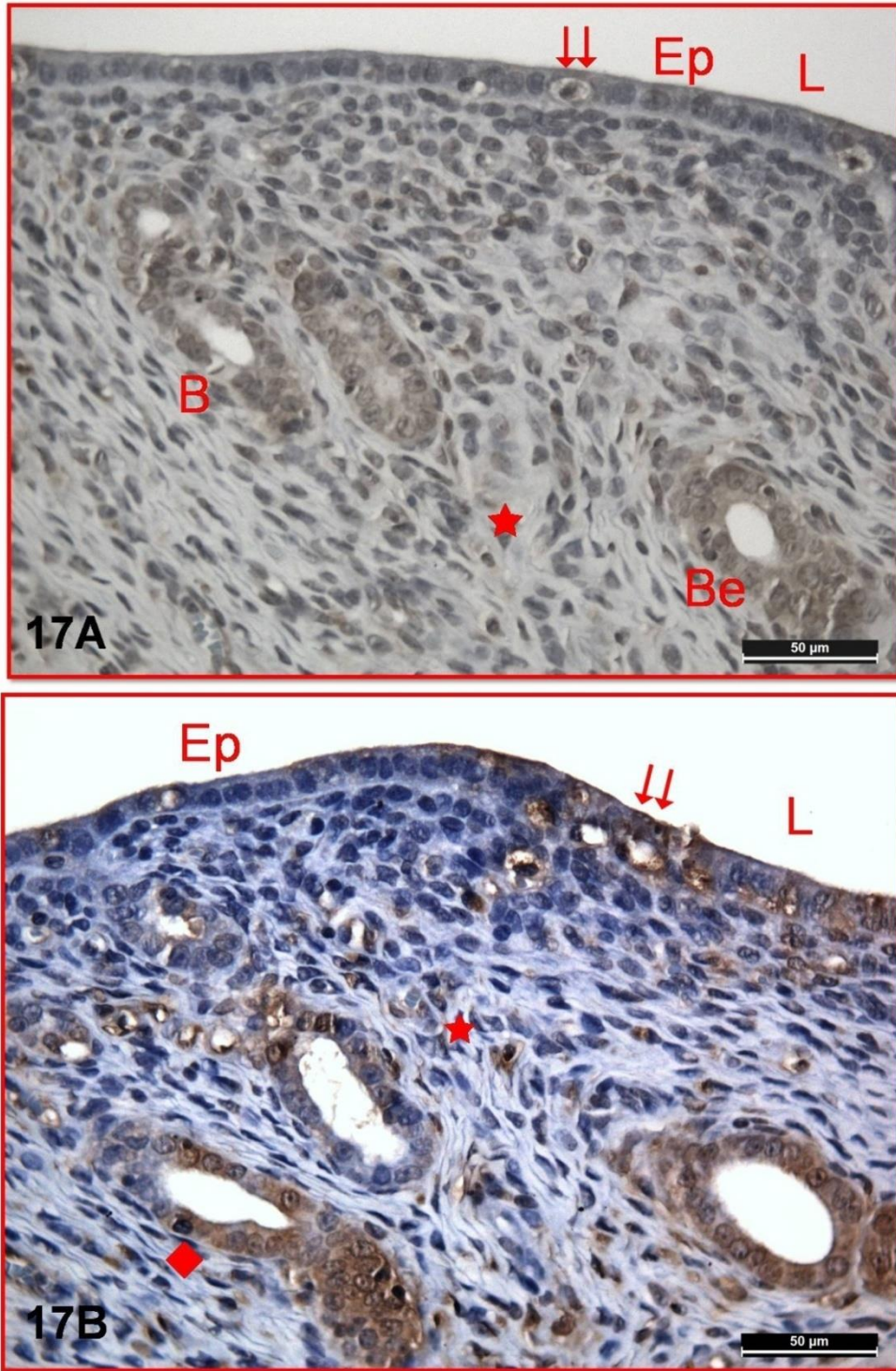
Resim 4.14. A, B: Kontrol gruplarında integrin $\beta 1$ ve E-kaderin primer antikorları ile yapılan değerlendirmede uterus dokusunda integrin $\beta 1$ 'in immünreaktivitesi yüzey epitelinde (Ep), stromada (★), arkuat arterlerde (A) ve perimetriumda (P), E-kaderin primer antikoruna göre daha zayıf izleniyor. E-kaderin primer antikorlarının endometriyumun fonksiyonel tabakasına ait kapiller endotel ve bazı stromal hücrelerin de sitoplazmik E-kaderin immünreaktivitesi pozitif olarak izleniyor (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 20, X20)



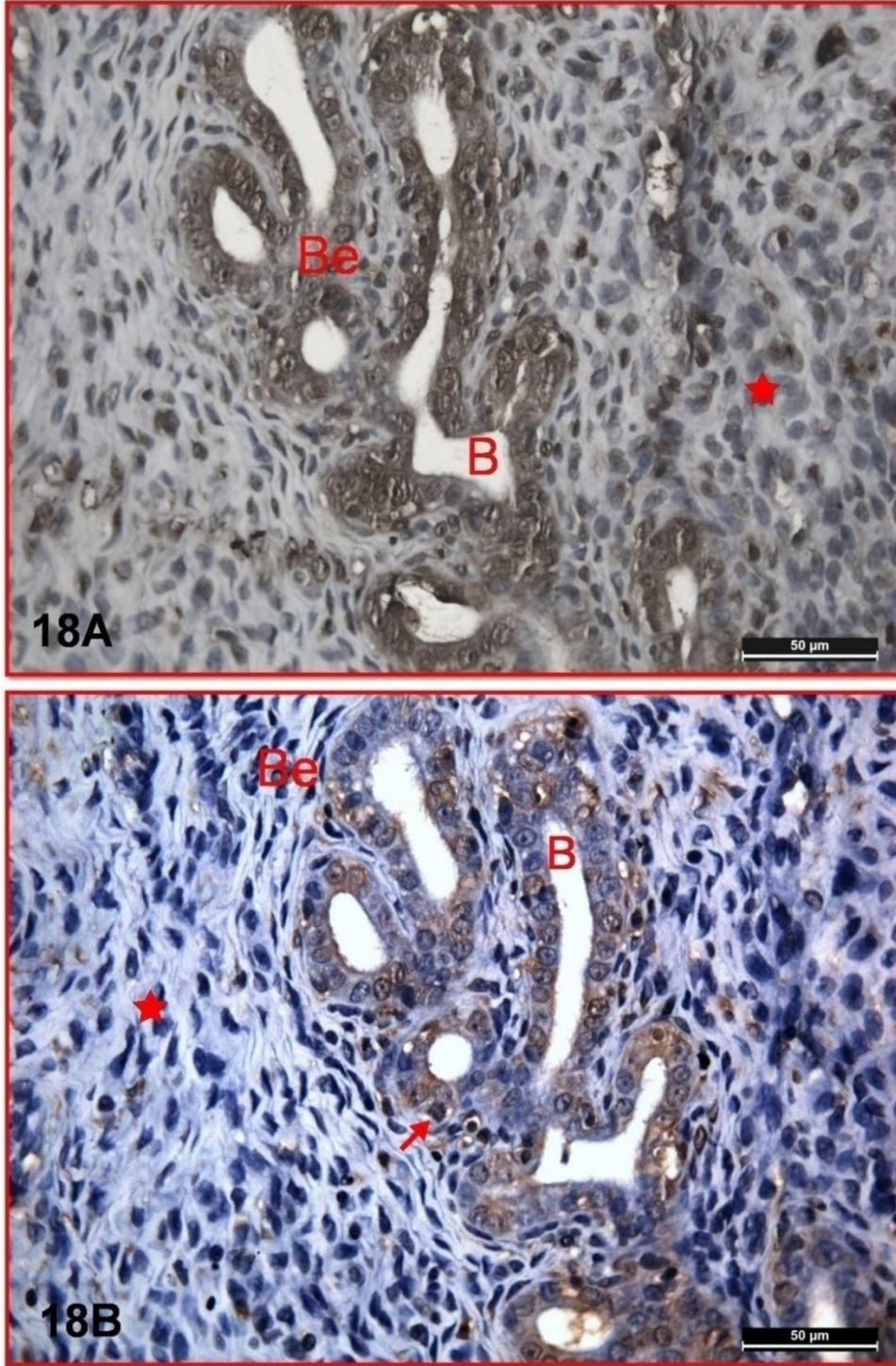
Resim 4.15. A, B: Deney 1 (3 tekrar) gruplarında integrin β_1 ve E-kaderin primer antikorları ile yapılan değerlendirmede uterus dokusunun her iki antikorun organ genelinde immünreaktivitesinin belirgin olarak azaldığı gözleniyor. **L**: Lümen, **Ep**: Yüzey epiteli, **★**: Stroma, **B**: Bez, **En**: Endometriyum, **My**: Miyometriyum, **P**: Perimetrium (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 4, X4)



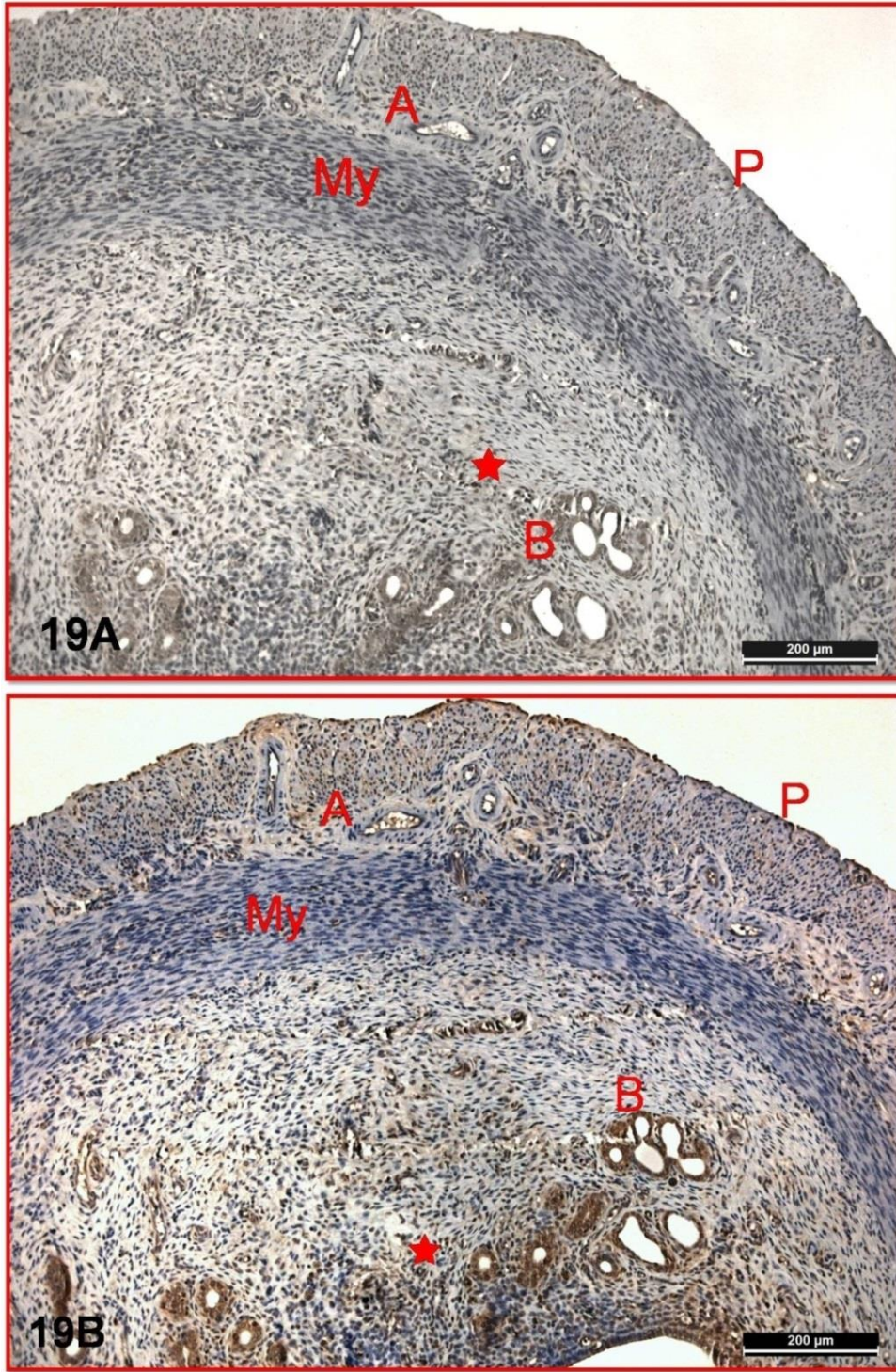
Resim 4.16. A: Deney 1 (3 tekrar) grubunda integrin β_1 primer antikoruna ile yapılan değerlendirmede uterus dokusunda stromada (★) ve stromal hücrelerde integrin β_1 tutulumunun yaygınlığının ve immünreaktivitesinin zayıftan ortaya değiştii gözleniyor. B: E- kaderin primer antikorunun stromada (★) ve stromal hücrelerde immünreaktivitesi orta dereceli izleniyor. L: Lümen, Ep: Yüzey epiteli, B: Bez, Be: Bez epiteli (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 20, X20)



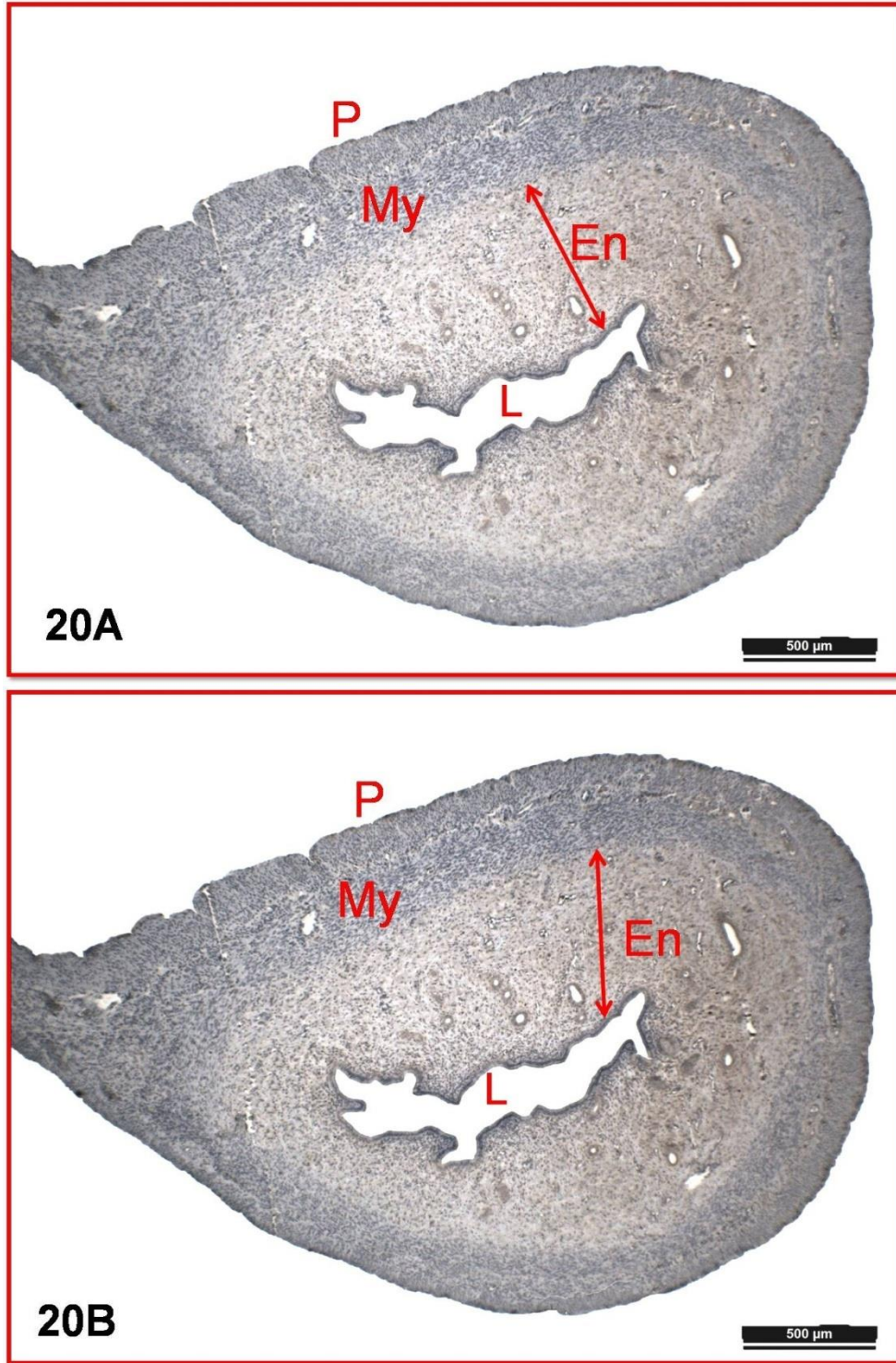
Resim 4.17. A: Deney 1 (3 tekrar) grubunda uterus yüzey epitelinde integrin $\beta 1$ primer antikorunun immünreaktivitesi negatif veya zayıf olduğu dikkat çekiyor. B: E-kaderin primer antikorunun yüzey epitelinde immünreaktivitesinin zayıftan ortaya değiştiği görülüyor. **L:** Lümen, **Ep:** Yüzey Epiteli, **★:** Stroma, **B:** Bez, **◆:** Bez epitelinde çekirdek tutulumu, **⇒:** Piknotik çekirdekli apoptotik hücreler (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 40, X40)



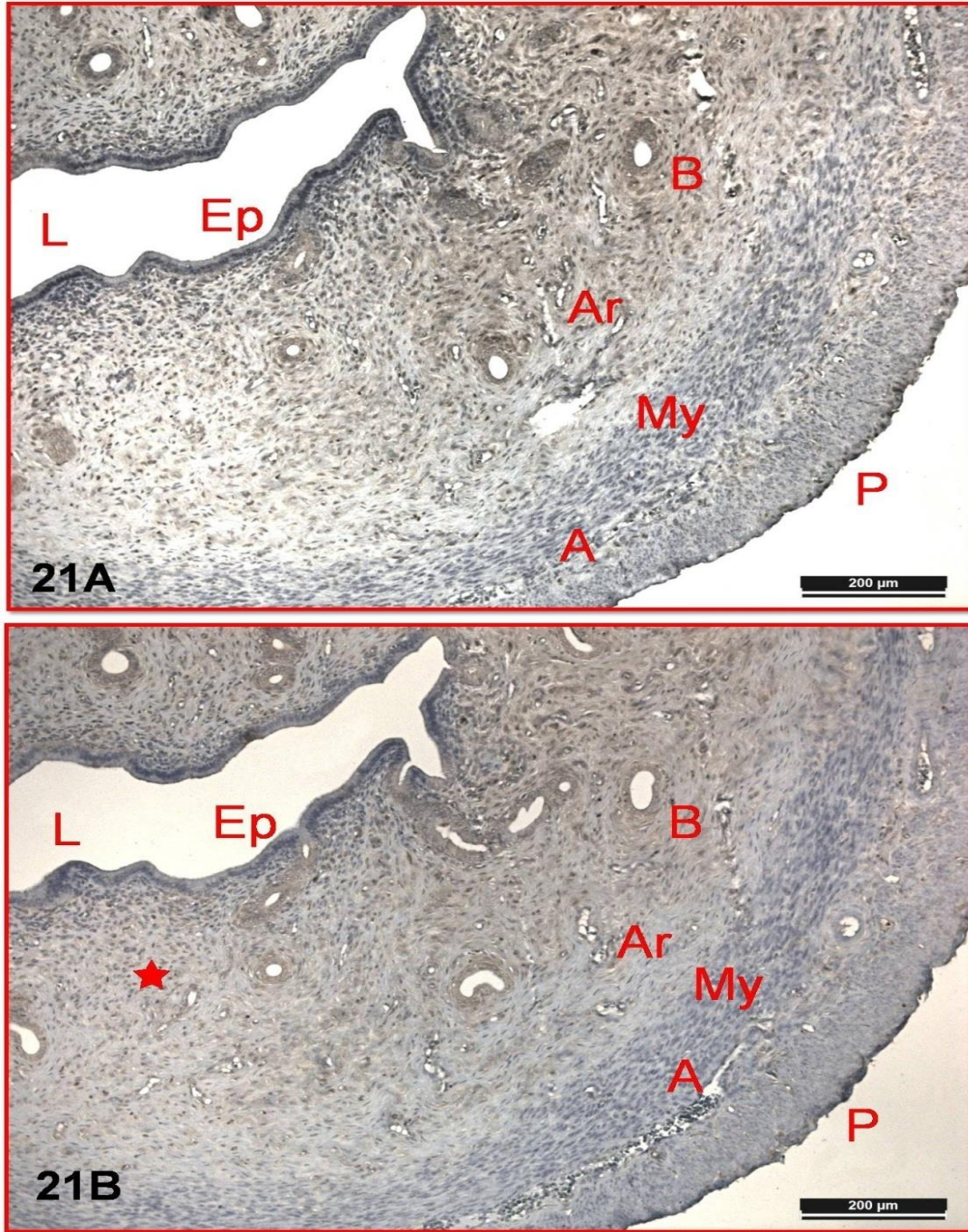
Resim 4.18. A: Deney 1 (3 tekrar) grubunda bez epitelinde (**Be**) integrin β_1 primer antikorunun immünreaktivitesi, orta dereceli sitoplazmik ve membranöz izleniyor. B: E- kaderin primer antikorunun bez epiteli hücrelerinde kuvvetli immünreaktivitesi görülüyor. Ayrıca bazı dejeneratif hücrelerin çekirdeklerinde E-kaderin primer antikorunun tutulumu izleniyor. **B**: Bez, ★: Stroma, ◆: Bez epitelinde çekirdek tutulumu (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 40, X40)



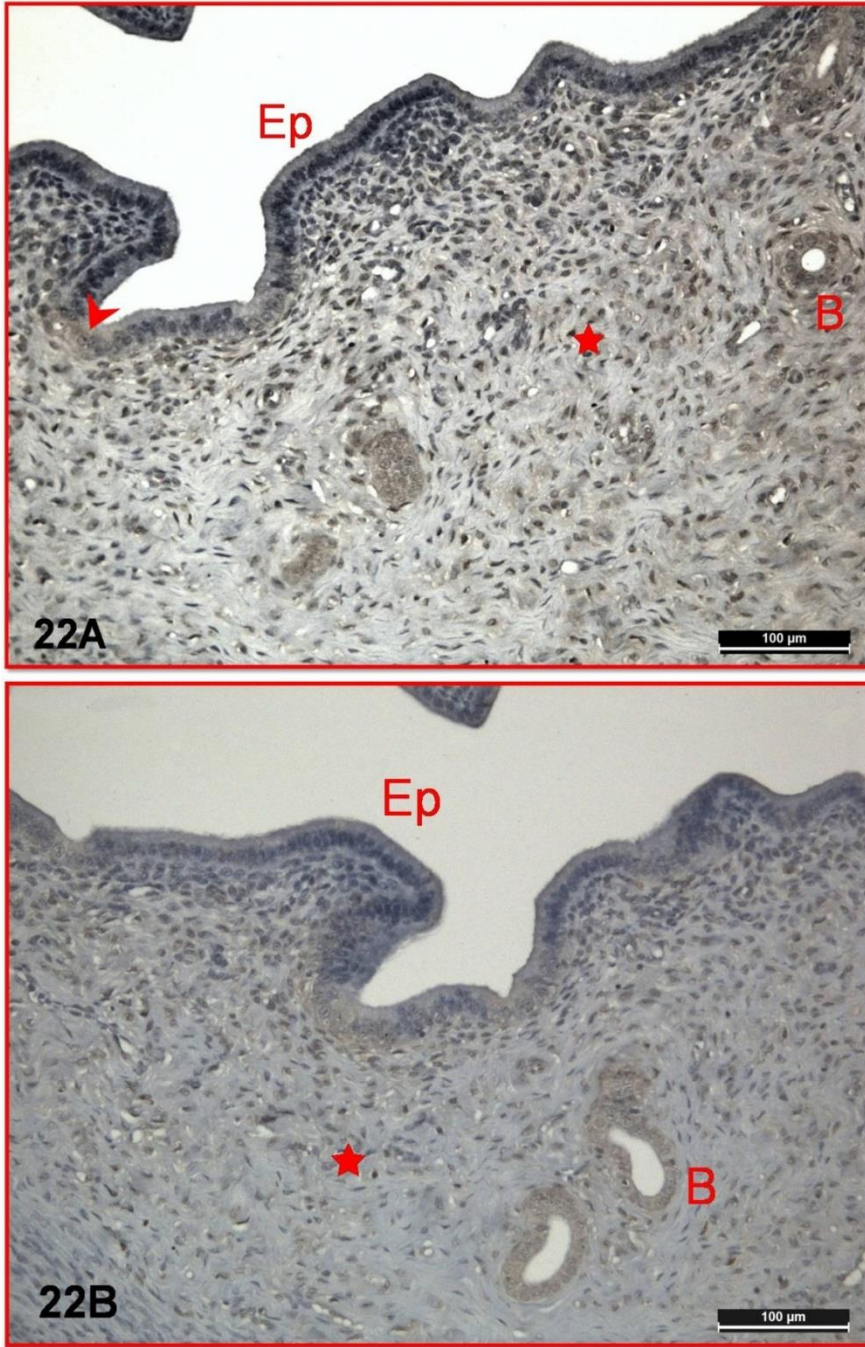
Resim 4.19. A: Deney 1 grubu (3 tekrar) arkuat arterlerinin(A) ve perimetriyum tabakasının (P) hücrelerinde integrin $\beta 1$ primer antikorunun zayıftan ortaya değişen immünreaktivitesi dikkat çekiyor. B: E- kaderin primer antikorunun immünreaktivitesi arkuat arterlerin endotel hücrelerinde orta dereceli olarak gözleniyor. İntegrin $\beta 1$ ve E-kaderin primer antikorlarının miyometriyumda (My) immünreaktivitesi negatif gözleniyor. Ep: Yüzey epiteli, B: Bez, ★: Stroma (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 10, X10)



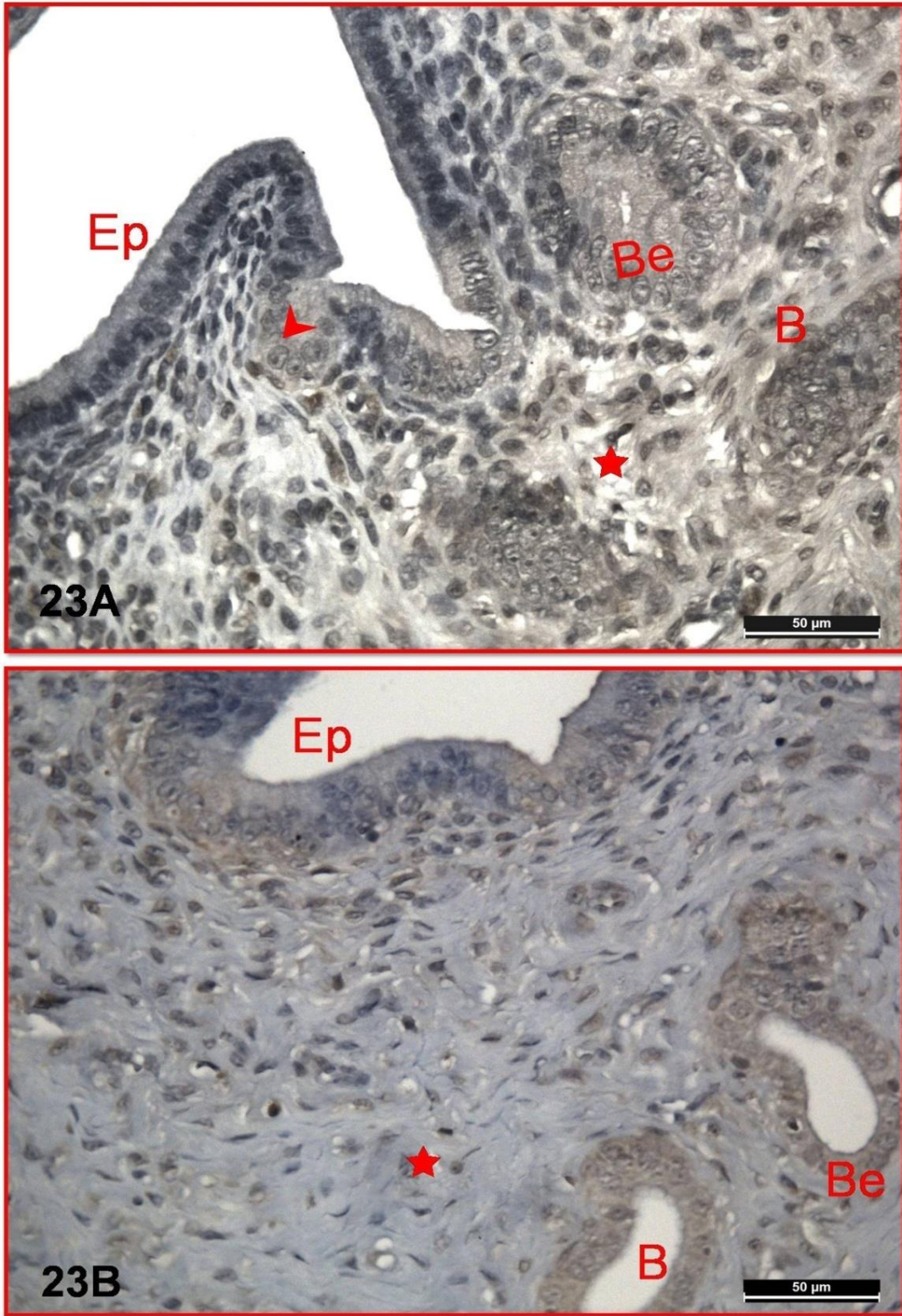
Resim 4.20. A, B: Deney 2 (5 tekrar) grubunda uterus kesitlerinde integrin β_1 ve E-kaderin primer antikorlarının organ genelinde immünreaktivitesinin oldukça zayıf olduğu gözleniyor. **L:** Lümen, **En:** Endometriyum, **My:** Miyometriyum, **P:**Perimetriyum. (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 4, X4)



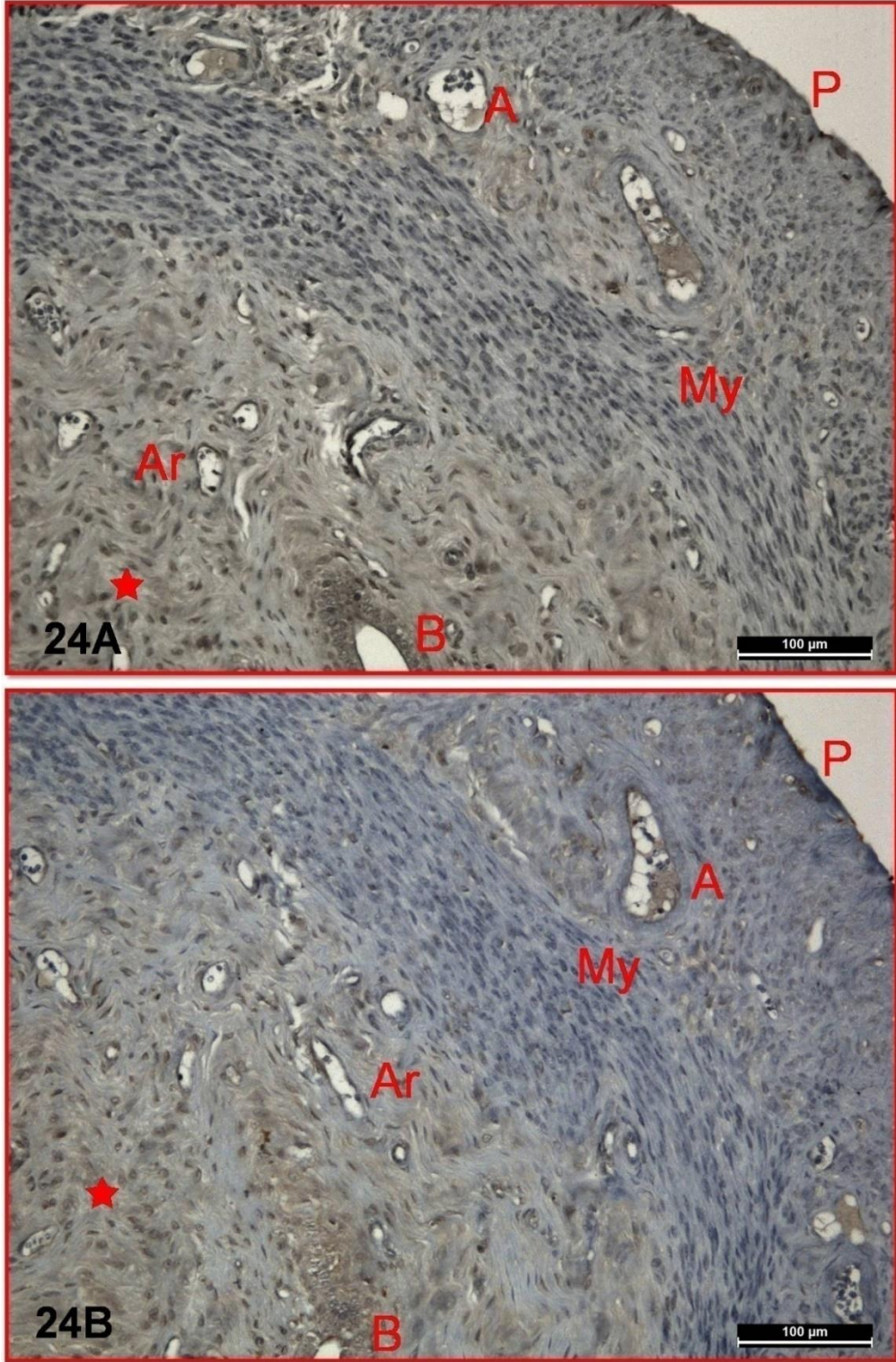
Resim 4.21. A, B: Deney 2 (5 tekrar) grubunda uterus kesitlerinde miyometriyumda (**My**) integrin β_1 ve E-kaderin primer antikorlarının immünreaktivitesi negatif izleniyor. Miyometriyumun iç sirküler ve dış longitudinal düz kas katmanları arasında yerleşik bağ doku hücrelerinde oldukça zayıf yer yer orta dereceli integrin β_1 ve E-kaderin immünreaktivitesi gözleniyor. **L**: Lümen, **Ep**: Epitel, **B**: Bez, **★**:Stroma, **Ar**: Arteriyol, **A**: Arkuat arter, **P**: Perimetrium (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 10, X10)



Resim 4.22. A, B: Deney 2 (5 tekrar) grubunda uterus kesitlerinde yüzey epitelinde (**Ep**) integrin $\beta 1$ immünreaktivitesinin son derecede azalmış olduğu dikkat çekiyor. Yüzey epitelindeki bazı dejenere hücrelerinden ($\blacktriangleleft$) integrin $\beta 1$ primer antikorunun zayıf immünreaktivitesi izleniyor. E- kaderin primer antikorunun bu grupta yüzey epitelinde immünreaktivitesinin oldukça zayıf olduğu gözlemleniyor. **B:** Bez, **Be:** Bez epiteli, $\star$:Stroma (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X 20, X20)



Resim 4.23. A, B: Deney 2 (5 tekrar) grubunda uterus kesitlerinde integrin $\beta 1$ ve E kaderin primer antikorlarının bez epitelinde (Be) immünreaktivitesi oldukça zayıf gözleniyor. Ep: Yüzey epiteli, $\blacktriangleleft$: Yüzey epitelinde dejenere hücrelerde zayıf tutulum ★: Stroma (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X40, X40)



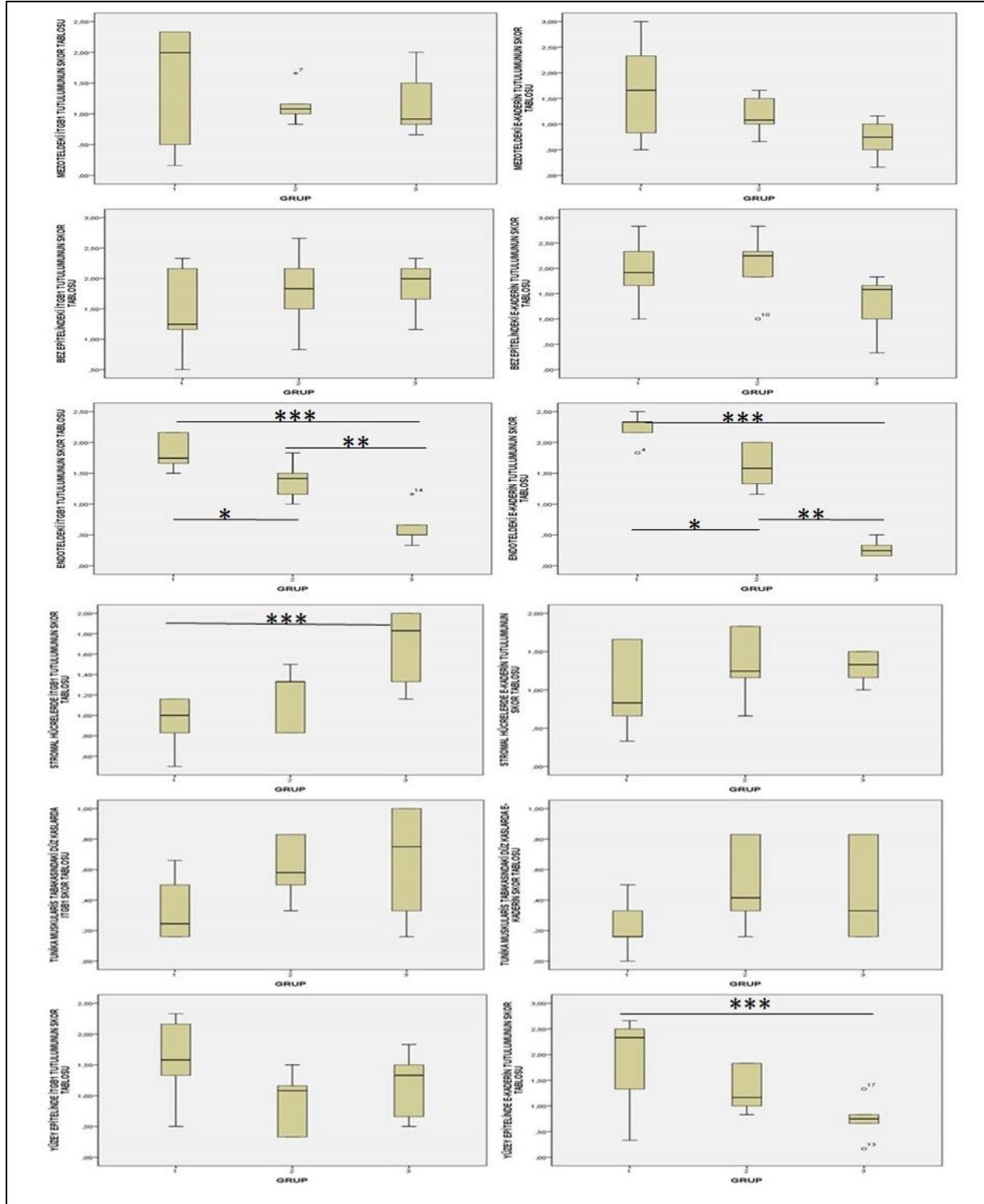
Resim 4.24. A, B: Deney 2 (5 tekrar) grubunda uterus kesitlerinde integrin $\beta 1$ primer antikorlarının tüm uterus duvarı damar yapılarının endotel hücrelerinde zayıf immünreaktivitesi gözleniyor. Miyometriyumun düz kas katmanları arasında yerleşik bulunan arkuat arterlere (A) ait endotel hücrelerinde E- kaderin primer antikoruna ait immünreaktivite negatif izleniyor. **B:** Bez, **★:** Stroma, **My:** Miyometriyum, **Ar:** Arteriyol, **P:** Perimetriyum (İmmünperoksidaz & Hematoksilen X20, X20)

Çizelge 4.5. İmmunohistokimya tanımlayıcı veriler

Parametre	Grup no	Ortalama değer	Standart hata	Ortanca değer	Standart sapma	En düşük değer	En yüksek değer
YÜZEY EPİTELİNDEKİ E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	1,913	0,369	2,330	0,905	0,33	2,66
	2	1,303	0,179	1,165	0,438	0,83	1,83
	3	0,747	0,153	0,748	0,375	0,17	1,33
YÜZEY EPİTELİNDE İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	1,580	0,274	1,58	0,671	0,50	2,33
	2	0,913	0,196	1,08	0,48	0,33	1,50
	3	1,191	0,208	1,33	0,510	0,50	1,83
MEZOTELDEKİ E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	1,663	0,377	1,66	0,925	0,50	3,00
	2	1,163	0,149	1,08	0,365	0,66	1,66
	3	0,718	0,147	0,745	0,360	0,16	1,16
MEZOTELDEKİ İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	1,551	0,395	1,995	0,969	0,16	2,33
	2	1,135	0,116	1,08	0,285	0,83	1,66
	3	1,136	0,209	0,915	0,512	0,66	2,00
BEZ EPİTELİNDEKİ E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	1,941	0,253	1,915	0,619	1,00	2,83
	2	2,08	0,253	2,245	0,620	1,00	2,83
	3	1,33	0,231	1,58	0,566	0,33	1,83
BEZ EPİTELİNDEKİ İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	1,44	0,280	1,245	0,687	0,50	2,33
	2	1,801	0,251	1,83	0,616	0,83	2,66
	3	1,883	0,175	1,99	0,430	1,16	2,33
ENDOTELDEKİ E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	2,246	0,094	2,33	0,230	1,83	2,50
	2	1,608	0,141	1,58	0,346	1,16	2,00
	3	0,273	0,056	0,245	0,138	0,16	0,50
ENDOTELDEKİ İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	1,828	0,113	1,745	0,277	1,50	2,16
	2	1,386	0,119	1,41	0,292	1,00	1,83
	3	0,608	0,118	0,50	0,289	0,33	1,16
STROMAL HÜCRELERDE E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,995	0,227	0,83	0,556	0,33	1,66
	2	1,328	0,183	1,24	0,448	0,66	1,83
	3	1,303	0,091	1,33	0,223	1,00	1,50
STROMAL HÜCRELERDE İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,941	0,101	1,00	0,248	0,50	1,16
	2	1,191	0,117	1,33	0,287	0,83	1,50
	3	1,691	0,152	1,83	0,374	1,16	2,00
TUNİKA MUSKULARİS TABAKASINDAKİ DÜZ KASLARDA E-KADERİN SKOR TABLOSU	1	0,218	0,07	0,16	0,173	0,00	0,50
	2	0,496	0,114	0,415	0,279	0,16	0,83
	3	0,44	0,127	0,33	0,311	0,16	0,83
TUNİKA MUSKULARİS TABAKASINDAKİ DÜZ KASLARDA İTGB1 SKOR TABLOSU	1	0,328	0,086	0,245	0,211	0,16	0,66
	2	0,608	0,082	0,58	0,200	0,33	0,83
	3	0,665	0,156	0,75	0,382	0,16	1,00

Çizelge 4.6. İmmünohistokimya karşılaştırma istatistiksel test sonuçları

Parametreler	P değerleri	Grup (1)	Grup (2)	P değeri
ENDOTELDEKİ E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0	1	2	0,002
			3	0,000
		2	1	0,002
			3	0,000
ENDOTELDEKİ İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0	1	2	0,043
			3	0,000
		2	1	0,043
			3	0,001
YÜZEY EPİTELİNDE E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,18	1	2	0,236
			3	0,014
		2	1	0,236
			3	0,295
STROMAL HÜCRELERDE İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,011*	1	2	0,362
			3	0,009
		2	1	0,362
			3	0,082
MEZOTELDEKİ E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,053	-	-	-
MEZOTELDEKİ İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,464	-	-	-
BEZ EPİTELİNDEKİ E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,105	-	-	-
BEZ EPİTELİNDEKİ İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,404	-	-	-
STROMAL HÜCRELERDE E-KADERİN TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,357	-	-	-
TUNİKA MUSKULARİS TABAKASINDAKİ DÜZ KASLARDA İTGB1 SKOR TABLOSU	0,113	-	-	-
TUNİKA MUSKULARİS TABAKASINDAKİ DÜZ KASLARDA E-KADERİN SKOR TABLOSU	0,161	-	-	-
YÜZEY EPİTELİNDE İTGB1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,152	-	-	-



Şekil 4.5. E-kaderin ve İTGB1 primer antikorlarının bölgelere göre immünreaksiyon yoğunluklarına grafikler ($p < 0,05$ * işaretiyle gösterilmiştir, *:grup 1-2 arası, **:2,3 arası, ***:1-3 arası anlamlı farklılıklar)

4.2. Elısa Bulguları

Deney gruplarında, estradiol düzeyi kontrol gruplarına göre artmış şekilde izlendi ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Estradiol seviyeleri deney 2 grubunda deney1 grubundan fazla şekilde tespit edildi ancak bu grupların arasındaki farklılık anlamlı değildi.

Lüteinleştirici hormon düzeyleri kontrol ve deney2 grupları arasında anlamlı görülmezken, kontrol ve deney 1 grupları arasında anlamlı fark saptandı. LH açısından en fazla artış görülen grup deney1 grubu olarak izlendi. Deney gruplarındaki LH düzeyi kontrol grubuna göre artmış şekilde tespit edildi ve deney grupları arasında anlamlı fark bulundu.

FSH düzeylerinde kontrol ve deney1 grupları arasında istatistik açıdan anlamlı fark tespit edildi ve en fazla FSH artışı deney1 grubunda gözlemlendi. FSH düzeyleri deney gruplarında artış gösterirken bu grupları arasında anlamlı fark bulunamadı.

Deney 2 gruplarında FSH kontrol gruplarından fazla görüldüğü halde, iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı.

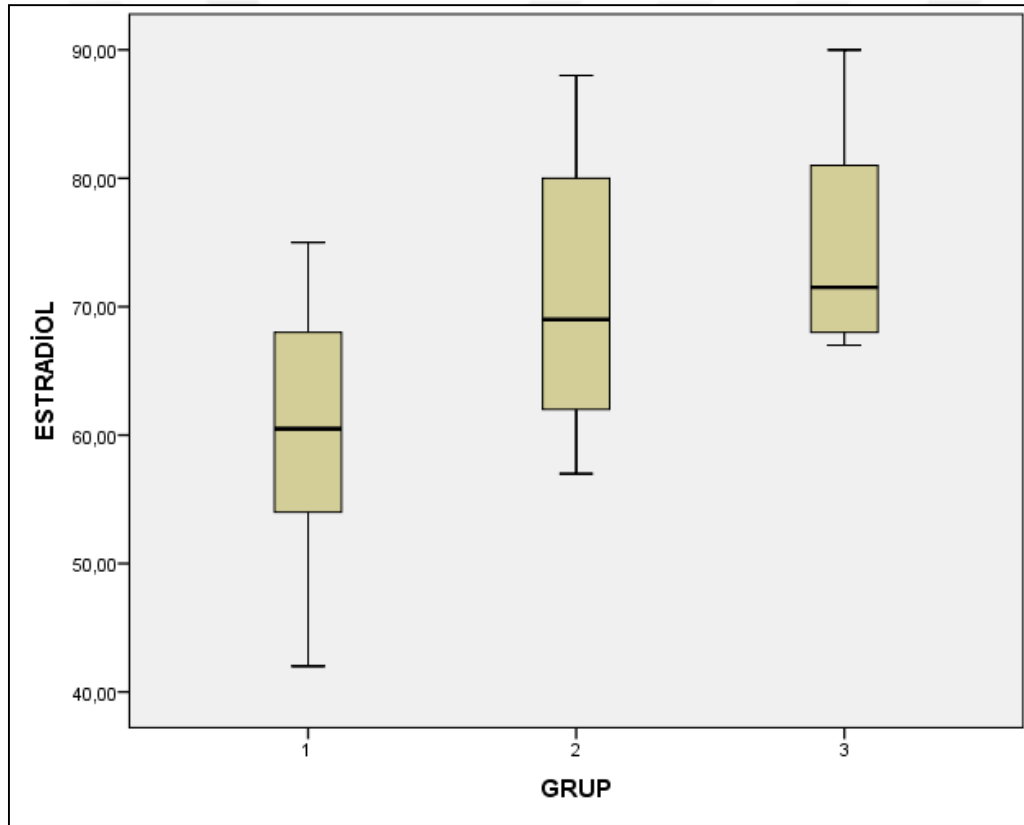
Tanımlayıcı veriler ve istatistiksel sonuçlara ilişkin veriler “Çizelge 4.7” ve “Çizelge 4.8” de verilmiştir. Hormonlara ilişkin grafikler “Şekil 4.6-4.8” de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Gruplar arası hormon değerlerinin parametreleri

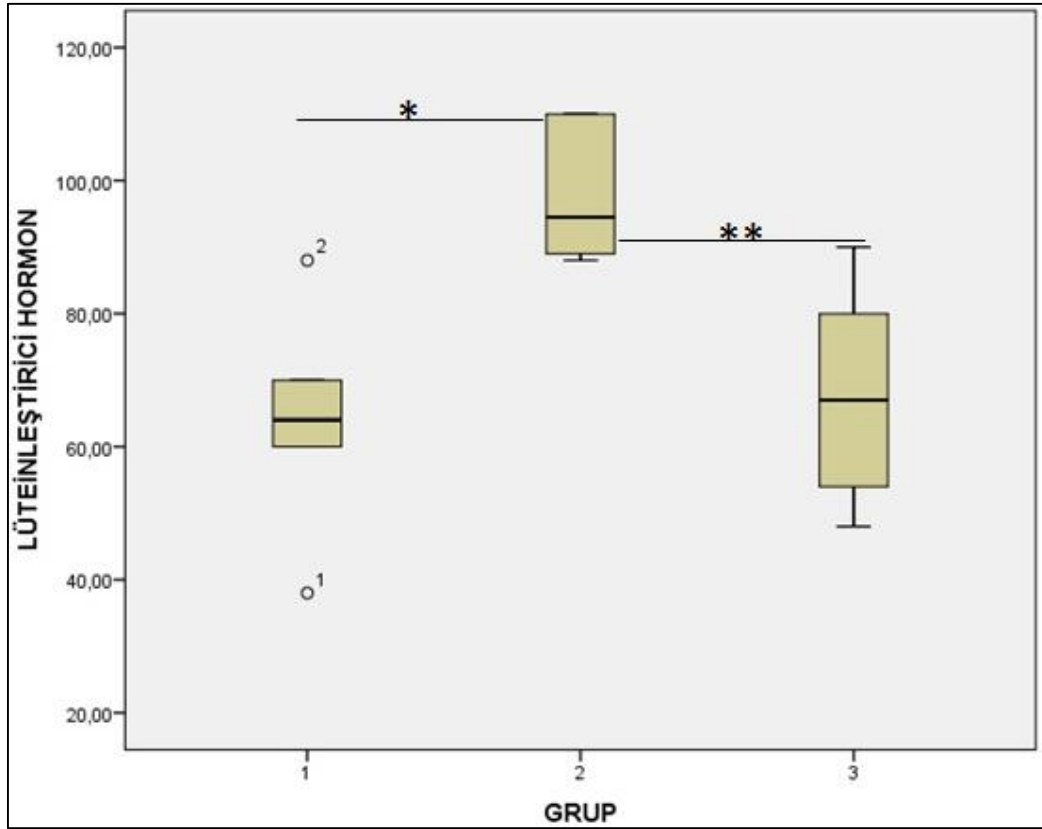
Parametreler	Grup no	Ortalama değer	Standart hata	Ortanca değer	Standart sapma	En düşük değer	En yüksek değer
E2	1	60,00	4,946	60,50	1,211	42,00	75,00
	2	70,83	4,672	69,00	1,144	57,00	88,00
	3	74,83	3,754	71,50	9,196	67,00	90,00
LH	1	64,00	6,613	64,00	1,619	38,00	88,00
	2	97,66	4,294	94,50	1,051	88,00	110,00
	3	67,66	7,102	67,00	1,739	48,00	90,00
FSH	1	18,50	2,446	19,50	5,991	9,00	25,00
	2	42,50	6,125	47,50	1,500	18,00	56,00
	3	23,38	6,143	23,00	1,504	5,80	42,00

Çizelge 4.8. Gruplar arası hormonların p değerleri

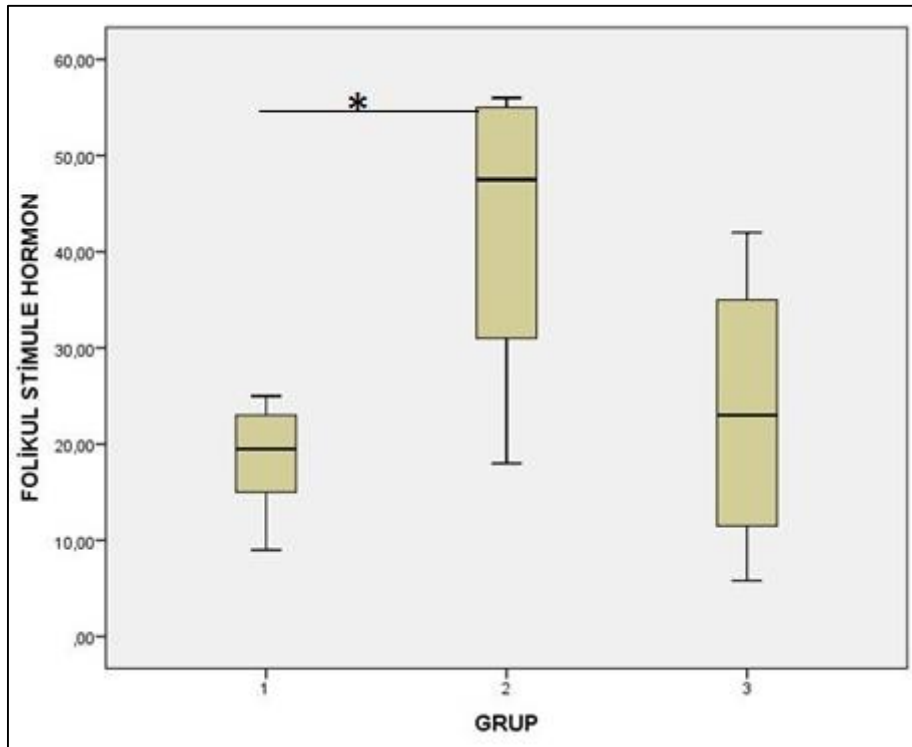
Parametreler	P değerleri	Grup (1)	Grup (2)	P değeri
E2	0,085	1	2	0,370
			3	0,115
		2	1	0,370
			3	0,890
LH	0,003	1	2	0,007
			3	0,976
		2	1	0,007
			3	0,019
FSH	0,013	1	2	0,028
			3	0,864
		2	1	0,028
			3	0,148



Şekil 4.6. Estradiol hormonuna ilişkin grafik. Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır



Şekil 4.7. Lüteinleştirici hormonuna ilişkin grafik ($p < 0,05$ * işaretiyle gösterilmiştir, *:grup 1-2 arası, **:2,3 arası, ***:1-3 arası anlamlı farklılıklar)



Şekil 4.8. Folikül stimule hormonuna ilişkin grafik ($p < 0,05$ * işaretiyle gösterilmiştir, *:grup 1-2 arası, **:2,3 arası, ***:1-3 arası anlamlı farklılıklar)

5. TARTIŞMA

İnfertilite (kısırlık), korunmasız şekilde, düzenli cinsel ilişki varlığına karşın, bir yıllık süreç sonunda gebe kalınamaması, olarak tanımlanır ve günümüzde çiftlerin %10 - 20' sini etkileyebilen bir sorundur. İnfertilitede, kadınlara ve erkeklere ilişkin nedenler benzer oranlarda (%40 - 45) görülebilir [1].

Kadın ve erkeklerde, üreme sistemleri, gamet hücrelerin üretimi (gametogenez) ve üreme hormonlarının salgılanması (steroidogenez) gibi fonksiyonları içermektedir [1].

İnfertilitenin tedavisinin, canlı doğumların %1, 33' ünün, İn - vitro fertilizasyon (IVF) ve İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yardımla üreme teknikleri (YÜT) ile sağlandığı bilinmektedir [2].

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyonu (KOH), infertilite tedavisinde yaygın bir uygulamaya sahip olan, yardımla üreme teknikleri (YÜT) dahilinde, ovaryumlardan en ideal sayı ve kalitede oosit elde etmek amacıyla aynı siklusta çok sayıda follikülün geliştirilmesi esasına dayanan bir uygulamadır ve bu amaçla pek çok KOH protokolü bulunmaktadır [3].

YÜT uygulamalarında ovaryumların uyarılması için, birçok ajan kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın kullanılanlar klomifen sitrat (KS) ve gonadotropinlerdir. KS, Selektif Östrojen Reseptör Modülatörleri (SERM) içerisinde trifeniletillen grubunda yer alır ve östrojenik, antiöstrojenik etkisi olan nonsteroidal yapıda sentetik bir östrojendir. KS, intrasellüler östrojen reseptörlerine bağlanarak, etkisini bu reseptörü birkaç hafta süreyle baskılayarak gösterir. KS önce zayıf östrojenik etkiye neden olur, daha sonra ise uzun süre reseptörü bloke ederek antiöstrojenik etki gösterir. KS, östrojenin hipotalamohipofizer sistemdeki negatif etkisini baskılar ve hipotalamohipofizer sistemden gonadotropin salınımının artmasına neden olur [65, 78, 79].

Nagao ve arkadaşları, yeni doğmuş erkek ve dişi ratlara oral yollarla, artan dozlarda (2 / 4 mg / kg KS ve yüksek doz 8 mg / kg KS) KS' nin verilmesinin, gelişen üreme kanalı üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Tüm gruplarda dişi ratların miyometriyumunda hipertrofi ve yüksek doz KS uygulanan grupta yüzey veya bez epitelinde hipertrofi ve uterus lümeninde dilatasyon olduğu saptanmıştır. 10 haftalık dişilerde düşük ve yüksek doz

KS' ye maruz kalan grupların her ikisinde de folliküler atrezide önemli bir artış ve uterus yüzey epitelinde hipertrofi ile epitel yüksekliğinde kontrole karşın belirgin bir artış olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak KS' ın erkek ve dişi ratlarda üreme organlarında histopatolojik anormalliklere neden olabileceği düşünülmüştür [120].

Özdemir ve arkadaşları, uzun süreli KS uygulamasının (1, 4 ve 8 mg dozlarda) rat ovaryumu ve endometriyumundaki histopatolojik değişikliklere olan etkisini ve uygulanan dozla olan ilişkisini araştırmışlardır. Yüksek doz KS uygulanan gruptaki endometrial bez çapı ve endometrial kalınlıklarının ortalama değerinin kontrol ve düşük doz KS uygulanan gruplardan daha düşük olduğu saptanmıştır. Kontrol ve düşük doz klomifen uygulanan ratların vücut ağırlıklarının diğer gruplara kıyasla artış gösterdiği, orta ve yüksek doz KS uygulanan ratların ise vücut ağırlıklarının azalmış olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak yüksek doz ve uzun süreli tekrarlanan KS tedavisinin endometrial kalınlıkta incelmeye açısından zararlı etkilere, endometrial bez çapında azalmaya gibi değişikliklere neden olabileceği önerilmiştir [121].

Bir diğer çalışmada Bonhoff ve arkadaşları, infertil kadınlarda orta luteal dönemde KS uygulamasının endometrial farklılaşmaya olan etkisini araştırmışlardır. KS uygulaması sonrası endometrial bez sayısının, bez epitel hücre yüksekliğinin azaldığı gözlemlenmiştir. Klomifen uygulaması sonrasında endometrial gelişimde düzensizlik ve artan stromal ödem tespit edilmiştir. KS tedavisi sonrasında kontrol ve tedavi grupları arasında luteal dönemin erken safhasındaki biyopsilerde bez sayısı ve bez epitel yüksekliği gibi, bez gelişimiyle ilgili ölçülebilir farklılıklar görülmüştür. Ancak 2 grup arasında bez çapında farklılık tespit edilmemiştir. Orta luteal dönemden geç luteal döneme kadar bez boyutunun daha az yükseldiği saptanmıştır. İmplantasyon için hassas olan erken luteal dönemde bozulmuş endometrial gelişim tanımlanmıştır. KS uygulaması alan grupta orta derecede estradiol ve progesteron seviyelerinde artış tespit edilmiştir. Bu artışın ise erken luteal dönemde kontrol grupla benzer olduğu saptanmıştır. Geç luteal dönemde KS grubunda bez gelişiminde de gecikme olduğu tespit edilmiştir. Plazma steroidleri, KS alan grupta yüksek seviyede bulunmuştur. Sonuç olarak endometriyumda KS uygulaması sonrasında görülen farklılıkların embriyonun ve uterusun gelişimi açısından implantasyon sonuçları için olumsuz etkiye neden olabileceği önerilmiştir [122].

Biz de yaptığımız çalışmada, intraperitoneal olarak PMSG ve İkg ile 3 ve 5 tekrar kontrollü ovaryan hiperstimulasyonu uygulayarak, uterus dokusu üzerine yaptıkları değişimi immünohistokimyasal olarak gösterdik. Nagao ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada, KS uygulaması yapılan gruplarda uterus epitel yükseklikleri ve uterus yüzey epitelinde hipertrofi deney grubunda artış göstermiştir. Değerlendirmeler sonucunda bu çalışmaya benzer olarak bizim çalışmamızda tekrarlanan KOH protokolüyle tüm duvar kalınlığı, endometriyum ve miyometriyum kalınlığında belirgin artış olduğu gösterilmiştir. Endometriyum kalınlığının deney grupları ile kontrol grubu arasındaki farkı anlamlı bulunurken, miyometriyum kalınlığının sadece deney 2 ve kontrol grubu arasında anlamlı farkı bulunmuştur. Tüm duvar kalınlığı parametrelerinin gruplar arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yüzey epitelinde hiperplazi, hipertrofi, bez lümeninde dilatasyon, arter arteriollerde dilatasyon, arter arteriol duvarında ödem parametrelerinin tüm gruplar arasındaki farkı anlamlı saptanmıştır. Tekrarlı KOH protokolleriyle yüzey epitelinin bazal membrandan ayrılması, miyometriyumda bağ doku artışı ve stromal ödemin artışı izlenmiş ve kontrol ve deney grupları arasındaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı farkı olduğu saptanmıştır.

Gonadotropinler, seks hormonlarının üretimini arttırmak ve sperm veya folikül üretimini uyarmak için gonadlar (testis ve ovaryumlar) üzerinde etkili olan anterior hipofiz tarafından sentezlenen ve salgılanan hormonlardır. Folikül stimule edici hormon (FSH) ve lüteinizan hormonlar (LH) ana gonadotropinler, İnsan koryonik gonadotropin (İkg) ise sadece hamilelik sırasında plasenta tarafından üretilen bir gonadotropindir. Gonadotropin üretimi hipotalamus tarafından salınan gonadotropin salgılatıcı hormon tarafından kontrol edilir. Gonadotropinler, kadınlarda olgun folikül ve ovulasyon indüksiyonu üretmek için fertilite tedavisinde kullanılır [123].

Canda ve arkadaşları, ratlarda preimplantasyon döneminde sabit (Grup 3 ve 4) doz rFSH ve azalan dozlarda (Grup 5 ve 6), rFSH ile ovulasyon indüksiyonunun foliküler gelişim, serum hormon seviyeleri ve endometriyumda yarattığı değişiklikleri kontrol gruplarıyla (Grup 1 ve 2) karşılaştırarak araştırmışlardır. 2, 4 ve 6. Gruplar eşleştirilmiştir. Uterus, ovaryum ve kan örnekleri bu gruplardan alınmıştır. Azalan doz rFSH grubunda, estradiol seviyeleri artmış şekilde, Progesteron / E2 oranını azalmış şekilde tespit edilmiştir. rFSH gruplarında endometriyum yüzey epiteli sütunlu, düzensiz ve katlantılı saptanmıştır. Tüm gruplarda endometriyum bez epiteli kübik şekilde gösterilmiştir. Azalan doz gruplarda

endometrial stroma düz ve fibroblastik şekilde gösterilmiştir. rFSH gruplarında mitotik indeksler endometriyum yüzeyinde, bez epitelinde ve stromada önemli derecede azalmıştır. Primer folikül ve progesteron seviyelerinde değişim saptanmamıştır. Eşleşmiş ve eşleştirilmemiş gruplar arasında E2 değerlerinin rFSH grubunda kontrol gruba göre arttığı belirlenmiştir. Eşleşmiş grupta uterus boynuzu dilate ve vaskülarize şekilde gözlenmiştir. Sonuç olarak rFSH' ın azalan doz grubunun, foliküler gelişimin geliştirilmesi için kullanılabileceğini ve periimplantasyon periyodunda E2 ile olumsuz etkiye neden olduğu saptanmıştır [124].

Benadiva ve arkadaşları, kadınlarda İnsan menopozal gonadotropin (İmg) ile süperovulasyonun geç luteal dönemde endometriyuma olan etkisini araştırmışlardır. Superovulasyon sonrası kontrol ve hiperstimule grup arası E2, P, P / E2 oranlarında farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak ovaryum hiperstimulasyonunun geç luteal dönemde, bez epitel olgunlaşmasında ve stromada önemli dissenkroni yarattığı düşünülmüştür [125].

Dursun ve arkadaşları, periimplantasyon sırasında düşük ve yüksek doz İmg (1. ve 2. gruplar) ve düşük ve yüksek doz rFSH (3. ve 4. gruplar) ile ovulasyon indüksiyonu uygulamasına yanıt olarak endometriyumda ve serum leptin seviyesindeki farklılıkları araştırmışlardır. Yüksek doz rFSH grubunda kontrol gruba göre mukozal derinlik artmış şekilde gözlenmiştir. Endometrial yüzey epitel derinliği tüm gruplarda (kontrol grubu hariç) yüksek bulunmuştur. Yüzey epitel derinliği düşük doz İmg grubunda (2, 3 ve 4. gruba göre) önemli derecede düşük tespit edilmiştir. Yüzey epitel derinliği düşük doz İmg grubunda grup 3 (yüksek doz İmg)' e göre önemli derecede düşük tespit edilmiştir. Kontrol grup dışındaki gruplarda mitotik indeks endometrial yüzey epitel ve stromada önemli derecede düşük bulunmuştur. İmplantasyon gününde taban leptin seviyelerinin, önemli olmayan artışı saptanmıştır. İmplantasyon peryodunda eksojen gonadotropin uygulamasının, endometriyum morfolojisini ve embriyoda mitotik indeksi etkilediği bulunmuştur. Farklı dozlarda ajanlar ve farklı ajanlarla ovulasyon indüksiyon uygulamasıyla, Leptin seviyelerinde farklılık görülmemiştir. Sonuç olarak gonadotropinle ovulasyon indüksiyonunun, düşük dozlarda gerçekleştirilmesinin yüksek doz stimulasyona göre endometriyuma olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir [126].

Alizadeh ve arkadaşları, gonadotropinlerle tekrarlanan ovaryum stimulasyonunun, endometriyuma olan etkilerini araştırmışlardır. Deney gruplarında (1, 2, 3, 4 tekrarlı döngü

PMSG) endometriyum yükseklik, bez epiteli, bez eksenini arası önemli farklılık tespit edilmemiştir. Ovulasyon indüksiyonu sonrası deney gruplarında yüzey epitel yüksekliğinde önemli artış saptanmıştır. Sonuç olarak tekrarlı ovaryum stimülasyonunun yüzey epitel yüksekliğinde yarattığı değişimin, implantasyon oranlarının azalmasına neden olabileceği önerilmiştir [127].

Bizim çalışmamızda da 8 haftalık ratlarda PMSG ve İkg ile 3 ve 5 tekrarlı KOH uygulaması sonrasında, 3 tekrar KOH grubunda epitel alçak kübik ve yer yer prizmatik izlenirken, 5 tekrar KOH grubunda alçak boylu kübik veya yer yer yassı olarak dikkati çekmiştir. Deney gruplarında tüm duvar ve endometriyum kalınlıklarında artış ve istatistik olarak anlamlı fark saptanmıştır. Deney gruplarında bez yapılarının ise kontrole kıyasla deney gruplarında dilate görünümüne olduğu ve bez sayısının tekrarlı KOH gruplarıyla birlikte özellikle 5 tekrar grubunda kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği izlenmiştir. Deney grupları ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Lunn ve arkadaşları, PMSG ve iKG'nin ratlara ayrı ayrı ve kombine şekilde ve çeşitli dozlarda verilmesinin ovaryum ve uterus ağırlığına olan etkilerini araştırmışlardır. Hormon uygulamasının ardından hayvanların vücut ağırlıkları, tedavi edilmeyen kontrol gruptakilere benzer bulunmuştur. Yalnız PMSG uygulanan grupta ovaryum ağırlığında önemli derecede azaltıcı etkiye neden olduğu düşünülmüştür. En düşük doz PMSG uygulanan grupta uterus ağırlığında önemli bir azalma not edilmiştir. Yalnız iKG uygulanan düşük doz gruplarda ovaryum ve uterus ağırlıklarında önemli farklılık saptanmamıştır. PMSG ve iKG'nin beraber uygulandığı yüksek doz grubunda, ovaryum ağırlığında önemli bir artış görülmüştür. PMSG'nin artan dozlarda verilmesinin uterus ağırlığını artıran bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır [128].

Özdemir ve arkadaşları, uzun süreli KS uygulamasının (1, 4 ve 8 mg dozlarda) rat ovaryumu ve endometriyumundaki histopatolojik değişikliklere olan etkisini ve uygulanan dozla olan ilişkisini araştırmışlardır. Kontrol ve düşük doz klomifen uygulanan ratların vücut ağırlıklarının diğer gruplara kıyasla artış gösterdiğini, orta ve yüksek doz KS uygulanan ratların ise vücut ağırlıklarının azalmış olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak yüksek doz ve uzun süreli tekrarlanan KS tedavisinin endometrial kalınlıkta inceltme ve ağırlık azaltıcı gibi zararlı etkilere, neden olabileceği düşünülmüştür [121].

Özdemir ve arkadaşlarının düşük doz ve kontrol grupta artan, orta ve yüksek doz ile azalan hayvan ağırlığı çalışmasına benzer şekilde, bizim çalışmamızda hayvan ağırlığının 3 tekrarlı KOH uygulanan grupta en fazla artış gösterdiği ve gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır. Lunn ve arkadaşlarının uterus ağırlık sonuçlarına benzer olarak bizim çalışmamızda uterus ağırlığının 5 tekrarlı KOH grubunda artış gösterdiği ve kontrol ve 5 tekrarlı KOH grubu ve deney grupları arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir.

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon (KOH) genellikle IVF siklusları için serum estradiol (E2) seviyeleri ile incelenmiştir. Serum Estradiol (E2), KOH sırasında, konsantrasyona bağımlı olarak belirli bir seviyeye kadar embriyonik implantasyonu etkilemektedir [129].

Çoklu folikül olgunlaşması, suprafizyolojik serum E2 seviyeleri üreterek uterus reseptivitesindeki endometrial değişimleri morfolojik ve biyokimyasal olarak uyarabilmektedir [130, 131]. İnsanlar ve farelerde KOH, östrojenin suprafizyolojik seviyelerde artışına sebep olur ve bu artan östrojen düzeyleri de embriyo implantasyonunu bozabilmektedir [132 - 134]. Yüksek E2 düzeylerinin endometrial reseptiviteyi bozabileceğini bildirmişlerdir [135].

Artan E2 seviyelerinin değişen veya artan implantasyon oranlarıyla ilişkili bulunmadığı çalışmalar da mevcuttur [136, 137].

Peyghambari ve arkadaşları, farelerde östrojen ve progesteron enjeksiyonunun endometriyumda reseptivite ve implantasyonun gerçekleşmesi için gerekli olan morfolojik ve morfometrik indekslere olan etkisini araştırmışlardır. Progesteron grubunda östrojen ve östrojen ile progesteronun birlikte olduğu gruplara göre bez çapı artmış şekilde görülmüştür. Ancak bez sayısı ve endometriyum kalınlığını östrojen uygulanan grupta daha fazla saptanmıştır. Östrojen ve progesteron gruplarının her ikisinde de stromada dejenerasyon belirtileri görülmüştür. Sonuç olarak progesteronun bezlerdeki etkisine karşılık östrojenin endometriyumda yüzey epiteli yüksekliğini artırıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [138].

Başka bir çalışmada Gunin, ratlarda östrojen uygulanmasının uterus epitelindeki hücre bölünmesine olan etkisini araştırmışlardır. Uterusun yüzey ve bez epitelinde tüm

mitozların bazal membrana paralel gerçekleştiğini ancak östrojen uygulanan grupta mitozların, östrojen uygulaması sonrası arttığını ve bazal membran epiteline dik şekilde olduğu gösterilmiştir. Östrojen tedavili ratlarda proliferatif aktivitenin arttığını bazal membrana dik şekilde mitoz sayısının artış gösterdiğini ve bu mitoz oranının östrojen enjeksiyonuyla arttığı tespit edilmiştir. Farelerde endometrial hiperplazi oluşumunun kronik östrojen tedavisiyle indüklendiğini bazal membrana dik şekildeki mitozların sayısının uterus epitelinde arttığı gözlenmiştir. Epitelde endometrial bezlerde 30' dan 90 güne kadar E2 uygulanmasının bazal membrana dik şekildeki mitoz sayısını azalttığı görülmüştür. Sonuç olarak estradiolün mitoz yönlendirmesine olan etkisinin özel olabileceği düşünülmüştür [139].

Detti ve arkadaşları ovulasyon indüksiyonu sırasında yüksek östrojen seviyelerinin endometrial kalınlığa ve gebelik eldesine olan etkisini araştırmışlardır. Serum estradiol seviyeleri ve endometrial kalınlık arası korelasyon bulunamamıştır. Endometrial kalınlığın 9, 8 mm altında olduğu durumlarda erken gebelik kaybı görülmüştür. Sonuç olarak yüksek E2, serum E2 seviyelerinin endometrial kalınlık arasında korelasyon bulamamışlar ancak kalınlığın incelendiği durumlarda (9,8 mm' den ince) erken gebelik kaybıyla arasında zıt ilişki bulunmuştur [140].

Macrow ve arkadaşları kadınlarda GnSH ile süperovulasyon uygulamasının endometrial yapıya olan etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak ovulasyon indüksiyonu sonrasında E2 ve P seviyelerinin artış gösterdiğini ancak gruplar arasında endometrial bez gelişiminde farklılık olmadığı saptanmıştır [141].

Eden ve arkadaşları, kadınlarda normal foliküler dönemde KS uygulamasının ultrason taramasıyla endometrial kalınlık, uterus büyümesine, estradiol ve serbest androjen seviyelerine olan etkisini araştırmışlardır. KS' nin antiöstrojenik etkisinin uterus, endometriyumun normal döngüsel büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Doğal döngülerde endometrial kalınlığı menstruasyon kanamasından 3 gün önce önemli derecede yüksek bulunmuştur. KS grubunun tüm menstrual siklus boyunca yüksek E2 seviyeleri içerdiği tespit edilmiştir. Menstruasyon sırası haricinde kontrol gruba göre KS grubunda endometriyumu ince şekilde saptanmıştır. KS grubunda önemli derecede yüksek LH, T seviyeleri tanımlanmıştır. 2 grupta da serbest androjen miktarı benzer şekilde tespit edilmiştir. KS, foliküler dönemi uterus hacminin artışının eksikliğiyle karakterize bir

dönemdir, bu dönemi endometrial kalınlığın baskılanmasıyla birlikte tespit edilmiştir. KS' ın uygulandığı grupta foliküler dönemde uterus hacminde azalma ve endometrial kalınlıkta incelme saptanmıştır. Klomifen uygulanan grupta saptanan yüksek östrojen ve LH seviyelerinin endometrial kalınlığı azaltıcı etkiye neden olabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak foliküler dönemde KS uygulamasıyla yüksek LH, E2 seviyelerinin endometrial kalınlık ve uterus hacmini baskılayabileceği önerilmiştir [142].

Haritha ve arkadaşları, KS uygulamasının kadınlarda folikül gelişimi, endometrial kalınlık ve serum estradiol seviyelerine olan etkisini araştırmışlardır. Foliküler dönemde KS uygulamasının olduğu grupta, kontrol gruba kıyasla folikül çapında önemli artış, endometrial kalınlıkta önemli azalma, serum estradiol seviyelerinde ise önemli artış gözlemlenmiştir. Sonuç olarak foliküler dönemde kadınlara KS uygulamasının endometrial kalınlığı azaltan, folikül çapını artıran serum estradiol seviyelerini artıran olumsuz etki yaratabilecek değişikliklere neden olabileceği belirtilmiştir [143].

Nakamura ve arkadaşları, infertil hastalarda, KS uygulanmasının ekogenik dağılım açısından endometriyuma olan etkisini kontrol grupla karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. KS' ın endometriyumu geç proliferatif dönemde olumsuz şekilde etkilediğini ve orta luteal günlerde ekogenik dağılımı değiştirdiği saptanmıştır. KS ile orta luteal günlerdeki endometrial kalınlıkta farklılık tespit edilmemiştir. KS döngüsünde geç proliferatif dönemde endometriyum kalınlığında görülen önemli ölçüde azalmanın orta luteal dönemde olmadığı saptanmıştır. Orta luteal dönemde ekogenik dağılımın 2 grup arasındaki farklılığı izlenmiştir. KS almış gruplarda 3. derecede ekogenik dağılımı orta luteal fazda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. KS grubunda serum E2 seviyelerinin yüksek olduğunu ancak E2 reseptör içeriğinin kontrol grubuna göre düşük ifadelendiği gösterilmiştir. KS döngüsü alanlarda orta luteal dönemde ekogenik dağılımın endometriyumda etkilenecek çoğunun 3. derecede dağılım gösterdiği saptanmıştır. E2 seviyeleri geç proliferatif dönemde KS döngüleri sırasında düşük ifadelenmiştir. P reseptör içeriği KS döngüsü sırasında kontrole göre düşük ifadelenmiş ancak farklılığın önemli olmadığı tespit edilmiştir [144].

Detti ve arkadaşları, kadınlarda YÜT sırasında farklı hormon seviyelerinin endometrial gelişime olan etkisini araştırmışlardır. Stimulasyon uygulanan grupta endometriyum kalınlığında artış olduğu görülmüştür. Estradiol ve progesteron seviyesinin tedavi

grubunda yüksek olduğunu, FSH ve LH seviyelerinin ise azalma gösterdiği belirtilmiştir. Sonuç olarak artan estradiol ve progesteron seviyelerinin endometrial kalınlığın artışına ve endometrial gelişimde gecikmeye neden olabileceği önerilmiştir [145].

Moazzeni ve arkadaşları farelere PMSG ve İkg ile ovaryum stimülasyonunun uterus ve dalak dendritik hücre popülasyonuna olan etkisini araştırmışlardır. Ovaryum stimülasyonu sonrasında estradiol ve progesteron seviyelerinin tedavi grubunda arttığı ve aynı zamanda tedavi grubunda dendritik hücrelerin sıklığının azaldığı saptanmıştır. Sonuç olarak hiperstimule grupta artan progesteron ve estradiol konsantrasyonlarının azalan dendritik hücre sıklığına neden olabileceği düşünülmüştür. Azalan dendritik hücre sıklığının ise IVF sonrası gebelik oranını azaltabileceği önerilmiştir [146].

Massai ve arkadaşları KS uygulandıktan sonra gerçekleşen hormonal değişikliklerden bağımsız olarak KS' in, servikal mukus ve endometrial morfolojiye olan etkisini araştırmışlardır. 14. günde analiz edilen, 0 ve 15 arasında skorlanan servikal mukus kalitesinin, KS alan kadınlarda kontrol gruba göre düşük skora sahip olduğu saptanmıştır. 20. günde endometrial bulguların iki grup arasında benzer olduğu gözlemlenmiştir. 24. günde KS tedavisi alan kadınlarda endometrial olgunlaşmada önemli bir gecikme olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak KS uygulamasının plazma E2 ve P' nin fizyolojik seviyeleriyle servikal mukus kalitesini ve geç luteal dönemde endometrial morfolojiyi değiştirebileceği tespit edilmiştir [147].

Sereepapong ve arkadaşları kadınlarda KS uygulamasının endometriyuma olan etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada kontrol ve KS grupları arasında endometriyum görünümü ve kalınlığı benzer saptanmış ancak morfometrik parametrelerde farklılık görülmüştür. KS tedavisi uygulanan grupta bez sayısı ve bez çapı kontrole göre düşük şekilde tespit edilmiştir. Ancak bu grupta bez hücrelerindeki vaküollü hücre sayısının arttığı saptanmıştır. Bez epitel yüksekliği gruplar arasında benzer şekilde izlenmiştir. KS tedavi grubunda E2, P hormon seviyeleri yüksek tespit edilmiştir. Sonuç olarak KS ile ovulasyon indüksiyonunun artan E2 ve P konsantrasyonu ile birlikte endometriyumda bez yoğunluğunu azaltan ve vaküollü hücre sayısını artıran etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [148].

Sereepapong ve arkadaşlarının, ovulasyon indüksiyon uygulanan grupta bez hücrelerindeki vaküollü hücre sayılarındaki artışa benzer olarak biz de tekrarlı KOH gruplarında yüzey epitelinde vaküolizasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda artış olduğunu, kontrol ve deney grupları arasında anlamlı fark olduğunu gördük. Bunun yanı sıra yüzey epitelindeki mitotik figürler ve bez epitelinde vaküolizasyon 5 tekrarlı grupta diğer gruplara kıyasla artış göstermiş, kontrol ve deney2 grupları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Deti ve arkadaşları, kadınlarda YÜT sırasında farklı hormon seviyelerinin endometrial gelişime olan etkisini araştırmışlardır. Stimulasyon uygulanan grupta endometriyumun kalınlığında artış olduğu görülmüştür. Estradiol ve progesteron seviyesinin tedavi grubunda yüksek olduğu, FSH ve LH seviyelerinin ise azalma gösterdiği belirtilmiştir. Sonuç olarak artan estradiol ve progesteron seviyelerinin endometrial kalınlığın artışına ve endometrial gelişimde gecikmeye neden olabileceği önerilmiştir [145].

Deti ve arkadaşlarının tedavi gruplarında artan estradiol ve progesteron seviyelerinin endometrial kalınlığın artışına sebep olabileceği duruma benzer olarak, bizim çalışmamızda tekrarlı KOH uygulamasının proöstrüs sonu östrüs başı, uterustaki E2 seviyelerinde, artışa neden olduğunu ancak bu değişimde istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Bu artışla birlikte, endometrial kalınlığın deney gruplarında artış gösterdiği ve değişimin istatistiksel olarak farkının anlamlı olduğu tespit edilmiştir. KOH protokolleriyle duvar kalınlıklarının artışının E2 ile bağlantısı olabileceği düşünülmüştür. Deti ve arkadaşlarının çalışmasına zıt şekilde bizim çalışmamızda FSH ve LH seviyelerinin 3 tekrarlı grupta artış gösterip, 5 tekrar grupta azaldığı izlenmiştir. Kontrol ve deney1 grupları arasında LH ve FSH hormonlarında anlamlı fark saptanmıştır. LH hormonunun deney grupları arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. KOH uygulamasının özellikle endometriyumda daha yoğun olacak şekilde dejenerasyona neden olduğu, bu değişimlerin özellikle 5 tekrar KOH uygulaması ile daha şiddetli olarak izlendiği kanısına varılmıştır.

İntegrin β_1 , hücre adezyon molekülleri ailesinden, plazma membranında yer alan transmembran glikoproteinlerden biridir. İntegrinlerin dağılımları farklı dokuların, epitel ve stromal hücrelerinde ESM ligantlarının lokalizasyonlarına göre değişim göstermektedir [8]. İntegrinler; endometriyal, desidual ve ekstrasvillöz sitotrofoblast hücrelerinde bulunabilmektedir. Bu proteinlerin bir kısmı, endometrial bez epitelinin lümeninde ifade

edilirken, uterusun miyometriyumundaki düz kaslarda ifadelenen integrinler de mevcuttur [9- 11].

İntegrinler hücre- hücre ve hücre- matriks etkileşimlerinde, hücre göçü ve farklılaşmasında, sinyal, epitel polaritenin sağlanması ve gelişimi, plasental sitotrofoblastların invaziv fenotipe dönüşmesinde görev alırlar [12, 104].

Endometriyumda embriyonun tutunmasının desteklenebilmesi için, integrin β_1 gibi, hücre adezyon moleküllerinin yüzeydeki ekspresyonları gereklidir. β_1 integrin eksikliğinde farelerde embriyogenezle ilgili, implantasyon sırasında ölüm görülmüş ve β_1 integrin ' in tümör oluşumu ve metastazla da ilişkili olabileceği önerilmiştir [14].

Bizde çalışmamızda, 3 ve 5 tekrar kontrollü ovaryan hiperstimulasyonunun uterus dokusunda oluşturabileceği düşünülen reseptivite açısından hasar ve değişimlerini, bilinen integrin β_1 ve E- kaderin belirteçleriyle immünohistokimyasal düzeyde araştırmayı planladık. Benzer çalışmalarda da integrinler ve E-kaderinler literatürde kullanılmıştır.

Nışıda ve arkadaşları, östrüs döngüsünün her bir periyodunda rat uterus endometriyumunda integrin, fibronectin, laminin, kollajen tip 4' ün ifade ve lokalizasyonunu araştırmışlardır. İntegrinlerin ifadesi endometriyumda epitel hücrelerde ve vasküler endotel hücrelerde gözlenmiştir. Proöstrüs döneminde epitel hücrelerinin aktif olarak göçü gerçekleştiğinde integrinler bu dönemde de epitel hücre yüzeyinin (bazal ve lateral) üzerinde görülmüştür. İntegrinler östrüs döneminde kaybolmaya başlayıp metaöstrüs ve diöstrüste biraz saptanmıştır. Sonuç olarak fibronectin ve integrinlerin epitel onarım sürecinde görevli olduğu düşünülmektedir [149].

Shiokawa ve arkadaşları, insan endometriyum ve desiduada β_1 integrin ifadesini araştırmışlardır. Ortama E2 ve P eklenmesinin erken proliferatif dönemde stromal hücrelerde β_1 integrin ifadesini artırdığı gösterilmiştir. β_1 integrin primer antikorumun tutulumu proliferatif dönemde bez epitelinde baskın şekildeyken, orta salgı döneminde ise bezlerde tutulumu gösterilmiştir. Sonuç olarak β_1 integrinlerinin insan endometriyum ve desiduada erken implantasyon aşamasında elde edilen embriyolarda ekstrasellüler matriks proteinlerinin organizasyonuna aracılık etmede görevli oldukları önerilmiştir [150].

Lacin ve arkadaşları, açıklanamayan infertiliteye sahip hastalarda implantasyon penceresi sırasında KS uygulamasının endometriyumdaki β_1 , a_3 , a_v integrin moleküllerinin ifadesine olan etkisini analiz etmişlerdir. İnfertil ve doğurgan kadınların epitel hücrelerinde a_3 integrin immünoreaktivitesinin zayıf şekilde ifade edildiği gösterilmiştir. KS tedavisi sonrasında integrin ifadesinde önemli artış saptanmamıştır. β_1 integrinlerin immünreaktivitesi tüm gruplarda zayıf şekilde kaydedilmiştir. İnfertil kadınlarda a_v integrin immünreaksiyonu kontrole göre düşük izlenirken, β_1 , a_3 integrin immünreaktivitesinde böyle bir değişim görülmemiştir. KS tedavisinin endometrial kalınlığı önemli derecede azalttığı gözlemlenmiştir. Kломifen sitrat tedavisinin estradiol ve progesteron konsantrasyonunu artırdığını ancak bu tedaviden implantasyonda rolleri olan a_v , β_1 , a_3 integrin moleküllerinin etkilenmediği tespit edilmiştir. Kломifen sitrat döngülerindeki estradiol miktarı ve progesteron konsantrasyonları doğal döngülerdekinden daha fazla tespit edilmiştir. A_v integrin' in immünohistokimyasal ifadesi infertil ve doğurgan bireylerde epitel ve stromada saptanmıştır. A_v integrin ifadesinin infertillerde stromada düşük şekilde ifade edildiği görülmüş ve KS tedavisi sonrasında bu ifadede artış saptanmıştır. A_1 , a_v , β_1 , a_3 integrin molekül ifadesinin kломifen sitrat tedavisinden etkilenmediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak infertil kadınlarda KS ile ovulasyon indüksiyonu sonrasında E2 ve P seviyelerinde artış görülürken, azalan endometrial kalınlık ve değişmeyen a_v , β_1 , a_3 integrin ifadeleri tespit edilmiştir [151].

Radwan ve arkadaşları ratlarda ovulasyon indüksiyon ajanlarından KS ve letrozol uygulanmasının over ve endometrial dokuya olan etkisini incelemişlerdir. Ratlarda KS ile ovulasyon indüksiyonunun gerçekleştirilmesinin letrozol grubuna kıyasla İntegrin β_1 ifadesini yüzey ve bez epitelinde azalttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, KS' ın iyi bir alternatifi olduğunu ya da yumurtalık uyarımı ve anovulasyon tedavisinde birinci basamak ilaç olabileceğini göstermiş ancak Letrozol olan aromatoz inhibitörlerinin kullanımının, endometriyum üzerinde herhangi bir olumsuz etki olmaksızın ve karşılaştırılabilir gebelik oranıyla ve CC'ye kıyasla daha düşük kürtaj oranıyla CC'ye benzer ovülasyonu indükleyebildiği önerilmiştir [152].

Thomas ve arkadaşları, infertil kadınlarda gonadotropin ile ovulasyon indüksiyonunun endometriyumdaki $a_1\beta_1$, $a_4\beta_1$, $a_v\beta_3$ integrinlerinin ifadesine olan etkisini araştırmışlardır. Oosit bağışçı hastaların bez epitelinde olgunlaşmada gecikme gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu 3 integrinlerin bez epiteldeki ifadesinde azalma görülmüş ve $a_v\beta_3$ integrinlerin yüzey

epitelindeki ifadesinde de azalma tespit edilmiştir. İntegrin ifadeleri endometriyumun bez epitelinde ovulasyon indüksiyon sonrası azalmış şekilde görülmüştür. Sonuç olarak implantasyonda önemli rolleri olduğu düşünülen bu integrinlerin ifadesinin azalmasının IVF sonrası gebelik oranlarına olumsuz etki yaratabileceği düşünülmüştür [153].

Thomas ve arkadaşları, kadınlarda gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyonunun endometriyumdaki bez gelişimine olan etkisini ve endometrial integrinlerin ($\alpha_v\beta_3$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_1\beta_1$) ifadesine olan etkisini araştırmışlardır. KOH sonrasında bez epitel gelişiminde gecikme tespit edilmiştir. İndüksiyon gerçekleştirilen biyopsilerdeki bez epitelinde 3 integrin ifadesinde de azalma saptanmıştır. $\alpha_v\beta_3$ integrin ifadesi yüzey epitelinde azalmış şekildedir. Ovulasyon indüksiyonu yapılan grupta yüksek estradiol seviyeleri belirlenmiştir. Yüksek estradiol seviyelerine bağlı olarak integrinlerin ifadesinin baskılanabileceği düşünülmüş ve artan estradiol seviyelerinin implantasyona zarar verebileceği önerilmiştir. Sonuç olarak oosit bağışçılarında azalan integrin ifadelerinin, bez gelişimini baskılayabileceğini, IVF sonrası gebelik oranlarına olumsuz etki oluşturabileceğini ve bozulmuş implantasyonla ilişkili olabileceği düşünülmüştür [154].

Sendağ ve arkadaşları, ratlarda implantasyon sırasında düşük ve yüksek doz İmg ve rFSH ile eksojen ovulasyon indüksiyonu uygulamasının endometriyumdaki α_3 , β_1 integrin ifadesine olan etkisini araştırmışlardır. Kontrol grup haricindeki gruplarda α_3 β_1 integrin ifadesi hem epitel hem stromada düşük şekilde saptanmıştır. Tüm gruplarda implantasyon sırasında başlangıç E2 seviyelerinin önemli derecede artmış olduğu görülmüştür. Düşük doz İmg grubunda α_3 , β_1 integrin ifadesinin stromadaki yoğunluğu diğer gruplara göre düşük saptanmıştır. Düşük doz rFSH grubunda α_3 , β_1 integrin ifadesi diğer gruplara göre epitelde yüksek yoğunlukta tespit edilmiştir. Sonuç olarak ratlarda implantasyon sırasında düşük ve yüksek doz İmg ve rFSH ile ovaryum stimülasyonu uygulamasının, estradiol seviyelerinde artış yaratarak epitel ve stromada α_3 , β_1 integrin tutulumlarını kontrol gruba kıyasla azalttığını ve endometrial reseptiviteye etkisi olduğu önerilmiştir [155].

Fayazi ve arkadaşları, ovulasyon indüksiyonunun fare blastokistindeki β_1 , β_3 , α_4 , α_v integrinlerin ifadesine (mRNA ve protein seviyelerine) olan etkisini araştırmışlardır. α_v , α_4 , β_1 , β_3 integrinlerin ifadesi mRNA ve protein seviyeleri açısından indüksiyon uygulanan grupta önemli derecede düşük bulunmuştur. İfade oranı açısından farklılık en fazla β_1 integrin molekülünde ayırt edilmiştir. İmplantasyon oranı süperovüle farelerde kontrole

göre önemli derecede düşük görülmüştür. Ovulasyon indüksiyonunun fare blastokistinde α_v , β_1 , β_3 integrin ifadelerini azalttığı görülmüştür. Ovulasyon indüksiyonuyla 17 beta – estradiol ve progesteron konsantrasyonlarının önemli derecede artmış olduğu görülmüştür. İmplantasyon oranı ovaryum stimülasyon grubunda kontrol gruba göre önemli derecede düşük saptanmıştır. α_v integrin gen ifadesi fare blastokistinde stimüle grupta önemli derecede düşük saptanmıştır. İki grup arasında α_4 integrin ifadesi açısından farklılık saptanmamış ve iki grupta da zayıf şekilde boyama gösterilmiştir. β_1 integrin proteininin ifadenmesinin uyarılmış grupta önemli derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak süperovüle farelerdeki implantasyon oranının kontrol grubundaki farelerden önemli derecede düşük olduğu ve ovulasyon indüksiyonunun fare blastokistlerinde α_v , β_1 , β_3 integrin ifadenmesini mRNA ve protein düzeyinde azalttığını ve azalan implantasyon oranıyla ilişkisi olabileceği önerilmiştir [156].

Sendağ ve arkadaşlarının, ovaryum stimülasyonunun estradiol seviyelerinde artış yaratarak bez epiteli ve stromada α_3 , β_1 integrin ifadesini kontrol gruba kıyasla azalttığını gösteren çalışmasına benzer olarak, bizim çalışmamızda da artan estradiol seviyeleri ve bez epitelinde ITGB1'nin sitoplazmik ve membranöz tutulumunun deney1 grubunda arttığı ancak deney 2 grubunda azaldığı görülmüştür. Gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Stromal hücrelerde ITGB1'nin sitoplazmik ve membranöz tutulumunun tekrarlı KOH uygulamasıyla arttığı ancak sadece kontrol ve deney2 grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur. Hücre adezyon moleküllerinden integrin β_1 'in yüzey epitelindeki membranöz ve sitoplazmik tutulumunun deney1 grubunda azaldığı, deney 2 grubunda artış gösterdiği izlenmiş ancak gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Tunika muskularis tabakasında ITGB1 tutulumu kontrol grubunda immünnegatif veya az tutuluma sahipken, deney gruplarında tutulumlarının artmış şekilde olduğu görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Damar endotel hücrelerinde ve perimetriyum hücrelerinde zayıftan ortaya değişen integrin β_1 immünreaktivitesi izlenmiştir. ITGB1'in endoteldeki sitoplazmik tutulumunun tekrarlı KOH uygulamasıyla anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. Mezoteldeki ITGB1 tutulumunun ise deney1 grubunda azaldığı izlenmiş, ancak deney 2 grubunda tutulumunun arttığı görülmüştür. Bu değişimler arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır.

E - kaderin uvomorulin olarak da bilinen, 5 saatlik yarı ömrü olan, tip - 1 klasik kaderinlerin prototip üyesidir ve ilk olarak Ca^{+2} bağımlı hücre yüzey proteinlerinde, hücre

hücre adezyon aracılı olma durumlarına göre, erken fare embriyo blastomerlerinde tanımlanmıştır [15- 18]. E - kaderinler fonksiyonlarını göstermek için, Ca^{+2} iyonlarına homofilik olarak bağımlıdır. E - kaderinler homofilik bağlanma yoluyla alfa ve beta katenin ile işbirliği içinde hücre - hücre adezyonuna aracılık ederler [112- 114].

E - kaderin insan endometriyumunda ifade edilen bir moleküldür. E - kaderin molekülünün menstrüel döngü sırasında dağılımının değişmediği, ancak E - kaderin için haberci ribonükleik asit (mRNA) seviyelerinin luteal dönem sırasında önemli derecede yüksek olduğu gösterilmiştir [115, 116].

Kaderinlerin kalsiyum bağımlı hücre - hücre adezyon, hücre göçü sırasında hücre morfogenezinde, hücre polaritesini, doku morfolojisinin, hücre - hücre etkileşimleri, bağlantı komplekslerinin oluşumu, büyüme ve proliferasyon baskılayıcı olarak tümör invazyonunda ve üreme dokularında yapının korunması, farklılaşmasında önemli rolleri vardır [18, 19, 21, 157].

Shih ve arkadaşları, normal ve malignant endometriyumda, E - kaderin ve β - katenin ifadesini immünohistokimyasal olarak araştırmışlardır. E - kaderin' in proliferatif dönemde sitoplazmik ifadesi endometrial bez hücrelerinde görülmüş ancak bu ifadenin salgı döneminde azaldığı gösterilmiştir. E - kaderin ifadesinin yüksek dereceli tümörlerde azaldığı tespit edilmiştir. Karsinomaya sahip hastalarda β -katenin ve E - kaderin ifadesinin normal endometriyumun sitoplazma ve bezlerine göre azaldığı gösterilmiştir. Nükleer β - katenin ifadesinin, E - kaderin ifade kaybıyla ilişkili olduğu, normal ve karsinom hücrelerde ters şekilde gerçekleştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak E - kaderin ve β - katenin' in normal endometriyumdaki döngüsel ifadesinin, adezyon komplekste endometrial yapıyı koruma sürecinde yer aldığı önerilmiştir [157].

Yang ve arkadaşları, tekrarlanan implantasyon başarısızlığı (RIF), tekrarlanan düşüğe sahip (RM) kadınlarda ve doğurgan kadınlarda endometriyumda Hoxa10 ve E - kaderin ifadesini karşılaştırmışlardır. Hoxa10 sinyalinin stromal hücrelerin çekirdeği ve bez epitel hücrelerinin sitoplazmasında lokalize olduğu tespit edilmiştir. E - kaderin sinyalinin ise bez epitel hücrelerinin sadece sitoplazmasında bulunduğu saptanmıştır. Hoxa10 skorlarının RIF ve RM grubunda kontrol gruba kıyasla hem bez epiteli hem stromada azalmış olduğu saptanmıştır. RM grubundaki E - kaderin skorunun ise kontrol grubundan önemli derecede

az olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak Hoxa10 ve E - kaderin ifadesinin endometriyumda pozitif korelasyon gösterdiğini, RIF ve RM gruplarında kontrol gruba kıyasla önemli derecede azalan ifadeli oldukları saptanmıştır. İmplantasyon sürecinde Hoxa10 ve E - kaderin' in değişen ifadelerinin üreme başarısızlığında potansiyel rolü olabileceği önerilmiştir [158].

Valdez Morales ve arkadaşları, orta luteal dönem sırasında HPD tedavisi olmamış, KS veya rFSH ile tedavi olmuş hastalar arasında endometriyumdaki reseptivite belirteçlerinin stromal ve epitel hücrelerdeki ifadesini araştırmışlardır. Tüm gruplarda PRL, E2, P4, LH, FSH hormon seviyeleri normal değerlerde tespit edilmiştir. E - kaderin ve beta katenin boyanma ifadesi epitel sitoplazmik, membran lokalizasyonunda tespit edilmiştir. Beta katenin ifadesi ovüle ve KS uygulanan grupta azalmış şekilde görülmüştür. E - kaderin ifadesinde gruplar arasında farklılık görülmemiştir. KS ve ovüle grup hastalarda E - kaderin hücre dağılımı sitoplazma ve bazolateral membrandır ve rFSH ve uygulama yapılmamış hastalarda E - kaderin dağılımını çoğunlukla sadece sitoplazmada görülmüştür. Sonuç olarak orta luteal dönem sırasında KS veya rFSH ile ovulasyon indüksiyonunun hormon seviyelerini, E - kaderin ifadesini ve stromal belirteçlerini etkilemediğini ancak bazı epitel reseptivite belirteçlerini etkilediği saptanmıştır ve reseptivite penceresi sırasında değişen reseptivite durumuyla ilişkili olabilecekleri önerilmiştir [159].

Dawood ve arkadaşları, periimplantasyon döneminde KS uygulamasının endometriyumda hücre adezyon moleküllerinden E - kaderine olan etkisini araştırmışlardır. KS döngülerinde luteal dönemde plazma progesteron seviyelerinde önemli derecede artış tespit edilmiştir. E - kaderinin gruplar arasındaki ifadesinde farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak periimplantasyon döneminde KS ile ovulasyon indüksiyonu uygulamasının kadınlarda progesteron seviyelerinin artışına neden olduğu ancak gruplar arasında E - kaderin ifadesinde farklılık yaratmadığı saptanmıştır [160].

Xiong ve arkadaşları, IVF fare modelinde periimplantasyon periyodu sırasında GnSh analogları (İmg ve agonist ve antagonistler) uygulamasının Hoxa11, Meis1, Cdh1, Ctnnb1 endometrial mRNA ve protein ifadesine olan etkisini araştırmışlardır. GnSH analoglarıyla KOH protokolleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Özellikle Hoxa11, Meis1, Ktnnb1, Kdh1 ifadesini bu analogların baskıladığı tespit edilmiştir. Hoxa11 mRNA ifadesinin KOH protokol gruplarında azaldığı tespit edilmiştir. GnSH agonist grubunda en

düşük ifade Hoxa11 geninde tespit edilmiştir. Sadece İmg' nin uygulandığı grupta Hoxa11 geninin önemli derecede azalan ifadesi belirlenmiştir. KOH gruplarında meis mRNA ifadesi azalmış şekilde saptanmıştır. GnSH agonist ve antogonist gruplarında yalnız img uygulanan gruba karşılık meis1 mRNA ifadesi azalmış şekilde saptanmıştır. GnSH agonist ve antogonist grupları arasında Meis1 ve Kdh1 mRNA ifadelerinde farklılık görülmemiştir. Periimplantasyon periyodunda KOH protokolleri ile birlikte Kdh1 ve Ktnnb1 Mrna ifadesinde azalma tespit edilmiştir. GnSH analoglarının olduğu gruplarda İmg grubuna göre Kdh1 mRNA' sı düşük şekilde ifadelenmiştir. GnSH antagonist ve İmg grupları arasında Ktnnb1 ifadesinde fark yoktur. Sonuç olarak periimplantasyon döneminde KOH protokolünün (GnSH analoglarıyla birlikte) Kdh1 ve diğer belirteç ifadesini endometrial reseptiviteyi bozarak azaltabileceği önerilmiştir [117].

Movaghar ve arkadaşları, superovüle ve doğal döngüye sahip farelerden elde edilen blastokistlerdeki E - kaderin, LIF, PR genlerinin ifade seviyelerini araştırmışlardır. Tüm genlerin ifade seviyeleri hormon uygulanan grupta doğal döngüdeki blastokistlere kıyasla önemli derecede düşük ifadelenmiştir. Gen ifade seviyelerindeki en önemli düşüş E - kaderin ve LIF genlerinde saptanmıştır. Sonuç olarak PMSG ve İkg ile superovulasyon uygulaması ile farelerin blastokistlerinde azalan E - kaderin ifade seviyeleri tespit edilmiştir. Bu azalan gen ifadelerinin implantasyon ve gebelik oranına olumsuz etki yaratabileceği düşünülmüştür [161].

Yang ve arkadaşlarının, RM grubundaki bez epitel hücrelerinin sitoplazmasındaki E - kaderin ifadesinin kontrol grubundan önemli derecede az olduğunu gösteren çalışmasına benzer olarak, bizim çalışmamızda da bez epitelinde kontrol ve deney 1 grubunda E - kaderin tutulumu hem sitoplazmik hem membranöz şekilde kuvvetli görülmüştür. Deney 2 grubunda bu tutulumların azaldığı izlenmiş ancak gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Deney 2 grubuna ait uterus dokusu kesitlerindeki yüzey epitel ve bez epitel hücrelerine ait E-kaderin immünreaktivitesinin, kontrol grubu ve deney 1 grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta en düşük tutulum sergilediği izlenmiştir. Yüzey epitelindeki E - kaderin tutulumunun membranöz ve sitoplazmik tutulumunun deney1 grubunda azaldığı, deney 2 grubunda artış gösterdiği izlenmiş ancak gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Yalnız kontrol ve deney 2 grupları arasında yüzey epitelinde E-kaderin tutulumunda anlamlı fark bulunmuştur. Deney 2 grubunda stromal hücrelerdeki E - kaderin' in sitoplazmik tutulumu kontrole kıyasla azalmıştır ancak bu fark anlamlı değildir.

Tunika muskularis tabakasında E-kaderin ve ITGB1 tutulumu kontrol grubunda immünnegatif veya az tutuluma sahipken, deney gruplarında tutulumlarının artmış şekilde olduğu görülmüştür ancak istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Endoteldeki E-kaderinin sitoplazmik tutulumu tekrarlı KOH uygulamasıyla azalmış ve bu fark gruplar arasında anlamlı bulunmuştur. Mezoteldeki E-kaderin tutulumunun tekrarlı KOH uygulamasıyla azaldığı görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

KOH uygulamasının uterus dokusu üzerinde özellikle endometriyumda daha yoğun olacak şekilde dejenerasyona ve endometriyum reseptivitesi üzerinde, gebeliğe hazırlanma dönemi doğrultusunda, menstrüel siklusun evrelerine bağlı olarak bazı belirteçlerin farklı bölgelerdeki tutulumlarında azalmaya neden olabileceği saptandı. Bu değişimlerin özellikle 5 tekrar KOH uygulaması ile daha şiddetli olarak izlendiği kanısına varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda infertilite tedavisinde YÜT dahilinde kullanılan KOH protokolünün 3 ve 5 tekrar şekilde uygulanmasının, bez sayısını, yüzey ve bez epitelinde vakuolizasyonu, uterusun tüm duvar, endometriyum ve miyometriyum kalınlığını hipertrofik nedenlerle artırdığı, E- kaderin ve İntegrin $\beta 1$ antikorlarının immünreaktivitesini kontrol gruba kıyasla azalttığı saptanmıştır.

Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon protokolünün uterusun yüzey ve bez epitelinde fokal adezyon bölgelerindeki E-kaderin ve integrin $\beta 1$ moleküllerinin yapısını etkilediğini, bu durumun da endometriyumun reseptif duruma ve gebeliğe hazırladığı dönemin bulguları ile doğru orantılı olduğu varsayılmıştır.

Tekrarlanan KOH uygulamasının, uterusu estradiol konsantrasyonunu artırdığını ancak gruplar arasında anlamlı fark olmadığı saptanmıştır.

Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon uygulaması sonrası artan estradiol seviyelerinin uterus endometriyum tabakasını estradiolün proliferatif etkisiyle birlikte kalınlaştırıcı etkiye neden olabileceğini ve bu artan değerin de reseptivitede görevli olan moleküllerin yapısını, endometriyumu reseptif duruma hazırlamak amacıyla etkileyebileceği kanısına varılmıştır.

KOH uygulamasının uterus dokusu üzerinde özellikle endometriyumda daha yoğun olacak şekilde dejenerasyona ve endometriyumda reseptif duruma ulaşmaya yani gebeliğe hazırlanmaya bağımlı olarak bazı belirteçlerin tutulumlarında azalmaya neden olabileceği saptandı. Bu değişimlerin özellikle 5 tekrar KOH uygulaması ile artmış olduğu izlendi. Yapılacak ileri düzey moleküler çalışmalara gereksinim olduğu kanısına varılmıştır.

Çalışmamızın sonuçları doğrultusunda, tekrarlayan KOH uygulamaları uterusu ve reseptivitede görevli belirteçlerin tutulumlarını gebeliğe hazırlanmak amacıyla değiştirebiliyor ve tekrarlı KOH uygulamalarıyla dejenerasyon kriterlerinin artışına neden olabiliyorsa buna bağlı gebelik oranlarının düşmesine neden olabileceğini, KOH protokollerinin uterusu yarattığı dejenerasyonu en aza indirmeye yönelik yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesine de ışık tutabileceği düşünülmüştür.



KAYNAKLAR

1. Vicdan, K. ve Işık, A. Z. (1999). *In Vitro fertilizasyon ve mikromanipulasyon uygulamalarında laboratuvar*. (1. Baskı). Ankara: Çağdaş Medikal Kitabevi.
2. Nygren, K. G. and Andersen, A. N. (2001). Assisted reproductive technology in Europe. Results generated from European registers by ESHRE. European Society of Human Reproduction and Embryology. *Human Reproduction*, 16, 2459-2471.
3. Arslan, M., Bocca, S., Mirkin, S., Barraso, G., Stadtmauer, L. and Oehninger, S. (2005). Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Eáizabeth Carr. *Fertility and Sterility*, 84(3), 555-569.
4. Siristatidis, C. and Bhattacharya, B. (2007). Unexplained infertility: Does it really exist? Does it matter?. *Human Reproduction*, 22(8), 2084 – 2087.
5. Siristatidis, C., Sergeantanis, T. N., Kanavidis, P., Trivella, M., Sotiraki, M., Mavromatis, I., Psaltopoulou, T., Skalkidou, A. and Petridou, E. T. (2013). Controlled ovarian hyperstimulation for IVF: Impact on ovarian, endometrial and cervical cancer – a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 19(2), 105-123.
6. Çolgar, U. (2006). *Reprodüktif endokrinoloji ve infertilite*. (1. Baskı). İstanbul: Medikal Yayıncılık.
7. Çiçek, N. ve Mollamahmutoğlu, L. (2009). *A'dan z'ye yardımcı üreme teknikleri*. Ankara: Palme Yayıncılık.
8. Lessey, B. A. (1998). Endometrial integrins and the establishment of uterine receptivity. *Human Reproduction Update*, 13(3), 247-258.
9. Merviel, P., Challier, J. C., Carbillon, L., Foidart, J. M. and Uzan, S. (2001). The role of integrins in human embryo implantation. *Fetal Diagnosis and Therapy*, 16(6), 364- 371.
10. Taylor, C. V., Letarte, M. and Stephen, J. L. (1996). The expression of integrins and cadherins in normal human uterus and uterine leiomyomas. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 175(2), 411-419.
11. Peyghambari, F., Fayazi, M., Amanpour, S., Haddadi, M., Muhammadnejad, S., Muhammadnejad, A., Abdolahpour, S., Enkesari, M. and Mazaheri, Z. (2014). Assessment of $\alpha 4$, αv , $\beta 1$ and $\beta 3$ integrins expression throughout the implantation window phase in endometrium of a mouse model of polycystic ovarian syndromes. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 12(10), 687–694.
12. Werb, Z., Tremble, P. M., Behrendtsen, O., Crowley, E. and Damsky, C. H. (1989). Signal transduction through the fibronectin receptor induces collagenase and stromelysin gene expression. *The Journal of Cell Biology*, 109(2), 877-889.

13. Damsky, C. H., Fitzgerald, M. L. and Fisher, S. J. (1992). Distribution patterns of extracellular matrix components and adhesion receptors are intricately modulated during first trimester cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway, in vivo. *The Journal of Clinical Investigation*, 89(1), 210-222.
14. Brakebusch, C. and Fässler, R. (2005). Beta 1 integrin function in vivo: adhesion, migration and more. *Cancer and Metastasis Reviews*, 24(3), 403-411.
15. Shapiro, L., Fannon, A. M., Kwong, P. D., Thompson, A., Lehmann, M. S., Grübel, G., Legrand, J. F., Als-Nielsen, J., Colman, D. R. and Hendrickson, W. A. (1995). Structural basis of cell - cell adhesion by cadherins. *Nature*, 374(6520), 327-337.
16. Hyafil, F., Morello, D., Babinet, C. and Jacob, F. (1980). A cell surface glycoprotein involved in the compaction of embryonal carcinoma cells and cleavage stage embryos. *Cell*, 21(3), 927-934.
17. Hyafil, F., Babinet, C. and Jacob, F. (1981). Cell – cell interactions in early embryogenesis: A molecular approach to the role of calcium. *Cell*, 26(3), 447-454.
18. van Roy, F. and Berx, G. (2008). The cell – cell adhesion molecule E-cadherin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(23), 3756-3788.
19. Pon, Y. L., Auersperg, N. and Wong, A. S. (2005). Gonadotropins regulate N-cadherin-mediated human ovarian surface epithelial cell survival at both post-translational and transcriptional levels through a cyclic AMP/protein kinase A pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(15), 15438-15448.
20. Shih, H. C., Shiozawa, T., Miyamoto, T., Kashima, H., Feng, Y. Z., Kurai, M. and Konishi, I. (2004). Immunohistochemical expression of E-cadherin and beta-catenin in the normal and malignant human endometrium: an inverse correlation between E-cadherin and nuclear beta-catenin expression. *Anticancer Research*, 24(6), 3843-3850.
21. Kaygusuz, E. I. (2015). Immunohistochemical expression of CD44 standard and E-cadherin in atypical leiomyoma and leiomyosarcoma of the uterus. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 35(3), 279-282.
22. Riethmacher, D., Brinkmann, V. and Birchmeier, C. (1995). A targeted mutation in the mouse E-cadherin gene results in defective preimplantation development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 92(3), 855–859.
23. Coutifaris, C., Kao, L. C., Sehdev, H. M., Chin, U., Babalola, G. O., Blaschuk, O. W. and Strauss, J. F. (1991). E-cadherin expression during the differentiation of human trophoblasts. *Development*, 113(3), 767-777.
24. Moore, P. (2002). *İnsan embriyolojisi, klinik yönleri ile*. (Çev: Yıldırım, M., Okar, İ. ve Dalçık, H.). (6. Baskıdan Çeviri). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
25. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fdocplayer.biz.tr%2F420162-Genital-sistem-gelisimi-prof-dr-ismail-seckin.html&date=2018-06-09> , Son Erişim Tarihi: 18.04.2018

26. Petorak, İ. (1986). *Medikal embriyoloji*. (2.Baskı). İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım.
27. Fawcett, D. W. and Jensh, R. P. (2002). *Bloom & Fawcett's concise histology*. (2nd Edition). USA: Oxford University Press Inc.
28. Sadler, T. W. (2011). *Langman medikal embriyoloji*. (Edt: Başaklar, C.). (11. Baskıdan Çeviri). Ankara: Palme Yayıncılık.
29. Boyer, A., Lapointe, E., Zheng, X., Cowan, R. G., Li, H., Quirk, S. M., De Mayo, F. J., Richards, J. S. and Boerboom, D. (2010). WNT4 is required for normal ovarian follicle development and female fertility. *FASEB Journal*, 24(8), 3010–3025.
30. Vainio, S., Heikkila, M., Kispert, A., Chin, N. and Mc Mahon, A. P. (1999). Female development in mammals is regulated by wnt-4 signalling. *Nature*, 397, 4053-4097.
31. Unur, E., Ülger, H. ve Ekinçi, N. (2012). *Anatomi*. (4. Baskı). Kayseri: Kıvılcım Kitabevi.
32. Kayalı, H., Şatıroğlu, G. ve Taşyürekli, M. (1992). *İnsan embriyolojisi*. (7. Baskı). İstanbul: Alfa Yayınları.
33. Snell, R. (1983). *Clinical embryology for medical students*. (3rd Edition). Washington: Little Brown and Company.
34. Sternberg, S. S. (1997). *Histology for pathologists*. (2nd Edition). Philadelphia, New York: Lippincott Raven Publishers.
35. Hamilton, W. J. and Mossman, H. W. (1978). *Human embryology: Prenatal development of form and function*. (4th Edition). Philadelphia, Pennsylvania: The Williams & Wilkins Company.
36. Sant, S. (2008). *Embryology for medical students*. (2nd Edition). New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers.
37. Şeftalioğlu, A. (2003). *Genel & özel insan embriyolojisi*. (4. Baskı). Ankara: Özel Yayınevi.
38. Yıldırım, M. (2015). *Resimli insan anatomisi*. (2. Baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
39. Kuehnelt, W. and Fritsch, H. (2013). *İnsan anatomisi renkli atlas ve temel kitabı*. (Çev. ve Ed.: Kopuz, C.) (5. Baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi.
40. Sargon, M. (2012). *Kısa anatomi*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
41. Erdoğan, D., Görgün, M., Hatipoğlu, T. ve Ilgaz, C. (2007). *Özel histoloji*. (2. Baskı). Ankara: Hatiboğlu Yayınevi.
42. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fcontent.lms.sabis.sakarya.e>

du.tr%2FUploads%2F66701%2F41774%2F%25C3%25BCreme_sisteminin_anatomi
si.pdf&date=2018-06-09 , Son Erişim Tarihi: 28.04.2018

43. Eşrefoğlu, M. (2016). *Özel histoloji*. (2. Baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi.
44. Ozan, H. (2004). *Anatomi: Klinisyen*. (2. Baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri
45. Ross, M. and Pawlina, W. (2014). *Histoloji: Konu anlatımlı ve atlas*. (1. Baskı). Ankara: Palme Kitabevi.
46. Junqueira, L. C. and Carneiro, J. (2006). *Temel histoloji*. (Çev: Solakoğlu, S. ve Aytekin, Y.). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.
47. Stevens, A. and Lowe, J. S. (2005). *Human histology*. (3rd Edition). Ankara: Bıçaklar Kitabevi.
48. Öber, A. ve İzzetoğlu, G. T. (2010). *Histoloji*. (2. Baskı). Ankara: Nobel Yayınları.
49. Kurnaz, S. (2011). *İnsan uterus ve tuba uterinasındaki interstisyel cajal benzeri hücrelerin değişik yöntemlerle gösterilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
50. Elsayed, H. M. and Helmy, Y. A. (2017). Human myometrial interstitial cajal like cell (telocyte) in preterm and full term labour: Histological and immunohistochemical studies. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 67(1), 505-513.
51. Eren, Ü., Sandıkçı, M., Sur, E. and Boydak, M. (1997). Histological and histochemical studies on mast cells in mouse uterus at different phases of sexual cycle. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 44(1), 117-126.
52. Larsen, J. F. (1962). Electron microscopy of the uterine epithelium in the rabbit. *The Journal of Cell Biology*, 14, 49-64.
53. Abd – Elnaeim, M. M. (2008). Morphological characteristics of the donkey (equus asinus) uterus during estrus. light, scanning and transmission electron microscopic study. *Journal of Agricultural and Veterinary Sciences*, 1(2), 47-57.
54. Gartner, L. P. and Hiatt, J. L. (2009). *Renkli histoloji atlası*. (Çev: Dağdeviren, A., Müftüoğlu, F. S. ve Karabay, G.). (4. Baskı). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
55. Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histoloji ve hücre biyolojisi patolojiye giriş*. (Çev: Demir, R.). Ankara: Palme Yayıncılık.
56. Erkoçak, A. (1984). *Özel histoloji dolaşım lenfatik – iç salgı – üriner – genital ve sinir sistemleri*. Ankara: Ankara Üniversitesi.
57. Akbay, C. ve Sabuncuoğlu, B. T. (2002). *Özel histoloji ince yapı ve geliştirme*. Ankara: Tıp Kitapları Bilimsel Yayınları.
58. Wheater, P. R., Burkitt, H. G. and Daniels, V. G. (1984). *Functional histology: A text and colour atlas*. (2nd Edition). Ediburgh: Churchill Livingstone Paperback.

59. Dutta, M. and Talukdar, K. L. (2015). A histological study of uterus in reproductive and postmenopausal women. *National Journal of Clinical Anatomy*. 4(1), 17- 25.
60. Eroschenko, V. P. (2013). *Difiore'nin histoloji atlası fonksiyonel ilişkileriyle*. (Çev: Demir, R.). (12.Baskı). Ankara: Palme Yayıncılık.
61. Gartner, L. P. and Hiatt, J. L. (1997). *Color textbook of histology*. Pennsylvania: The Curtis Center.
62. Shawki, O., Deshmukh, S. and Pacheco, L. A. (2017). *Mastering the techniques in hysteroscopy*. India: Jaypee Brothers Medical Pub.
63. Costanzo, L. S. (1998). *Physiology*. Pennsylvania: WB. Saunders Company.
64. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.open.edu%2Fopenlearncreate%2Fmod%2Foucontent%2Fview.php%3Fid%3D34%26printable%3D1&date=2018-06-09> , Son Erişim Tarihi: 10.05.2018
65. Çimen, V. (2008). *Fizyoloji, histoloji & embriyoloji*. Ankara: Özkan Matbaacılık.
66. Silbernagl, S. and Despopoulos, A. (2012). *Renkli fizyoloji atlası*. (Edt: Solakoğlu, Z.). (1.Baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi.
67. Assefa, N. and Tsige, Y. (2003). *Human anatomy and physiology. Lecture Notes For Nursing Students*. Atlanta: The Carter Center.
68. Noyan, A. (2011). *Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji*. (19. Baskı). Ankara: Palme Yayıncılık.
69. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.biology-pages.info%2F%2FSexHormones.html&date=2018-06-09> , Son Erişim Tarihi: 11.05.2018
70. Jensen, D. (1980). *The principles of physiology*. (2nd Edition). New York: Appleton-Century-Crofts.
71. Gelir, E., Koz, M. ve Ersöz, G. (2013). *Fizyoloji ders kitabı*. (5. Basım). Ankara: Nobel Yayınları.
72. Costanzo, L. S. (2003). *Fizyoloji*. (Edt: Özgünen, K. T. ve Özgünen, T). (3. Baskı). İstanbul: Güneş Kitabevi.
73. Preston, R. R. and Wilson, T. E. (2014). *Lippincott görsel anlatımlı çalışma kitapları: Fizyoloji*. (Edt: İsoğlu-Alkaç, Ü., Ermutlu, N. ve Yılmaz, B.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
74. Lin, D. W. (2009). *Deja vu: Fizyoloji*. (Çev: Çimen, V.). İstanbul: Medikal Yayıncılık.
75. Yaman, K. (1999). *Fizyoloji*. (3. Baskı). Bursa: Ceren Basım Yayın.

76. Irmak, S., Emiroğlu, F. ve Gökhan, N. (1982). *Fizyoloji kısa ders kitabı*. (Dişhekimliği, eczacılık, biyoloji ve yüksek hemşirelik öğrencileri için). İstanbul: AR basım Yayın ve Dağıtım.
77. Fox, S. I. (2004). *Human physiology*. (8th Edition). Newyork: The McGraw- Hill Companies.
78. Yakar, K. (2003). *Fizyoloji*. (5. Baskı). Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
79. Çiçek, N. (2007). *Temel üreme endokrinolojisi ve infertilite*. Ankara: Palme Yayıncılık.
80. Çelik, Ö. (2011). *Yardımcı üreme teknikleri: Temel klinik ve embriyolojik uygulamalar*. Ankara: Nobel Kitabevi.
81. Moore, K. L. and Persaud, T. V. N. (2009). *Klinik yönleriyle insan embriyolojisi*. (Çev: Yıldırım, M. ve Dalçık, H.). (2. Baskıdan Çeviri). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
82. Aksel, S. ve Beksaç, M. S. (1993). *Reproductive endocrinology & infertility*. Ankara: Medical Network.
83. Strauss, J. F. and Barbieri, R. L. (2006). *Üreme endokrinolojisi: Fizyoloji, patofizyoloji ve klinik muayene*. (Çev: Günalp, S.). (5.Baskı). İstanbul: Güneş Kitabevi.
84. Çiçek, N. (2013). *Jinekolojik endokrinoloji ve infertilite el kitabı*. Ankara: Modern Tıp Kitabevi.
85. İnternet: URL:
http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fbooks%2FNBK247932%2Fpdf%2FBookshelf_NBK247932.pdf&date=2018-06-09, Son Erişim Tarihi: 15.05.2018.
86. Rızk, B., Velasco, J. C., Sallam, H. and Makrigiannakis, A. (2012). *İnfertilite ve yardımcı üreme teknikleri*. (Edt: Gürkan, T.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
87. Allahbadia, G. and Basuray, R. (2003). *The art & science of assisted reproductive techniques (ART)*. United Kingdom: Taylor & Francis Group.
88. Borenstein, R., Shoham, Z., Yemini, M., Barash, A., Fienstein, M. and Rozenman, D. (1989). Tamoxifen treatment in women with failure of clomiphene citrate therapy. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 29, 173-175.
89. Gulekli, B., Ozaksit, G., Turhan, N. O., Senoz, S., Oral, H. and Gokman, O. (1993). Tamoxifen: An alternative approach in clomiphene resistant polycystic ovarian syndrome patients. *Journal of the Pakistan Medical Association*, 43, 89-91.
90. Williamson, J. G. and Ellis, J. D. (1973). The induction of ovulation by tamoxifen. *The Journal of Obstetrics and Gyneacology of the British Commonwealth*, 80, 844-847.

91. Roumen, M. E., Doesburg, H. W. and Rolland, R. (1984). Treatment of infertile women with a deficient post-coital test with two antiestrogens: Clomiphene and tamoxifen. *Fertility and Sterility*, 41, 237–243.
92. Viollet, B., Guigas, B., Garcia, N. S., Leclerc, J., Foretz, M. and Andreelli, F. (2012). Cellular and molecular mechanisms of metformin: An overview. *Clinical Science*, 122(6), 253-270.
93. Bordewijk, E. M., Nahuis, M., Costello, M. F., Van der Veen, F., Tso, L. O., Mol, B. W. and van Wely, M. (2017). Metformin during ovulation induction with gonadotrophins followed by timed intercourse or intrauterine insemination for subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 24(1), 1- 34.
94. Seibel, M. M. (2009). Ovulation Induction with Gonadotropins.
95. Fiddes, J.C. and Goodman, H.M. (1981). The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones. *Journal Mol Appl Genet*, 1(1), 3-18.
96. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.uptodate.com%2Fcontents%2Finfertility-treatment-with-gonadotropins-beyond-the-basics&date=2018-06-09>, Son Erişim Tarihi: 15.05.2018.
97. İnternet: URL:
http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fcms.galenos.com.tr%2FUploads%2FArticle_9140%2F41-47.pdf&date=2018-06-09, Son Erişim Tarihi: 15.05.2018.
98. Barczyk, M., Carracedo, S. and Gullberg, D. (2010). İntegrins. *Cell Tissue Res*, 339, 269 – 280.
99. Streuli, C.H. (2016). Integrins as architects of cell behavior. *Molecular Biology of the Cell*, 27, 2885-2888.
100. Pierschbacher, M.D. and Ruoslahti, E. (1987). Influence of stereochemistry of the sequence Arg- Gly –Asp- Xaa on binding specificity in cell adhesion. *Journal Biol Chem*, 25-262 (36), 17294-17298.
101. De Arcangelis, A. and Georges-Labouesse, E. (2000). İntegrin and ECM functions: roles in vertebrate development. *Trends Genet*, 16(9), 389 – 95.
102. Hemler, M.E. (1990). VLA proteins in the integrin family: structures, functions, and their role on leukocytes. *Annu Rev Immunol*, 8, 365-400.
103. Reddy, K.V. and Mangale, S.S. (2003). Integrin receptors: the dynamic modulators of endometrial function. *Tissue Cell*, 35(4), 260 - 73.
104. Damsky, C., Sutherland, A. and Fisher, S. (1993). Extracellular matrix 5: Adhesive interactions in early mammalian embryogenesis, implantation and placentation. *FASEB Journal*, 7, 1320–1329.

105. Lessey, B.A., Castelbaum, A.J., Buck, C.A., Lei, Y., Yowell, C.W. and Sun, J. F. (1994). characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril*, 62(3), 497-506.
106. Basak, S., Dhar, R. and Das, C. (2002). Steroids modulate the expression of alpha4 integrin in mouse blastocysts and uterus during implantation. *Biol Reprod*, 66(6), 1784-1789.
107. Illera, M.J., Cullinan, E., Gui, Y., Yuan, L., Beyler, S.A. and Lessey, B.A. (2000). Blockade of the alpha(v)beta(3) integrin adversely affects implantation in the mouse. *Biol Reprod*, 62(5), 1285 - 1290.
108. Kaneko, Y., Day, M.L. and Murphy, C.R. (2011). Integrin $\beta 3$ in rat blastocysts and epithelial cells is essential for implantation in vitro: studies with Ishikawa cells and small interfering RNA transfection. *Hum Reprod*, 26(7), 1665 - 1674.
109. Srinivasan, K.R., Blesson, C.S., Fatima, I., Kitchlu, S., Jain, S.K., Mehrotra, P.K. and Dwivedi, A. (2009). Expression of alphaVbeta3 integrin in rat endometrial epithelial cells and its functional role during implantation. *Gen Comp Endocrinol*, 160(2), 124 - 133.
110. Brakebusch, C., Hirsch, E., Potocnik, A. and Fassler, R. (1997). Genetic analysis of beta1 integrin function: confirmed, new and revised roles for a crucial family of cell adhesion molecules. *Journal of Cell Science*, 110, 2895 - 2904.
111. Van Roy, F. (2014). Beyond E-cadherin: roles of other cadherin superfamily members in cancer. *Nat Rev Cancer*, 14(2), 121 - 134.
112. Achache, H. and Revel, A. (2006). Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Human Reproduction Update*, 12(6), 731-746.
113. Ozawa, M., Ringwald, M. and Kemler, R. (1990). Uvomorulin - catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87, 4246 – 4250.
114. Ozawa, M. and Kemler, R. (1992). Molecular organization of the uvomorulin-catenin complex. *Journal Cell Biol*, 116(4), 989 -9 96.
115. Van der Linden, P.J., de Goeij, A.F., Dunselman, G.A., Erkens, H.W. and Evers, J.L. (1995). Expression of cadherins and integrins in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Fertil Steril*, 63, 1210 - 6.
116. Fujimoto, J., Ichigo, S., Hori, M. and Tamaya, T. (1996). Alteration of E - cadherin, alpha - and beta - catenin mRNA expression in human uterine endometrium during the menstrual cycle. *Gynecol Endocrinol*, 10, 187 - 91.
117. Xiong, M., Zhang, H., Jin, L., Al, J., Huang, Z. and Zhu, G. (2011). Association of controlled ovarian hyperstimulation treatment with downregulation of key regulators involved in embryonic implantation in mice. *Journal Huazhong Univ Sci Technol*, 31(4), 535 - 542.

118. Rahnama, F., Thompson, B., Steiner, M., Shafiei, F., Lobie, P.E. and Mitchell, M.D. (2009). Epigenetic regulation of E - cadherin controls endometrial receptivity. *Endocrinology*, 150(3), 1466 - 72.
119. Payan-Carreira, R., Pires, M.A., Santos, C., Holst, B.S., Colaço, J. and Rodriguez-Martinez, H. (2016). Immunolocalization of E - cadherin and β - catenin in the cyclic and early pregnant canine endometrium. *Theriogenology*, 86(4), 1092-1101.
120. Nagao, T. and Yoshimura, S. (2001). Oral administration of clomiphene to neonatal rats causes reproductive tract abnormalities. *Teratog Carcinog Mutagen*, 21(3), 213-221.
121. Özdemir, M., Göksu-Erol, A.Y., Cevrioğlu, A.S. ve Dilek, F.H. (2015). The Histopathological Changes in Rat Ovary and Endometrium Following Long Term Clomiphene Treatment. *Turkiye Klinikleri Journal Med Sci*, 35(4), 209–217.
122. Bonhoff, A.L., Naether, O.G.J. and Johannisson, E. (1996). Effects of clomiphene citrate stimulation on endometrial structure in infertile women. *Human Reproduction*, 11(4), 844-849.
123. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2F%3A+https%3A%2F%2Flivertox.nih.gov%2F+Gonadotropins.+Htm&date=2018-06-09>, Son Erişim Tarihi: 15.05.2018.
124. Canda, M.T., Kucuk, M., Bagriyanik, H.A., Ozyurt, D. ve Canda, T. (2007). The only effects of recombinant follicle-stimulating hormone for ovulation induction in the pre-implantation period of rats. *Gynecology and Obstetrics*, 275(2), 99–105.
125. Benadiva, C.A. and Metzger, D.A. (1994). Superovulation with human menopausal gonadotropins is associated with endometrial gland-stroma dyssynchrony. *Fertil Steril*, 61(4), 700-704.
126. Dursun, A., Sendag, F., Terek, M.C., Yilmaz, H., Oztekin, K., Baka, M. ve Tanyalcin, T. (2004). Morphometric changes in the endometrium and serum leptin levels during the implantation period of the embryo in the rat in response to exogenous ovarian stimulation. *Fertil Steril*, 82(3), 112 –1126.
127. Alizadeh, Z., Kheradmand, Z., Bahmanzadeh, M., Sohrabi, M., Ashari, F.E. and Dehghan, A. (2014). Endometrial morphology following repeated ovarian stimulation in mouse. *Tehran Univ Med Journal*, 72(6), 389-395.
128. Lunn, S.F. and Bell, E.T. (1968). The induction of ovulation in immature rats treated with pregnant mare's serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin. *Q. Journal exp. Physiol*, 53, 129-135.
129. Joo, B.S., Park, S.H., An, B.M., Kim, K.S., Moon, S.E. and Moon, H.S. (2010). Serum estradiol levels during controlled ovarian hyperstimulation influence the pregnancy outcome of in vitro fertilization in a concentration-dependent manner. *Fertil Steril*, 93(2), 442-446.

130. Kolb, B.A. and Paulson, R.J. (1997). The luteal phase of cycles utilizing controlled ovarian hyperstimulation and the possible impact of this hyperstimulation on embryo implantation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 176(6), 1262–1269.
131. Simón, C., Mercader, A., Frances, A., Gimeno, M.J., Polan, M.L., Remohí, J. and Pellicer, A. (1996). Hormonal regulation of serum and endometrial IL-1 α , IL-1 β and IL-1ra: IL-1 endometrial microenvironment of the human embryo at the apposition phase under physiological and supraphysiological steroid level conditions. *Journal of Reproductive Immunology*, 31(3), 165–184.
132. Paulson, R.J., Sauer, M.V. and Lobo, R.A. (1990). Embryo implantation after human in vitro fertilization: importance of endometrial receptivity. *Fertility and Sterility*, 53(5), 870 – 874.
133. Ng, E.H.Y., Yeung, W.S.B., Lau, E.Y.L., So, W.W.K. and Ho, P.C. (2000). High serum oestradiol concentrations in fresh IVF cycles do not impair implantation and pregnancy rates in subsequent frozen–thawed embryo transfer cycles. *Human Reproduction*, 15(2), 250–255.
134. Fossum, G.T., Davidson, A. and Paulson, R.J. (1989). Ovarian hyperstimulation inhibits embryo implantation in the mouse. *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, 6(1), 7–10.
135. Mirkin, S., Nika, S. G., Hsiu, J.G., Díaz, J. and Oehninger, S. (2004). Gene expression profiles and structural/functional features of the peri-implantation endometrium in natural and gonadotropin-stimulated cycles. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89, 5742 – 5752.
136. Chenette, P.E., Sauer, M.V. and Paulson, R.J. (1990). Very high serum estradiol levels are not detrimental to clinical outcome of in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 54, 858–863.
137. Sharara, F.I. and Mc Clamrock, H.D. (1999). Ratio of oestradiol concentration on the day of human chorionic gonadotrophin administration to mid-luteal oestradiol concentration is predictive of in-vitro fertilization outcome. *Human Reproduction*, 14, 2777–2782.
138. Peyghambari, F., Salehnia, M., Moghadam, M.F., Valujerdi-Hajizadeh, M.R.E. (2008). The changes in morphology and morphometrical indices of endometrium of ovariectomized mice in response to exogenous ovarian hormones. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 6(3), 125-131.
139. Gunin, A.G. (2001). Estrogen changes mitosis orientation in the uterine epithelia. *Eur Journal Obstet Gynecol Reprod Biol*, 97(1), 85-9.
140. Detti, L., Yelian, F.D., Kruger, M.L., Diamond, M.P., Rode, A., Mitwally, M.F. and Puscheck, E.E. (2008). Endometrial thickness is related to miscarriage rate, but not to the estradiol concentration, in cycles down-regulated with gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril*, 89(4), 998-1001.

141. Macrow, P.J., Li, T.C., Seif, M.W., Buckley, C.H. and Elstein, M. (1994). Endometrial structure after superovulation: a prospective controlled study. *Fertil Steril*, 61(4), 696-699.
142. Eden, J.A., Place, J., Carter, G.D., Jones, J., Alaghband-Zadeh, J., Pawson, M.E. (1989). The effect of clomiphene citrate on follicular phase increase in endometrial thickness and uterine volume. *Obstet Gynecol*, 73(2), 187-190.
143. Haritha, S. and Rajagopalan, G. (2003). Follicular growth, endometrial thickness, and serum estradiol levels in spontaneous and clomiphene citrate-induced cycles. *Int Journal Gynaecol Obstet*, 81(3), 287-292.
144. Nakamura, Y., Ono, M., Yoshida, Y., Sugino, N., Ueda, K. and Kato, H. (1997). Effects of clomiphene citrate on the endometrial thickness and echogenic pattern of the endometrium. *Fertil Steril*, 67(2), 256-260.
145. Detti, L., Saed, G.M., Fletcher, N.M., Kruger, M.L., Brossoit, M. and Diamond, M.P. (2011). Endometrial morphology and modulation of hormone receptors during ovarian stimulation for assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*, 95(3), 1037-1041.
146. Moazzeni, S.M., Eskandaryan, M. and Salehnia, M. (2012). Effect of Ovarian Induction Using PMSG and HCG hormones on Uterus Dendritic Cells Population in NMRI mice. *Physiology and Pharmacology*, 16(2), 136-145.
147. Massai, M.R., de Ziegler, D., Lesobre, V., Bergeron, C., Frydman, R. and Bouchard, P. (1993). Clomiphene citrate affects cervical mucus and endometrial morphology independently of the changes in plasma hormonal levels induced by multiple follicular recruitment. *Fertil Steril*, 59(6), 1179-1186.
148. Sereepapong, W., Suwajanakorn, S., Triratanachai, S., Sampatanukul, P., Pruksananonda, K., Boonkasemsanti, W. and Reinprayoon, D. (2000). Effects of clomiphene citrate on the endometrium of regularly cycling women. *Fertil Steril*, 73(2), 287-291.
149. Nishida, T., Murakami, J. and Otori, T. (1991). Expression of fibronectin receptor (integrin) in the uterus of rats in relation to the estrous cycle. *Histochemistry*, 96(4), 279-283.
150. Shiokawa, S., Yoshimura, Y., Nagamatsu, S., Sawa, H., Hanashi, H., Oda, T., Katsumata, Y., Koyama, N. and Nakamura, Y. (1996). Expression of beta 1 integrins in human endometrial stromal and decidual cells. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 81(4), 1533-1540.
151. Lacin, S., Vatansever, S., Kuscü, N.K., Koyuncu, F., Ozbilgin, K. and Ceylan, E. (2001). Clomiphene citrate does not affect the secretion of alpha3, alphaV and beta1 integrin molecules during the implantation window in patients with unexplained infertility. *Hum Reprod*, 16(11), 2305-2309.
152. Radwan, D.M. (2010). Comparative histological and immunohistochemical study on Rat Ovarian and Endometrial Responses to Letrozole versus Clomiphene Citrate. *Egypt. Journal Histol*, 33, 594-606.

153. Thomas, K., Thomson, A.J., Sephton, V., Cowan, C., Wood, S., Vince, G., Kingsland, C.R. and Lewis-Jones, D.I. (2002). The effect of gonadotrophic stimulation on integrin expression in the endometrium. *Human Reproduction*, 17(1), 63–68.
154. Thomas, K., Thompson, A., Vince, G., Kingsland, C. and Lewis-Jones, I. (2001). Superovulation during IVF treatment: its effect on integrin expression and endometrial receptivity. *Fertil Steril*, 76(3). 165 - 166.
155. Sendag, F., Akdogan, A., Ozbilgin, K., Giray, G. ve Oztekin, K. (2010). Effect of ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin and recombinant follicle stimulating hormone on the expression of integrins alpha3, beta1 in the rat endometrium during the implantation period. *Eur Journal Obstet Gynecol Reprod Biol*, 150(1), 57-60.
156. Fayazi, M., Boroujeni, M.B., Salehnia, M. and Khansarinejad, B. (2014). Ovarian Stimulation by Exogenous Gonadotropin Decreases the Implantation Rate and Expression of Mouse Blastocysts Integrins. *Iranian Biomedical Journal*, 18(1), 8-15.
157. Shih, H.C. , Shiozawa, T., Miyamoto, T., Kashima, H., Feng, Y.Z., Kurai, M. and Konishi, I. (2004). Immunohistochemical expression of E - cadherin and beta - catenin in the normal and malignant human endometrium: an inverse correlation between E- cadherin and nuclear beta - catenin expression. *Anticancer Res*, 24(6), 3843-3850.
158. Yang, Y., Chen, X., Saravelos, S.H., Liu, Y., Huang, J., Zhang, J. and Li, T.C. (2017). HOXA-10 and E-cadherin expression in the endometrium of women with recurrent implantation failure and recurrent miscarriage. *Fertil Steril*, 107(1), 136-143.
159. Francisco, J., Valdez-Morales, A., Gamboa-Domínguez, V.S., Vital-Reyes, J.C., Hinojosa, C., Jesús, C. M., Yanira, F. M. and Marco, C. (2015). Changes in receptivity epithelial cell markers of endometrium after ovarian stimulation treatments: Its role during implantation window. *Reprod Health*, 12, 45.
160. Dawood, M.Y., Lau, M. and Khan-Dawood, F.S. (1998). E-cadherin and its messenger ribonucleic acid in periimplantation phase human endometrium in normal and clomiphene-treated cycles. *Am Journal Obstet Gynecol*, 178(5), 996–1001.
161. Movaghar, B. and Askarian, S. (2012). Expression of E- Cadherin, Leukemia Inhibitory Factor and Progesterone Receptor in Mouse Blastocysts after Ovarian Stimulation. *Cell Journal*, 14(3), 225 – 230.



EK-1. Değerlendirme ve Onay Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 17/11/2017-E.164636



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



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Çiğdem ELMAS
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 10.05.2017 tarihli ve E.68429 sayılı yazımız ile onay alan, araştırmacı grubu Çiğdem ELMAS ve Perihan YALÇINKAYA'dan oluşan G.Ü.ET-17.027 kod numaralı ve "*Tekrarlanan Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon'un (KOH) Over Rezervi Üzerine Etkisinin PTEN Yolağı Üzerinden Araştırılması*" başlıklı çalışmanız ile ilgili alınan 09.11.2017 tarihli ve E.160196 sayılı dilekçeniz 10.11.2017 tarih ve 10 sayılı Kurul toplantısında incelenmiştir.

Çalışmanızın başlığının "*Tekrarlanan Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon'un (KOH) Dişi Üreme Sistemi Organları Üzerine Etkisinin Çeşitli Yollar Üzerinden Araştırılması*" olarak değiştirilmesi ile araştırmacı grubuna Latife SAKİNER'in dahil edilmesi ile ilgili talebinizin uygun bulunduğu oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

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-3. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Katılım Sertifikası



XIX. DENEY HAYVANLARI
UYGULAMA VE ETİK KURSU
23-31 Mayıs 2016
KATILIM SERTİFİKASI

Sayın, Latife SAKİNER

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından, 23-31 Mayıs 2016 tarihleri arasında düzenlenen “*Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kurs XIX*” a katılarak, Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

Sertifika no: 2016/19-12

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : SAKİNER, Latife
Uyruğu : K. K. T.C.

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/ Histoloji ve Embriyoloji A.D.	Devam ediyor
Lisans	Ankara Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2015
Lise	Gazimağusa Türk Maarif Koleji	2011

Yabancı Dili

İngilizce

Hobiler

Viyolonsel çalmak, Tiyatroya gitmek, Seyahat etmek, Kitap okumak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

