

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

**OVULASYON İNDÜKSİYON AJANLARININ**  
**OVER YÜZEY EPİTELİ ÜZERİNE**  
**ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Zeynep ÖZCAN**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Hüsnü ÇELİK**

**ELAZIĞ - 2005**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Özge ARDIÇOĞLU

DEKAN

Bu tez, uzmanlık tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Bilgin GÜRATESH

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı

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

Yrd. Doç. Dr. Hüsnü ÇELİK

Danışman

Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

*Annem, Babam ve Ailem'e.....*

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tezimi hazırlamamda katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Hüsnü Çelik'e;

Deney sonuçlarının patolojik incelemesinde yardımcı olan Sayın Doç. Dr. İbrahim Özercan'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım klinik öğretim üyeleri başta bölüm başkanımız Sayın Doç. Dr. Bilgin Gürateş olmak üzere, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Şimşek'e, Yrd. Doç. Dr. Ekrem Sapmaz'a ve Yrd. Doç. Dr. Selahattin Kumru'ya;

Hayatımın her aşamasında bütün destekleri ile yanımda olan sevgili aileme;

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, bilgilerini ve görgülerini paylaştığım bütün asistan arkadaşlarıma, uyum içinde çalışarak işleri kolaylaştıran klinik sekreterlerimiz, hemşirelerimiz ve personellerimize; Fیزیoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Bayram Yılmaz ve tüm FÜTDAM personellerine;

Deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Patoloji Bölümü personellerine;

Rotasyonlarım sırasında klinik ve deontolojik görgümü arttırmamda yol gösterici olan Genel Cerrahi, Üroloji, Patoloji ve Anesteziyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

1. ÖZET .....	1
2. ABSTRACT .....	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ .....	5
4. GENEL BİLGİLER .....	9
4.1. İnsanlarda over morfolojisi .....	9
4.1.1. Overin anatomik yapısı .....	9
4.1.2. Overin histolojik yapısı .....	10
4.1.3. Over yüzey epitelyumu .....	11
4.1.4. Foliküler gelişme .....	12
4.2. Ovulasyon .....	15
4.3. Ovulasyon indüksiyonu .....	18
4.4. Ovulasyon indüksiyon ajanları .....	20
4.4.1. Klomifen sitrat .....	20
4.4.2. Human Koryonik Gonadotropin .....	21
4.4.3. Human Menopozal Gonadotropin ve rFSH .....	22
4.4.4. Letrazol .....	23
4.4.5. Tamoksifen .....	25
4.5. Ratlarda östrus siklusu .....	25
4.6. Over kanseri .....	27
4.7. Ovulasyon indüksiyonu ve over kanseri arasındaki ilişki .....	28
5. GEREÇ VE YÖNTEM .....	33
5.1. Ratlarda vajinal smear değerlendirilmesi .....	35

5.2.Ratlarda ooferektominin yapılışı .....	35
5.3. Parametreler .....	36
6. BULGULAR.....	38
7. TARTIŞMA. ....	45
8. KAYNAKLAR .....	54
9. ÖZGEÇMİŞ .....	65

## **TABLO VE RESİM LİSTESİ**

Tablo 1: Rat over yüzey epitellerinin histopatolojik özellikleri

Resim 1: Normal over yüzey epitelinin izlendiği over görünümü

Resim 2: Over yüzey epitelinde epitelyal displazinin görünümü

Resim 3: Over yüzey epitelinde epitelyal kümelenmenin görünümü

## **KISALTMALAR**

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

PKOS: Polikistik over sendromu

OHSS: Ovaryan hiperstimulasyon sendromu

OSE: Over yüzey epiteli

FSH: Folikül stimüle edici hormon

LH: Luteinize edici hormon

OMI: Oosit maturasyon inhibitörü

LI: Luteinizasyon inhibitörü

GnSIF: Gonadotropin salınım inhibitör faktörü

GnRH: Gonadotropin releasing hormon

KOH: Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon

hCG: Human koryonik gonadotropin

HMG: Human menopozal gonadotropin

FSHR: Folikül stimüle edici hormon reseptörü

LHR: Luteinize edici hormon reseptörü

rFSH: Rekombinant FSH

i.m.: İntramüsküler



## 1. ÖZET

**AMAÇ:** Bu çalışmada ovulasyon indüksiyon ajanlarının over yüzey epiteli üzerine olan etkilerinin ratlarda deneysel olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Yetmiş adet düzenli siklusa sahip, 90 günlük, erişkin, dişi Wistar Albino cinsi rat rastgele, yedi gruba ayrıldı ve her grup on rattan oluşturuldu. Bu gruplardan beşine klomifen sitrat, HMG, rFSH, letrazol ve hCG ile toplam oniki siklus ovulasyon indüksiyonu yapıldı. Diğer iki grup ise kontrol grubu olarak alındı. Kontrol grubundaki ratlara ise herhangi bir ajan verilmedi. Altı siklus sonrası sağ ooferektomi, oniki siklus sonrası sol ooferektomi yapıldı. Işık mikroskopisi altında over yüzey epitelleri değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizinde gruplar arası karşılaştırmada One Way Anova testi kullanıldı. Post Hoc test olarak Tukey HSD testi kullanıldı.

**BULGULAR:** Çalışmamızın sonunda ovulasyon indüksiyon ajanlarından klomifen sitrat, FSH, HMG ve letrazol uygulanan ratların over yüzey epitellerinin hiç birinde maligniteye rastlanmazken epitelyal displazi skorları kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu ( $p<0.05$ ). Sadece hCG'nin uygulandığı grupta ise kontrol gruplarına göre over yüzey epitellerinde anlamlı displazik değişikliklere rastlanmadı.

**SONUÇ:** Elde ettiğimiz bulgulara göre ovulasyon indüksiyon ajanları (hCG hariç) over yüzey epitelinde displazik değişikliklere neden olmaktadır. Bu displazik değişiklikler ovaryan malignensilerin öncül lezyonu olarak görülmektedir. Bu sonuçlar ovulasyon indüksiyonun bu konuda deneyimli

uzmanlar tarafından yapılması ve bu olguların dikkatli takip edilmesi gereğini göstermektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** İnfertilite, ovulasyon indüksiyonu, over yüzey epiteli, ovaryan epitelyal displazi, ovaryan epitelyal karsinoma.

## 2. ABSTRACT

### THE EFFECTS OF OVULATION INDUCTION AGENTS ON RAT OVARIAN SURFACE EPITHELIUM

**OBJECTIVE:** The study is performed to investigate the effects of ovulation induction agents experimentally on ovarian surface epithelium in rats

**MATERIAL AND METHODS:** Seventy female, 90-days-old rats were enrolled for this trial. They were randomly divided into seven groups. Five groups of rats received clomiphene citrate, HMG, rFSH, letrozole and hCG respectively twelve cycles for ovulation induction. Remaining two groups accepted as control groups without ovulation induction. After six cycles of ovulation induction administration right ovaries of rats were excluded for histopathological examination and then the remaining ovaries excluded for histopathological examination after twelve cycles of ovulation induction. Ovarian surface epithelium examined under light microscopy. One Way Anova test and Tukey HSD test performed for comparisons of all groups.

**RESULTS:** No malignant pathology determined in all groups by histopathologic examination however, epithelial dysplasia scores were significantly increased in the groups inducted with clomiphene citrate, rFSH, HMG and letrozole when compared with control groups ( $p < 0.05$ ). In the group received only hCG no significantly epithelial dysplastic changes determined.

**CONCLUSION:** According our findings, ovulation induction agents (except hCG) make dysplastic changes on ovary surface epithelium. These dysplastic changes are accepted as premalignant lesion. Finally ovulation induction must be performed by specialists about ovulation induction and,

ovulation-induced women should be followed up orderly in case of ovarian cancer risk in a careful manner.

**KEY WORDS:** Infertility, ovulation induction, ovarian surface epithelium, ovarian epithelial dysplasia, ovarian epithelial carcinoma.

### 3.GİRİŞ

İnfertilite, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tanımına göre çiftlerin bir yıl süre ile korunmamasına rağmen gebeliğin oluşmaması olarak tanımlanmaktadır. Doğurganlık çağındaki çiftlerin % 10-15'inde infertiliteye rastlanır. İnfertilite oranı genel olarak stabil olmasına rağmen, son yıllarda infertilite kliniğine başvuru sayısında önemli ölçüde artış gözlenmiştir. Bu artışın önemli nedenleri arasında medyanın son zamanlarda yardımcı üreme teknikleri ve diğer infertilite tedavileri ile ilgili yayınlar yapması sonucu insanların sorunla ilgili bilgilerinin artması, ikinci dünya savaşı sonrasında oluşan nüfus patlaması sonucu doğan kuşağın doğurganlık çağına erişmesi ve sosyolojik değişiklikler sonucu geç evlenme ve çocuk doğurma yaşının ertelenmesi sayılabilir (1).

İnfertilite değişik toplumlarda farklı nedenlerden dolayı ortaya çıkmaktadır. Hull ve arkadaşlarının İngiltere Bristol'da 708 çift arasında yaptıkları bir araştırmada infertilite nedenlerinin %21'inin ovaryan yetmezlik, %14'ünün tubal faktör, %21'inin erkek faktörü ve %28'inin açıklanamayan infertilite olduğu bulunmuştur (2). Pratik olarak infertilite nedenleri bilinen ve açıklanamayan infertilite olarak iki ana kategoriye ayrılabilir. Günümüzde ise infertilite nedenleri anovulasyon, tubal faktörler, erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite olarak kategorize edilmektedir. Uterin ve endometrial faktörler, gamet ve embriyo defektleri ve gamet veya embriyonun mikro çevresini etkileyebilecek herhangi bir durum da infertilitede rol oynayan diğer faktörlerdir.

Konsepsiyonun oluşması için oosite ulaşabilecek ve oositi fertilize edebilecek normal, hareketli ve yeterli sayıda spermatozoa olması, eş zamanlı uygun oosit salınımı, spermin oosite ulaşabilmesi ve zigot ya da embriyonun

uterusa ulaşabilmesi için serbest bir pasajın olması ve implantasyona izin verecek matür bir endometriyumun olması gerekmektedir. Bu evrelerdeki herhangi bir defekt gebelik oluşumunu engelleyecektir.

Eskiden tedaviye dirençli olarak düşünülen infertilite problemleri yeni tedavi protokolleri ile giderek çözümlenmektedir. Tubal okluzif hastalıklara bağlı infertilite invitro fertilizasyon ile aşılmıştır. Erkek infertilitesinin ise spermin intrasitoplazmik injeksiyonu ile üstesinden gelinmiştir. Kadınlardaki yaşlanmaya bağlı ortaya çıkan üreme problemleri ise genç bayanlardan alınan donör oosit ile çözülmüştür.

Ancak kadınlardaki en önemli infertilite problemi yaklaşık olarak %40 oranında ovulasyon yetersizliğidir (3). Ovulasyon yetersizliği anovulasyon veya ciddi oligoovulasyon şeklinde olabilir. Dünya Sağlık Örgütü ovulatuvar bozuklukları üç ana gruba ayırmıştır (3):

Grup I: Hipotalamik hipofizer yetmezlik

Düşük gonadotropin ve östrojen seviyeleri ile seyreden hipogonadotropik hipogonadizmi, normal prolaktin konsantrasyonları olan ve progesteron challenge testine yetersiz kanama ile cevap veren hastalardır. Bunlar hipotalamik amenore, strese bağlı amenore, anoreksia nevroza, Kallmann sendromu ve izole gonadotropin eksikliği olan hastalardır.

Grup II: Hipotalamik hipofizer disfonksiyon

Normogonadotropik, normoöstrojenik, anovulatuvar, oligomenoreik hastaları kapsamaktadır. Polikistik over sendromu (PKOS) bu kategoriye girmektedir.

Grup III: Ovaryan yetmezlik

Bu gruptaki hastalarda hipergonadotropik hipogonadizmle birlikte düşük östrojen seviyeleri mevcuttur. Ovaryan yetmezlik ve ovaryan rezistansların tüm varyantları bu gruba girmektedir.

Ovulasyonun düzenli olmadığı ya da hiç olmadığı durumlarda kadınların gebelik için şansı ya oldukça az ya da hiç yoktur. Anovulatuvar veya oligoovulatuvar kadınlara ovulasyonu indüklemek veya ovulasyonun sıklığını arttırmak için ovulasyon indüksiyon ajanları başlanmaktadır. Eğer anovulasyon tek infertilite faktörü ise birçok çiftte 3 ay içerisinde gebelik oluşmaktadır (3). Anovulatuvar infertilitede ana nedenler PKOS (yaklaşık %80), hiperprolaktinemi (%5) ve hipogonadotropik hipogonadizm (%5)'dir. Prematür ovaryan yetmezlik de %4 oranında görülmektedir ve tedavisi sadece oosit donorü ile olmaktadır (4). Ovulasyon indüksiyonu infertilite tedavisinde yaklaşık yarım yüzyıldır kullanımdadır.

İnfertilite tedavisinde elde edilen başarıya paralel olarak ovulasyon indüksiyon ajanlarının kullanımı her geçen gün artmaktadır. Bu artış aynı zamanda istenmeyen yan etkileri de beraberinde getirmektedir. En sık rastlanan ciddi yan etkisi ovaryan hiperstimulasyon sendromu (OHSS)'dur. Bu iyatrojenik durum stimulasyon protokollerinin %0.3-5'inde meydana gelen ölümcül olabilecek bir durumdur (5). Ovulasyon indüksiyonunda %35 oranında karşılaşılan çoğul gebelikler beraberinde getirdiği morbidite ve fetal mortalite nedeniyle istenmeyen durumlardan biridir (3). Ayrıca ovulasyon indüksiyonu sonrası meme, over ve endometrium kanseri insidansındaki artış ile ilgili çok sayıda olgu sunumları ve vaka kontrol çalışmaları bildirilmiştir.

Ancak ovulasyon indüksiyonu ve ovaryan malignansiler arasındaki ilişki henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu konudaki belirsizlik nedeniyle, bu

konuyla ilgili yeni çalışmaların ve araştırmaların yapılmasına gerek vardır. Çünkü infertilite tedavisi alan kadınların sayısı oldukça fazladır ve gün geçtikçe de artmaktadır. Literatürde bildirilen çalışmalar vaka sunumu ve retrospektif çalışmalardır. Bu nedenle yaptığımız bu çalışmanın ovulasyon indüksiyon ajanları ile ovaryan tümörler arasındaki ilişkinin anlaşılmasına önemli katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.



## 4.GENEL BİLGİLER

### 4.1. İnsanlarda over morfolojisi

#### 4.1.1. Overin anatomik yapısı:

Overler erkekteki testislerin karşılığı olan ve pelvis minörün duvarlarına yerleşmiş bir çift organdır. 2,5-5 cm uzunluğunda, 1,5-3 cm genişliğinde, 0,7-1 cm kalınlığında ve 4-8 gr ağırlığındadır. Medial ve lateral olmak üzere iki yüzü, anterior (mezoovaryan) ve posterior (serbest) olmak üzere iki kenarı, tubal (üst) ve uterin (alt) olmak üzere iki kutbu vardır. Uterus ve adneksler normal pozisyonda iken uzun eksenleri genellikle vertikal yerleşimlidir. Medial yüzleri düzgünken posterior yüzlerinde ise genellikle folikül gelişimi ve rüptürüne bağlı olarak çok sayıda skar mevcuttur (6).

Overlerin kanlanması başlıca ovaryan arterlerden olmaktadır. Ovaryan arterler genellikle abdominal aortadan çıkarlar ancak sol ovaryan arter sıklıkla sol renal arterden çıkmaktadır. Aşağı doğru indikçe birbirlerinden uzaklaşırlar. Common iliak arter düzeyinde mediale doğru dönerek bu arterleri ve üreterleri çaprazlayarak mezoovaryum içindeki ligamentum suspensorium ovari içerisinde pelvise girerler. Overlerin kanlanmasını sağlayan diğer bir kaynak da uterin arterin ovaryan dalıdır. Kan damarları hilum ovariden içeri girerek kapiller dallara ayrılırlar. Overlerin venleri; arterleri takip ederek hilum ovariden çıkarlar ve mezoovaryum yaprakları arasında plexus pampiniformis denilen venöz plexusu oluştururlar (6).

Bu venler yukarı çıktıkça birbirleri ile birleşerek vena ovarikayı oluştururlar. Vena ovarikalar; arteria ovarikalar ile seyredip sol taraftaki vena

renalise, sağ taraftaki ise vena kava inferiora açılır. Overlerin lenfatikleri ise kan damarları ile birlikte uzanır ve retroperitonda preaortik ve lateral aortik lenf nodlarına açılırlar. (7)

Lenf kanallarının over içindeki dağılımlarının çok yaygın olması preovulatar foliküler sıvının artışı sağladığını düşündürmektedir. Overlerin sinirleri ise lumbosakral sempatik zincirden gelir ve gonadlara ovaryan arterleri takip ederek gelirler (6).

#### **4.1.2. Overin histolojik yapısı:**

Overler küboidal hücrelerden oluşmuş yüzey epiteliyle çevrili, korteks ve medullası olan organlardır. Medulla bağ dokusu, düz kas hücreleri, çeşitli kan damarları, sinirler, lenf damarları ve destekleyici dokudan oluşmuştur. Korteks çok sayıda damar ve skatrize olmuş folikül içeren ince bir areolar stromadır. Kortekste oositin matüritesindeki tüm evreleri içeren epitelyal hücrelerden oluşmuş foliküller mevcuttur. En matür folikül büyüyerek overin serbest yüzeyine doğru çıkıntı yapar ve gözle görülür bir hale gelir. Bunlara graaf folikülü denir. Tam olarak matür hale geldiğinde çatlayarak ovumu serbest bırakır. Daha sonra korpus luteuma farklılaşır. Korpus luteumda skar dokusu oluşmaya başlayınca korpus albicans halini alır (6).

Korteksin stromasında kollajen lifler, retikulum lif ağı ve iğ şeklindeki ince uzun stromal hücreler mevcuttur. Kollajen lifler süperfisiyal kortekste yoğunlaşarak tunika albugineayı oluşturur. Elastik lifler ise sadece damar duvarlarında bulunur. Medulla stromasında elastin liflerden yoğun, düz kas hücrelerinin bulunduğu fibroelastik gevşek bağ dokusu mevcuttur (8).

Stromal korteks ve periovaryan bölgelerde iğ şeklindeki stromal hücrelerin yanında, desidual hücreler, lipitten zengin intersitisyel hücreler de

yer almaktadır. Medullada ise oksidatif enzimleri içeren stromal hücreler bulunur. İntersitisyel hücreler, büyük epiteloid hücrelerdir. Belirgin nükleoluslara sahip ve ortada yuvarlak çekirdeği olan poligonal şekillidirler. Bu hücreler medullada bulunurlar. Stromal dokuda, hCG ve LH reseptörleri mevcuttur. Gonadotropinler ve hCG etkisiyle, androstenodion, dihidroepiandrosteron ve az miktarda testosteron salgılanır (8,9).

Yeni doğmuş bir kız çocuğunda yaklaşık olarak 400.000 adet primordiyal folikül bulunur. Bunların sayısı, menopozun sonuna kadar atrezi ve folikülogenez şeklinde ilerleyerek azalır. 400.000 primordiyal follikülün yaklaşık olarak 400 tanesi ovulasyona uğrar, geriye kalan %99.9'u atreziye uğrar. Tunika albuginea altında bulunan primordiyal foliküller, mayoz bölünmenin profazında diploten safhasında bulunan bir primer oosit ve çevresinde bazal lamina üzerine oturmuş tek sıra yassı granüloza hücrelerinden oluşur. Reprodüktif dönem boyunca, foliküler gelişme devam eder (10).

Hilum (rete ovarii), overin mezovaryuma bağlandığı kısımdır. Sinirler, kan damarları ve steroidogenezis ve tümör formasyonunda potansiyel aktiviteye sahip olan hilus hücrelerini içerir. Bu hücreler, testisin testosteron üreten Leydig hücrelerine oldukça benzerler (3).

#### **4.1.3. Over yüzey epiteli:**

Over yüzey epiteli (OSE) peritoneal kavite boyunca da uzanan çölemik epitelten köken alan kuboidal ve skuamöz hücrelerden oluşan tek katlı mezotelyal bir tabakadır (11). Bu fenotiplerin yanı sıra hücrelerde bazen sitoplazmik vakuoller ve apokrin benzeri sekresyonlar izlenir (12).

Ovulasyondan sonra kortikal stromaya doğru olan yarık overin yüzeyinde gözüktür. Stigma üzerinde inflamatuvar reaksiyon ve fibrin depolanması oluşur. Bu nedenle iyileşen kısımlar yüzeye olan bağlarını kaybeder ve epitelyal inkluzyon kistleri oluşur. Müsinöz, endometrioid ve transizyonel hücreli gibi çeşitli metaplastik değişiklikler yüzey epiteli ve inkluzyon kistlerinde meydana gelir. Bu değişikliklerin histolojik paternleri müllerian sistemin çeşitli kısımları ile benzerlik gösterir.

Hücre proliferasyonu foliküler boyutu artırmak ve ovulasyon sonrası yüzeydeki tamiri onarmak için gelişen preovulatuvar folikülün üzerindeki epitelyal yüzeyde meydana gelir (13). Kadınlarda reproduktif dönem boyunca ortalama olarak 400–500 kez meydana gelen bu foliküler gelişim siklusu ve ovulasyon overlerde fonksiyonel yükü artırır çünkü her ovulasyon tamiri gereken epitelyal hasara neden olur.

#### **4.1.4. Foliküler gelişme:**

İnsanlarda over gelişimi konsepsiyondan 3-4 hafta sonra başlamaktadır. Germ hücre migrasyonu, gonadal seks farklılaşması, germ hücre mitozu ile atrezisi ve foliküler formasyon gibi pek çok anahtar olay fetal hayat süresince başlar ve tamamlanır. Prepubertal ve reproduktif yıllarda meydana gelen germ hücre mayozu, foliküler gelişim ve atrezi gibi diğer anahtar olaylar da fetal hayat esnasında başlamaktadır. Ovaryan folikülogenezis ovaryan faktörler kadar gonadotropinler gibi ekstraovaryan faktörlerin de kontrolünde olan dinamik ve dengelenmiş fizyolojik bir süreçtir. Granuloza ve teka interna hücreleri arasındaki yakın ilişki foliküllerin parakrin veya otokrin bir ağla desteklenen normal steroidogenik fonksiyonları için önemlidir (14).

Foliküler gelişmenin puberteden önce başlayan safhası gonadotropin stimülasyonundan bağımsız olmaktadır (15). Ovulatuvar siklusun 10-14 gün süren foliküler fazı ise gonadotropin stimülasyonuna bağımlıdır ve bu süreçte primordiyal foliküller sırasıyla preantral, antral ve preovulatuvar (graaf) foliküllere farklılaşır.

**Primordial foliküller:** Kortekste ve hemen tunika albuginea altında bulunurlar. Doğumda ovaryumda bulunan tek folikül türü bunlardır. Gonadotropinlerin, özellikle FSH'nin stimülasyonu ile gelişerek primer folikülleri yaparlar. Primordial folikülde, primer oosit bazal lamina üzerine oturmuş, tek katlı yassı epitelle sarılıdır. Oosit çapı 30 mikrometre kadar olup, bir ya da daha fazla sayıda, merkezde yerleşik ince kromatinli büyük bir çekirdeğe sahiptir. Histolojik olarak iyi korunmuş ovaryum kesitlerinde mayoz safhasındaki kromozomları görmek mümkündür (16).

**Primer foliküller:** Primordial foliküldeki oosit büyür ve folikül hücreleri, tek katlı yassı epitel düzenini kaybedip, önce tek katlı kübik, daha sonra çoğalarak, düzensiz iki ya da üç katlı granuloza hücre tabakalarını yaparlar. Folikül, membrana limitans eksterna denilen kalın bir bazal laminayla sarılıdır. Bu değişiklikler folikülde olurken çevre stroma hücreleri sıklaşırlar ve 'teka folliküli' denilen, dış sınırı belirgin olmayan bir tabaka oluştururlar. Oosit ve çevre granuloza hücreleri, içinde her iki hücreden çıkan mikrovilluslar ve daha büyük uzantıların bulunduğu dar bir yöre ile ayrılırlar. Bu yöreye amorf bir madde salgılanır ve giderek yoğunlaşarak PAS ile koyu boyanan zona pellusida oluşur (16).

**Antral (sekonder) foliküller:** Primer foliküller büyürlerken granuloza hücreleri hızla çoğalırlar. Foliküllerin çapı 200 mikrometre olduğu ve

granuloza hücreleri oosit etrafında 6–10 sıra oluşturduklarında, berrak bir sıvı, granuloza hücreleri arasındaki farklı büyüklük ve şekildeki hücreler arası boşluklarda toplanmaya başlar. Bu sıvı, folikül sıvısı olarak adlandırılır ve çoğunlukla hyaluronik asitten zengin bir kan plazma süzütüsü olup, farklı zamanlarda konsantrasyonları değişen büyüme faktörleri, steroidler ve gonadotropik hormonları içerir. Bu sıvının miktarı arttıkça, toplandığı boşluklar birleşir ve tek bir yarım ay şeklinde antrum boşluğunu oluştururlar. Antrumun görülmesinden sonra folikül sekonder ya da antral folikül olarak adlandırılır. Antral folikül oositi, antruma doğru çıkıntı yapan granuloza hücre kitlesinin yöresel bir kalınlaşması olan kümülüs ooforusta yer alır. Zona pellusidayı sıkıca saran ve korona radiata denen birbirine sıkıca yapışmış granuloza hücre tabakası bulunur. Folikül büyümesinin antral safhasında ‘teka foliküllü’ daha belirgin olur ve gelişme ilerledikçe iki tabaka ayırt edilir. Teka interna daha ileride steroid salgılayan hücre özelliklerini kazanan epiteloid hücreler ve kapillerden zengindir. Teka eksterna daha çok iç biçimi hücrelerden ve bağ dokusundan oluşmuştur. Teka interna ile teka eksterna ve teka eksterna ile çevre over stroması arasında kesin sınır gözlenmez. Folikülün kalın granuloza hücre tabakası folikül gelişmesi boyunca damarsızdır ve teka interna kapillerinden diffüzyon ile beslenir (16).

**Graaf (tersiyer, olgun) folikülleri:** Siklusun folikül safhasının ikinci yarısında antral folikül grubunun çoğu atreziye uğrar, ancak baskın olan bir antral folikül büyümeye devam eder. 100 mikrometre çapındaki oosit artık büyümeyi bırakır. Folikülün kendisi sonraki iki haftada büyüyerek siklusun birinci gününde yalnız 2 mm iken ondördüncü gününde 15-20 mm büyüklüğe erişir. Olgun folikül büyük yarı şeffaf bir veziküldür. Korteksin tüm kalınlığını

kaplayarak over yüzeyinden dışarı doğru çıkıntı yapar. Kümüls ooforus temelindeki hücreler arası sıvı dolu boşluklar birleşirler. Bunun sonucu olarak oosit, korona radiatasıyla birlikte kümülüs ooforustan ayrılır ve foliküler sıvıda yüzer (16).

#### **4.2 Ovulasyon:**

Ovulasyon ve luteinizasyon memelilerin dişi üreme sistemlerinde gonadotropinlerden folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) ile regüle olan anahtar süreçlerdir. Bu hormonlar foliküler gelişim ve oosit maturasyonu gibi preovulatuvar süreçleri de indükler. Bu süreçler, kesin olarak gonadotropinler aracılığı ile meydana gelir, fakat buna rağmen gonadotropinlerin bu regülasyonu nasıl yaptığı hala belirsizdir.

Preovulatuvar folikül östrojenin aracılığı ile kendi ovulatuvar stimulusunu başlatır. LH pikinden yaklaşık 10-12 saat ve estradiol pikinden yaklaşık 24-36 saat sonra ovulasyon başlar (17). Oositin tam maturasyonunun olması için LH konsantrasyon eşliğinin 14–27 saat sürmesi gerekmektedir (18).

Gonadotropinlerin diurnal salınımı ovulasyonun sağlanması, oositin ve kümülüs ooforusun salınımı gibi birçok olayı stimüle eder (19). LH salınımı oositte mayoz bölünmenin devamını başlatır (Mayoz bölünme spermin oosite girip ikinci polar cisimciğin salınmasına kadar tamamlanmamaktadır.). Granuloza hücrelerinin luteinizasyonu, kümülüsün genişlemesi, prostaglandinlerin ve diğer eikozanoidlerin sentezi folikül rüptürü için şarttır. Prematür oosit maturasyonu ve luteinizasyon lokal faktörlerle engellenebilir. LH ile indüklenen siklik AMP (cAMP) aktivitesi oosit maturasyon inhibitörü (OMI) ve luteinizasyon inhibitörünün (LI) lokal inhibitör aktivitelerini baskılamaktadır (20). Luteal hücreler tarafından üretilen aktivin de progesteron

üretimini süprese eder ve prematür luteinizasyonu engeller (21). Oositin granuloza hücre fonksiyonları üzerinde kontrolü olduğuna dair pek çok kanıt mevcuttur (22). Bitişik granuloza hücrelerinde FSH ile indüklenen LH reseptör ekspresyonları oosit tarafından süprese edilir. Oosit, ovulasyondan hemen önce kümülüs hücrelerinin gonadotropinlerin fiziksel ve biyokimyasal değişikliklerine cevap vermesini kolaylaştırır. Prematür oosit maturasyonunu ve luteinizasyonu engelleyen lokal faktörlerin de oositin kontrolü altında olduğu düşünülmektedir. LH salınımı ile foliküldeki progesteron seviyesi ovulasyon zamanına kadar yükselmeye devam eder. Progesteron seviyesindeki progresif yükselme en yüksek konsantrasyona ulaştığında LH salınımının sonlanması için negatif feedback etki yapar. Progesteron, santral etkilerine ek olarak folikül duvarının gerginliğini de arttırmaktadır. Foliküler duvardaki elastik özelliklerdeki değişim intrafoliküler basınç artışı olmadan foliküler sıvı hacmindeki hızlı artışı açıklamak için önemlidir. Ovumun folikülden atılımı foliküler duvardaki dejeneratif kollojen değişiklikleri ile ilgilidir, bu nedenle ovulasyondan hemen önce foliküler duvar incelir ve gerginleşir. FSH, LH ve progesteron proteolitik enzimlerin aktivitelerini stimüle ederek foliküler duvarda kollajen ve gerginliği arttırmaları. Granuloza hücreleri tarafından üretilen plazminojen aktivatörleri foliküler sıvıda plazmin üreten plazminojeni aktive ederler. Plazmin aktif kollojenazı oluşturarak folikül duvarını parçalar. (23). Böylece ovulasyondan önce ve sonra inhibitör aktivite yüksekken, ovulasyon esnasında aktivatör aktivite yüksek ve inhibitör aktivite en düşük seviyede olur. Granuloza hücrelerindeki plazminojen aktivatör sentezi sadece preovulatuvar evrede LH'a yanıt olarak ortaya çıkar. Tekal ve interstisyel hücrelerde çok aktif olan inhibitör sistem plazminojenin zamansız



aktivasyonunu ve büyüyen foliküllerin zamansız rüptürünü önler. Foliküllerin ovulasyonu başlatacak olan over yüzeyine olan hareketi önemlidir çünkü bu şekilde rüptüre olacak folikül plazminojen inhibitörü yönünden zengin olan hücrelerden uzaklaşmış olur.

Prostaglandinler overde tanımlanmış olan düz kas hücrelerini kasarak kümülüs ooforustaki hücre kitlesinin atılımını sağlar. Prostaglandinlerin bu rolü çok iyi gösterilmiştir bu nedenle infertilite hastalarının prostaglandin sentez inhibitörleri kullanmalarından kaçınılmalıdır (24).

Estradiol düzeyi LH pik düzeyine ulaştığında azalır. Bu LH'ın folikül üzerindeki kendi reseptörlerinin down-regulasyonunun bir sonucu olabilir. Sağlıklı antral foliküllerden elde edilen tekal dokularda; yüksek LH seviyelerine maruz bırakıldığında steroidogenezin anlamlı olarak süprese olduğu gösterilmiştir, hâlbuki LH seviyelerinin düşük düzeyde olması steroid üretimini stimüle etmektedir.

Preovuluar progesteron artışına bağlı olan FSH pikinin çok sayıda fonksiyonu vardır. Yeterli FSH piki granuloza tabakası üzerinde yeterli LH reseptör tamamlanmasını sağlar. Foliküler fazdaki FSH düzeyi düşük olduğunda veya süprese olduğunda luteal fazın kısa veya yetersiz olacağı unutulmamalıdır.

LH salınımını durduran mekanizma tam olarak bilinmemektedir. LH'taki yükselmeyi takip eden saatlerde plazma östrojen düzeyinde hızlı bir düşüş gözlenir. LH seviyesindeki düşüş; estradiolün pozitif stimülatör etkisindeki bir kayıp veya progesteronun negatif feedback etkisindeki bir yükselmeye bağlı olabilir. LH seviyesindeki ani düşüş GnRH reseptör downregulasyonuna bağlı olan pituiter LH içeriğinin tüketiminin bir yansıması

da olabilir. LH; ayrıca LH'nın hipotalamus üzerindeki kısa negatif feedback etkisinin kontrolünde olabilir. Hipotalamik relasing-hormone üretimine LH'nın direkt süpresyon etkisi gösterilmiştir. Ayrıca overden köken alan gonadotropin salınım inhibitör faktörü (GnSIF) de başka bir ihtimal olarak kabul edilmektedir (25).

GnSIF; FSH kontrolü altında granulaza hücrelerinde üretilmektedir ve midfoliküler fazda pik düzeye ulaşır. Major rolünün prematür luteinizasyonu engellemesi olduğuna inanılmaktadır. Tüm bu etkilerin kombinasyonunun gonadotropin sekresyonundaki hızlı düşüşe neden olduğu gözükmektedir. Midsiklustaki steroidogenez süpresyonu ovulasyonu engeller fakat oosit mayozunun başlamasını engellemez. Yeterli gonadotropin seviyesi ovulasyonu sağlamaz. Folikülün ovulatuvar stimulusa cevap vermesi için uygun maturite evresinde olması gerekir. Normal siklusta gonadotropin salınımı ve folikülün final maturasyonu aynı zamana rastlar çünkü gonadotropin salınımı estradiol seviyesi ile kontrol edilir. Bu nedenle gonadotropin salınımı morfolojik maturite ile koordine edilir ve eş zamanlı olur. İnsan siklusundaki zorunlu feedback ilişkileri sadece bir folikülün ovulasyona ulaşmasına izin verir.

### **4.3. Ovulasyon indüksiyonu:**

1960'lı yılların başlarına kadar anovulasyon ve diğer infertilite tiplerinin etkili tedavisi tam olarak bilinmiyordu.

1961 yılında Greenblatt ve arkadaşları ilk olarak o zamanki adıyla MRL-41 diye bilinen klomifen sitrat kullanarak başarıya ulaşmışlardır (26). Gemzell ve arkadaşları 1958 yılında insan hipofiz gonadotropinlerini kullanarak ovulasyon indüksiyonu yapmışlar ve 1960 yılında gebelik elde

etmişlerdir (27). Hem Gemzell hem de Bettendorf hipofizektomili hastalara insan pituiter gonadotropini uygulayarak gebelik sağlamışlardır (28,29).

Lunenfeld ve İnsler 1970 yılında menopozal kadınların idrarından elde ettikleri gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu gerçekleştirip, amenoreik kadınlarda geniş bir gebelik serisi bildirmişlerdir (30).

1970'li yıllarda anovulasyon tedavisi için gonadotropin releasing hormon (GnRH) ve prolaktin inhibe edici ajanlar olmak üzere iki modalite ileri sürülmüştür. GnRH izole edilmiş ve yapısı tanımlanmıştır. Kısa bir süre sonra laboratuarda doğal GnRH preparat sentezi ile klinik kullanım için daha uygun hale gelmiştir. 1980 yılında Knobil GnRH'ın sürekli değil pulsatil verilmesinin daha efektif olacağını kesin olarak göstermiştir (31).

Gerçekten de pulsatil GnRH tedavisinin hipotalamik kökenli hipogonadotropik amenoreli kadınlarda ovulasyon indüksiyonu ve gebelik gerçekleşmesinde çok etkili olduğu kanıtlanmıştır.

Bu gün ovulasyon indüksiyonunda amaç, anovulatuvar hastalarda ovulasyonu başlatmaktır. Ovulasyon sağlanabildiği durumlarda ise ana amaç unifoliküler ovulasyondur. Günümüzde 3 değişik tipte ovulasyon indüksiyonu uygulanmaktadır (32).

1-Substitution (yerine koyma) Tedavisi: Gonadotropin eksikliği olan amenoreik kadınlara (WHO grup I) uygulanan tedavidir.

2-Regülasyon tedavisi: Oligoovülasyonu veya persiste anovulasyonu olan kadınlara uygulanan tedavidir. (PKOS gibi).

3-Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon (KOH): Bu yöntem ise multifaktöryel infertilitesi (hafif endometriozis, geçici anovulasyon, hafif oligoastenopermi,

tek taraflı tubal oklüzyon gibi nedenlerin kombinasyonu) olan veya sebebi açıklanamayan infertilitesi olan hastalara uygulanmakta olan tedavidir. Hemen daima intrauterin inseminasyon ve invitro fertilizasyon ile birlikte kullanılır.

#### **4.4. Ovulasyon indüksiyon ajanları:**

##### **4.4.1. Klomifen sitrat:**

Klomifen sitrat ilk olarak 1956 yılında sentezlenmiş ve klinik kullanımı 1960'ta başlamıştır. Klomifen sitrat oral yoldan alındığında aktif olan nonsteroidal bir ajandır. Cis ve trans izomerleri olarak adlandırılan iki sterokimyasal izomerin karışımından meydana gelmektedir. Günümüzde ise bu tanımlama yerine, izomerleri zuklomifen ve enklomifen olarak tanımlanmaktadır (33).

Klomifen 50 mglık tabletler halinde mevcuttur ve %38'i daha aktif olan zuklomifendir. Klomifenin yapısının östrojenik bir maddeye benzemesi etki mekanizmasının ipucudur. Klomifen çok zayıf östrojenik etki gösterir. Östrojene olan yapısal benzerliği östrojen reseptörleri tarafından tanınması ve bağlanması için yeterlidir. Ancak östrojenden farklı pek çok özelliği vardır (34). En önemlisi klomifenin; nükleer reseptörleri çok uzun süre, haftalar boyunca işgal etmesidir. Klomifen intraselüler östrojen reseptör konsantrasyonunu etkileyerek hipotalamik aktiviteyi düzenler. Klomifen sitrat varlığında hipotalamo-hipofizer aks dolaşımdaki östrojene duyarsızlaşır. Reseptör kapasitesi azaldığı ve gerçek östrojen uyarını düşüğü için negatif feedback azalacak ve GnRH sekresyonu aktive olacaktır. Klomifen uygulanan normal sikluslu kadınlarda GnRH puls frekansındaki artışı düşündüren FSH ve LH puls frekansında artma olur (35). Ancak anovulatuvar kadınlarda cevap daha farklı olur. Polikistik overli amenoreik kadınlarda GnRH salınımı zaten

maksimum düzeydedir. Bu kadınlarda klomifen gonadotropin puls amplitüdünü artırır.

Klomifen tedavisi direkt olarak ovulasyonu stimüle etmez. Fakat normal bir siklusun fizyolojik özellikleri olan olaylar sırasını düzenler. Hayvan modellerinde klomifen hipofiz üzerinde antiöstrojenik etki gösterir ve gonadotropin salınımını direkt olarak stimüle eder. Östrojen varlığında klomifen hipofizin GnRH'a yanıtını etkiler ve öncelikli olarak FSH sekresyonunu artırır. Östrojen yokluğunda ise klomifen östrojen agonisti gibi davranarak granuloza hücrelerindeki LH reseptörlerinin FSH ile stimülasyonunu direkt olarak artırır. Buna rağmen uterus, serviks ve vajinada antiöstrojenik etki gösterir. Klomifenin progestasyonel, kortikotropik, androjenik veya antiandrojenik etkileri yoktur. Farmakolojik etki süresi kısa da olsa sadece %51'i 5 gün içinde vücuttan atılmaktadır. Radyoaktif olarak işaretlenmiş klomifen uygulandıktan 6 hafta sonra bile feçeste izlenmiştir. Klomifen sitrat zayıf bir sentetik östrojen olmasına rağmen, ovulasyon indüksiyonu için kullanılan tipik farmakolojik dozlarda antiöstrojenik etki gösterir. Klomifen sitrat hipotalamusta antiöstrojenik etki ile ovulasyon indüksiyonu yapmakla birlikte, östrojene duyarlı diğer dokularda primer olarak agonistik veya antagonistik etki gösterebilir (34).

#### **4.4.2. Human Koryonik Gonadotropin:**

Human koryonik gonadotropin (hCG) karbohidrat yan zincirli glikoprotein yapılı bir hormondur. LH, FSH ve TSH'nın heterodimerik yapısı ile benzerlik gösterir. Bu hormonların  $\alpha$ -subüniteleri ortaktır,  $\beta$ -subüniteleri ile ayrılırlar (36).  $\beta$ -hCG en geniş  $\beta$ -subünitesidir ve geniş bir karbohidrat kısmı ve 145 aminoasitlik bir rezidü kısmı mevcuttur. Aminoasit parçasının 24

aminoasitten oluşan bir karboksil terminal kuyruğu mevcuttur.  $\beta$ -hCG'nin bu kısmında glikolizasyon için 4 bölge mevcuttur ve yarılanma ömrünün uzun olması glikolize olmasından kaynaklanmaktadır.

hCG 25 yıldan beridir foliküler maturasyonun sonlandırılmasında kullanılmaktadır (37). Mazer ve Ravetz gebe kısrakların serum gonodotropinlerini ve koyunların hipofiz ekstrelerini folikül stimülasyonu için ve hCG'yi folikül maturasyonunun sonlandırılması için amenoreik kadınlarda kullanmışlar ve pitüiter bir faktörün folikül gelişimini stimüle ettiği ve hCG'nin ovulasyonu indüklediği sonucuna varmışlardır (38).

#### **4.4.3. Human Menopozal Gonadotropin ve rFSH:**

Klomifen sitrat tedavisine yanıt vermeyen ve hipogonadotropik hipogonadizme bağlı ovulasyon disfonksiyonu olan hastalarda tedavi seçeneği gonadotropinlerdir. En çok kullanılan ilaç human menopozal gonadotropin (hMG)'dir. Human menopozal gonadotropin postmenopozal kadınların idrarlarından yapılmakta (39) olup, 75 IU FSH, 75 IU LH içermektedir.

FSH ve LH ön hipofizden sentezlenen glikoprotein yapıli hormonlardır. Her iki hormon da endokrin hormonlardır ve reproduktif fizyolojide önemli rolleri vardır. Folikül stimüle edici hormon reseptörü (FSHR) ve luteinize edici hormon reseptörü (LHR) G-protein bağıli reseptörlerdir ve overdeki hedef hücrelerde eksprese olurlar. FSHR gelişen over foliküllerinin granuloza hücrelerinde, LHR ise gelişen over foliküllerinin erken döneminde teka hücrelerinde eksprese olurlar. FSH ve LH'nın granuloza ve teka hücreleri üzerindeki etkileri çok iyi nitelendirilmiştir ve foliküler gelişim için esansiyeldir (40).

Etki mekanizması klomifen sitrata göre daha iyi bilinmektedir. Tedavinin başarılı olabilmesi için overlerin fonksiyonel olması gerekir, çünkü verilen HMG endojen gonadotropinlerin yerini alarak ovulasyon indüksiyonu yapmaktadır. Spontan sikluslarda olduğu gibi FSH primer olarak granüloza hücreleri ve LH teka lutein hücreleri üzerinde etki göstererek folikülogenezisi uyarırlar.

HMG üriner bir üründür ve postmenopozal kadınların idrarlarından elde edilmektedir. Eşit oranda FSH ve LH içermektedir. LH'nın yüksek düzeyde olması ve bu nedenle fertilizasyonun ve implantasyonun negatif olarak etkilenmesi; FSH içeriği baskın olan yeni gonadotropin ürünlerinin (uFSH) gelişmesine yol açmıştır. uFSH'da üriner bir üründür ve idrar proteinleri ile kontaminedir. Son yıllarda giderek artan gonadotropin kullanımı ihtiyacı oldukça arttırmıştır. Bugünün ihtiyacını karşılamak için yıllık olarak tahmin edilen idrar miktarı 120 milyon litredir. Bu kadar fazla miktarda substratın temin edilmesi ve kalite kontrolünün yapılması fikri araştırmacıları saf ve çok miktarda bir ürün elde etmeye yöneltmiştir ve rekombinant FSH (rFSH) üretilmiştir. rFSH; insan FSH gen kodları ile transfekte edilmiş hamster over hücrelerinden üretilmektedir.

#### **4.4.4. Letrazol:**

Letrazol bir non-steroidal aromataz inhibitörüdür. Aromataz; over, yağ dokusu, kas, karaciğer ve meme gibi pek çok dokuda bulunan bir sitokrom P-450 enzim kompleksidir. Östrojen biyosentezinde son basamak olan androstenedion ve testosteronun estron ve estradiole aromatisasyonunda gereklidir. Aromataz inhibitörleri iki ana gruba ayrılırlar. Tip 1 inhibitörler steroidal yapıdadır ve enzimin sustrat bağlayıcı kısmına bağlanırlar. Substratın

varlığına veya yokluğuna göre enzimi reversible veya irreversible olarak inhibe ederler. Tip 2 inhibitörler ise sitokrom P450 enziminin alt nitesi olan heme kompetitif olarak bağlanmak suretiyle aromataz enzimini inhibe ederler; bunun sonucunda bütün dokularda estrojen biyosentezi azalır. Letrazol tip 2 aromataz inhibitörüdür.

Letrazol; ilk defa 1997 yılında metastatik ve lokal ileri meme kanserli, hormon reseptörü (ER ve/veya PR) pozitif veya hormon reseptör durumu bilinmeyen, postmenopozal dönemdeki kadın hastalarda ilk basamak tedavisinde kullanılmıştır (41).

Sağlıklı gönüllülerde letrazol oral yoldan alındığında hızlı bir şekilde ve tamamıyla absorbe olur ve geniş bir distribüsyon gösterir (42). Tek doz sonrası plazma yarılanma ömrünün sağlıklı gönüllülerde 42 saat (43) ve meme kanserli hastalarda 82 saat olduğu bulunmuştur (44).

Letrazoln estradiol üretimini baskılamasından yola çıkılarak, kısa dönem kullanılmasıyla ovulasyon indüksiyonunun sağlanmasında, uzun dönemli tedavisinde ise endometriozisin tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür. Bonnet maymunları üzerinde yapılan bir çalışmada letrazoln multipl matür folikül oluşmasında oldukça etkili olduğu gösterilmiştir (45).

Mitwally ve Casper 2002'de yaptıkları çalışmada gonadotropin tedavisine düşük cevap gösteren infertil hastalarda tedaviye aromataz inhibitörlerinden letrazol eklemişler ve bunun sonucu olarak siklusun erken dönemlerinde estradiol seviyesinin azalması ile gonadotropin sekresyonunun artması sağlanmıştır. Gonadotropin tedavisine ovaryan cevabın düşük olduğu infertil hastalarda gonadotropin tedavisine letrazol eklenmesi ile daha fazla matür folikül elde edilebileceği gösterilmiştir (46).



#### **4.4.5. Tamoksifen**

Tamoksifen sitrat kontraseptif olarak sentezlenmiş nonsteroidal oral bir anti-östrojendir (47). Selektif östrojen reseptör modölatör ailesine dahildir. Tamoksifenin ovulasyon indüksiyon ajanı olarak kullanımı ilk olarak 1971 yılında yayımlanmıştır (48). Klopper ve Hall tamoksifeni 20 hastada 40 siklusta 10 mg/gün olarak, kanamanın başlamasından üç-beş gün sonra dört gün boyunca kullanmışlardır. Tamoksifenin anovuluar infertil kadınlarda ovulasyonu indüklediğini savunmuşlardır. Tamoksifeni efektif bir ovulasyon indüksiyon ajanı olarak tanımlayan başka çalışmalar da yapılmıştır (49). Ayrıca tamoksifenin, ilk olarak 1973 yılında İngiltere’de ve 1977 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde lenf nodu pozitif meme kanserli postmenopozal hastalarda adjuvan kemoterapi ajanı olarak kullanımı onaylanmıştır (50).

#### **4.5. Ratlarda östrus siklusu:**

Ratlar aktif seksüel hayatı yaklaşık olarak bir yıl olan poliöstrik, ortalama 2 yıl yaşayan, dişileri 150-200 gr., erkekleri 250-300 gr. ağırlığında olan kemirgen hayvanlardır. İnsanlardaki gibi, rat kendiliğinden ovuluar fakat dört veya beş gün kadar olan bir östrus siklusuna sahiptir. Ratların östrus siklusları LH, FSH, östrojen ve progesteron seviyelerinin pik yaptığı proöstrus; FSH ve LH’nın yüksek düzeyde ve östrojenin düşük düzeyde olduğu östrus; LH seviyesinin düştüğü meteöstrus ve östrojen düzeyinin artmaya başladığı diöstrus evrelerinden oluşmaktadır (51).

Östrus genellikle gece 22’den 01’e kadar görülür. Çoğunlukla 1-7 saat sürer. Seksüel siklus ise, 2-10 gün arasındadır. Bu değişiklikler, dişinin ırkına, yaşına ve dış faktörlere bağlıdır. Çiftleştirilecek erkekler ortalama 230gr, dişiler ise 190-220 gr. olmalıdır. Dişilerde 5-6 haftanın sonunda hymen

kaybolur ve ilk östrus birkaç gün sonra görülür. İlk kızgınlık albino ratlarda ortalama 39, diğer ratlarda ise 52. günde tespit edilir. Bu evrelerin her biri özel davranış değişiklikleri, vajina ve uterus epitelyumunda periyodik histolojik değişikliklerle karakterizedir. Vajinal mukusun; hemato-eosin boyası ile boyanması ile keratinize hücreler, polinükleer hücreler, çekirdekli epitel hücreleri görülür. Bu elementler östrus süresince bol miktarda bulunur. Diöstrus süresince tersine, genç epitel hücreleri görülür (52).

İnsanlarda olduğu gibi ratlarda da FSH, foliküler gelişme ve maturasyon için gereklidir. Gerçekte FSH östrus siklusu boyunca pulsatil bir tarzda ve düşük seviyelerde salgılanır fakat, ovulasyon zamanı civarında belirgin bir artış vardır (53). LH'nın bazal deşarjı ile birlikte olan ön hipofizden FSH'nın salınımı ve bunu takiben dolaşım seviyelerindeki artış, olgun foliküllerin son büyüklüğe ulaşmalarına ve estradiolün pik yapmasına neden olur (54).

Bu, hayvanı seksüel birleşmeyi kabul ettiği kızgınlığa getirir. Foliküler fazın ortalarında estradiol ve FSH birlikte granüloza hücrelerinden LH reseptörlerinin yapımını stimüle etmek için ortaya çıkar ve böylece LH, folikülü ovulasyon ve lüteinizasyonu başarması için yeterli hassasiyete getirir (55).

Erken diöstrusda graaf folikülünden plazmaya estradiol salınımı düşüktür, fakat geç diöstrus süresince kademeli olarak artar. Folikül matürasyonuna eşlik eden estradiolün bu salınımı pro-östrusun öğlen sonrasında adenohipofizden ovulasyon öncesi LH salınımı için başlangıç stimulusu olduğu düşünülmektedir (56).

LH'nın bu yüksek seviyeleri, estradiolün sonraki üretimini önler ve bazı zamanlarda progesteron sekresyonunu uyarır. Aslında bu sebepsel ilişki anti-estradiol serumun yeterliliği ile surge yeterli şekilde baskılamıştır. Bu baskılama yukarıda bahsedilen nedensel ilişkiyi ortaya koymaktadır (57).

Bununla birlikte foliküllerin son maturasyonu esnasında az bir miktar progesteron üretimi gözlenir ki, bu da ovulasyonu kolaylaştırır. Östrus ve proöstrus arasında gece yarısından sonra meydana gelen ovulasyonu LH kendiliğinden stimüle eder. Yüksek oranda damarlanmış over folikülünden yükselerek dışa doğru bir çıkıntı oluşur. Graff foliküllerinin yüzeyindeki özel reseptörlere bağlanan LH, adenil siklazı stimüle eder, siklik adenozin monofosfat yapar ve progesteron üretimini uyarır. Progesteron, folikül duvarının kollajen kafesi üzerinde yapılan bir kollajenaz enziminin aktivasyon veya sentezini indükler, yoğunluğunu artırır ve kırılma kuvvetini azaltır. Sonuç olarak duvarın kopması ve oositin salınımı olur (58).

#### **4.6. Over kanseri:**

Kadınların yaklaşık %2'si hayatları boyunca over kanseri ile karşılaşır. Over kanseri kadınlarda akciğer, meme ve kolorektal karsinomalardan sonra kanserler arasında 4. sıklıktaki ölüm nedenidir. Over kanserlerinin tedavisi, tanı geç evrelerde konulduğu için güçtür. Çünkü son evrelere kadar asemptomatik seyreder.

Hastalığın insidansında payı olan risk faktörleri ( azalmış parite, oral kontraseptif kullanımının olmaması ve aile hikayesi gibi ) tanımlanmıştır ancak bu faktörlerin over kanser gelişimindeki etkileri için olası mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamamıştır (11). Over kanserleri tüm jinekolojik kanserler içinde en yüksek mortaliteye sahip olan kanserlerdir (59). Over kanserlerinin

yaklaşık %90'ı over yüzey epitelinden köken almaktadır (60). Over yüzey epitelinden over kanseri gelişiminin altında yatan faktörler yeterince açık değildir.

Yıllardır over kanserlerinin oluşumunu açıklamak için iki ana hipotez araştırılmıştır. Bunlardan birincisi sürekli ovulasyona bağlı over kanseri riski ile açıklanan ovulasyon hipotezidir (61,62). Diğeri ise östrojeni de arttıran gonadotropin düzeylerinin artması ile açıklanan pituitar gonadotropin hipotezidir (63)

#### **4.7. Ovulasyon indüksiyonu ve over kanseri arasındaki ilişki:**

Ovulasyon indüksiyon ajanları değişik tiplerdeki infertilite tedavilerinde yaklaşık yarım yüzyıldır geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte özellikle son iki dekatta yapılan vaka sunumları ve retrospektif çalışmalar bu ilaçların güvenilirliğini ve kullanımlarındaki risklerini tartışmaya başlamıştır. Bu çalışmaların esas korkutucu sonuçları infertilite tedavilerinin over, uterus ve meme kanseri gibi bazı kanserlerin riskindeki artış ile ilişkili olabileceğidir. Son yıllarda infertilite kliniğine başvuru sayısında önemli ölçüde artışın olması bu ilişkinin araştırılmasına güncellik kazandırmıştır.

Malign over tümörleri en öldürücü jinekolojik kanserlerdir (64) ve yaklaşık % 90'ı over yüzey epitel tabakasından köken almaktadır (60). Over yüzey epitelinin her birinin kendine ait A ve B zonları olan küboidal tip A hücreleri ve yassı, skuamöz tip B hücrelerinden oluştuğu elektron mikroskobu ile gösterilmiştir (65). Her iki hücre tipinin de hem prepubertal hem de ovuluar dönemde hayvanlarda gözlenmiş olması epitel hücre yapısının reproduktif fonksiyonlarla direkt ilişkili olmadığını düşündürmektedir. Fakat insan over epitel yüzeyi tip B hücrelerinin ovulasyon sonrası dönemde ortaya

çıkıldığı gözlemlenmiştir. Clow ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada primer amenoreli bir kadının overinde tip B hücresi görülmemiştir (10). B zonunun ovaryan yüzeydeki papilla ve yüzey köprüleri ile ilişkisi ve bunların ovulasyon bölgeleri ile olan birlikteliği; B hücrelerinin, ovulasyonun oluşturduğu kronik yüzey hasarına cevap sonucu meydana gelen metaplastik hücreler olduğunu düşündürmektedir (65). Epiteldeki fiziksel hasar aynı zamanda epitelin diğer yüzeylere adezyonuna neden olan anormal hücre proliferasyonu ile sonuçlanır (66).

Over kanseri insidansında etkili faktörler arasında genetik, menarş ve menopoz yaşı, gebelik, laktasyon, oral kontraseptif kullanımı ve parite gibi geçerliliğini koruyan bir çok neden ileri sürülmüştür (67,68).

Multiparite ve oral kontraseptif kullanımı over kanser riskini azaltan en önemli faktörlerdir. Laktasyon da over kanser riskini azaltan bir faktördür. Epidemiyolojik çalışmalar epitelyal over kanserlerinin riskinin ovulasyonu süprese eden faktörler (gebelik, emzirme, oral kontraseptif kullanımı gibi) ile azaldığını göstermiştir. Örneğin 12 vaka kontrol çalışmasının analizinde tek bir term gebeliğin over kanserinde %40 oranında koruyucu olduğu gösterilmiştir (69). Oral kontraseptiflerin 5 yıllık kullanımı da over kanseri riskini %50 oranında azaltmaktadır. Ayrıca over yüzey epiteli kanserlerinin seyrek olarak ovulasyona uğrayan hayvanlarda nadir görülmesi, bununla birlikte insanlar gibi sık ovulasyona sahip olan kuşlarda sık görülmesi ovulasyonun over yüzey epiteli kanseri için risk faktörü olduğunu desteklemektedir (70). Aynı zamanda epitelyal over kanserlerin anovulatuvar olan Turner sendromlu kadınlarda son derece nadir olması da bu görüşü desteklemektedir.

Epitelyal over kanseri patogenezinde ileri sürülen 'incessant ovulation' hipotezine göre, ovulasyon ile birlikte over epitelinin minör travması ve yüzey epitelinin östrojenden zengin folikül sıvısı ile karşılaşması epitelyal over kanseri oluşumunu arttırmaktadır. Bu hipotez, yukarıda bildirilen epidemiyolojik nedenler ile over kanseri arasındaki muhtemel ilişkiyi açıklamaktadır (61,71). Sürekli ovulasyon ve over kanseri gelişimi arasındaki ilişkiyi açıklamak için çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür. Bu teoriler hipotez kurmadan çok bazı deneysel bilgiler ile desteklenmektedir. Bu mekanizmalardan biri ovulasyonun epitelde yüksek düzeyde steroid hormonlar ve gonadotropin maruziyeti yapması ile epitelyal over kanseri riskini arttırabileceğidir. İkinci mekanizma ise ovuluar defektlerin over yüzeyindeki epitelyal hücrelerde proliferasyonla sonuçlanması ve bu nedenle spontan mutasyonların sıklığında ve akümülyasyonunda artış olmasıdır. Diğer bir mekanizma da ovulasyonun; daha sonra stroma altındaki inkluzyon kisti formasyonu oluşturan epitelyal hücrelerde değişikliklere neden olmasıdır. Bu inkluzyon kistleri kanser için öncül lezyonlardır. Çünkü içlerindeki sıvıda transformasyonu kolaylaştıran hormonlar ve büyüme faktörleri mevcuttur (72).

Ovulasyonun neden olduğu over yüzey epitel hücrelerindeki travma overleri bu süreçlere sensitif hale getirecektir. Hayvanlarda ovulasyon bölgesindeki over yüzey epiteli hücrelerinde DNA hasarı tespit edilmiştir ve bu bölgelerde DNA tamiri veya apoptoz olmazsa kanser gelişimi olabileceği ileri sürülmüştür (73). Ovulasyonun bir yıl süreyle artmasının epitelyal over kanseri riskini %6 arttırabileceği bildirilmiştir (74). Nieto ve arkadaşları ovulasyon indüksiyon tedavisi ve ovaryan epitelyal displazi arasında ilişki bulmuşlardır. Bu çalışmalarında ovulasyon indüksiyonu alan kadınlardaki ortalama epitelyal

displazi skoru fertil kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuşken nullipar kadınlar ve fertil kontrol grubundaki kadınlar arasında displazi skorunda fark bulunmamıştır (75).

Bu displazik değişiklikler overin invazif neoplazilerinin öncü lezyonları olabilir. Bu mekanizma ovulasyona bağlı mekanik travma (61) veya ovulasyon indüksiyonu alan kadınlarda vasküler endotelial büyüme faktörünün artması (76) ile açıklanabilir.

Fathalla ovaryan yüzey epitelinin ovulasyondan 24 saat sonra hızlı bir şekilde proliferere olduğunu ve over yüzeyindeki yarıklanmaların ve inklüzyon kistlerinin ovulasyondan hemen sonra belirginleştiğini göstermiştir (61). Casagrande ve arkadaşları bu konsepti oral kontraseptif kullanımı sonucu anovulasyonla ilişkili olan azalmış kanser riski ile genişletmişlerdir (77). Bu otörler ovaryan yüzey epitelindeki proliferasyonu ve malign transformasyonu, ovulasyon sonrası ovaryan yüzey epitelinin östrojenden zengin foliküler sıvıya yüksek oranda maruz kalmasına bağlamışlardır. 1983 yılında Cramer ve Welch ovaryan epitelyal yüzeyde yarıklanma ve inklüzyon kistlerinin oluşmasına neden olan invajinasyonun hayat boyunca tekrarlandığını bildirmişler ve bunun da ovaryan stromayı aşırı gonadotropin ( FSH ve LH ) stimülasyonuna uğratacağını düşünmüşlerdir. Bunların sonucu olarak da östrojen ve prekürsörlerinin stimülasyonunun artmasının epitelde proliferasyona ve malign transformasyona neden olabileceğini söylemişlerdir. Kısaca Cramer ve Welch over yüzey epitelinin hormonal çevresinin over yüzey epiteli hücrelerinin proliferatif aktivitesini regüle ederek epitelyal over kanseri gelişmesi ve ilerlemesinde rolü olduğu öne sürmüşlerdir (63).

Yapılan bazı çalışmalarda ovaryan kanserlerin postmenopozal kadınlar ve ovulasyon indüksiyon tedavisi almış kadınlar gibi gonadotropinlerin yüksek olduğu durumlarda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (69,78,79,80). Teorik olarak, tüm bu mekanizmaların geçerliliği kabul edildiğinde ovulasyonu arttıran olayların epitelyal over kanseri insidansını arttırması beklenebilir. Ancak çok sayıda yapılmış olan epidemiyolojik çalışmada fertilitite ilaçları ile tedavi sonrası epitelyal over kanseri insidansı konusunda değişken sonuçlar elde edilmiştir. Bu deneysel çalışmada ovulasyon indüksiyon ajanlarının over yüzey epiteli üzerinde yaptığı değişikliklerin araştırılması planlanmıştır.



## **5.GEREÇ VE YÖNTEM:**

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komitesi'nden izin alınarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Yetmiş adet düzenli siklusa sahip, 190 – 220 gram ağırlığında, 90 günlük, erişkin, dişi Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Çalışma boyunca ratlar özel odada ve paslanmaz çelikten yapılmış kafeslerde muhafaza edildi. Ratlar 22±2 °C sabit sıcaklıktaki odada tek tek kafeslerde ve oniki saat ışık ve oniki saat karanlık dönemler içinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda barındırıldı. Ratlara özel olarak hazırlanmış ticari besinle birlikte musluk suyu ad-libitum verildi. Çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kaidelerine uygun olarak yapıldı.

Çalışmaya dahil edilen ratlar herbirinde 10 rat bulunan 7 ayrı gruba ayrıldı. İki gruba oral ovulasyon indüksiyon ajanı uygulandı ve gruplardan biri de oral kontrol grubu olarak ayrıldı. Diğer üç gruba enjektabl ovulasyon indüksiyon ajanı uygulandı ve yine gruplardan biri kontrol grubu olarak ayrıldı. Ratlara uygulanan ajanlar menstruel sikluslarının diöstrus ve meteöstrus dönemleri boyunca iki gün ve toplam 12 siklus uygulandı.

### **Grupların Oluşturulması:**

Grup 1 (n=10): 6 siklus oral musluk suyu verilip önce sağ ooferektomi (Grup 1a), sonra 6 siklus daha oral musluk suyu verilip sol ooferektomi (Grup 1b) yapılan grup.

Grup 2 (n=10): 6 siklus intramüsküler (i.m.) serum fizyolojik uygulanıp önce sağ ooferektomi (Grup 2a), sonra 6 siklus daha i.m. serum fizyolojik uygulanıp sol ooferektomi (Grup 2b) yapılan grup.

Grup 3 (n=10): 6 siklus Klomifen sitrat verilip önce sağ ooferektomi (Grup 3a), sonra 6 siklus daha Klomifen sitrat verilip sol ooferektomi (Grup 3b) yapılan grup.

Grup 4 (n=10): 6 siklus rFSH uygulanıp önce sağ ooferektomi (Grup 4a), sonra 6 siklus daha rFSH uygulanıp sol ooferektomi (Grup 4b) yapılan grup.

Grup 5 (n=10): 6 siklus HMG uygulanıp önce sağ ooferektomi (Grup 5a), sonra 6 siklus daha HMG uygulanıp sol ooferektomi (Grup 5b) yapılan grup.

Grup 6 (n=10): 6 siklus Letrazol verilip önce sağ ooferektomi (Grup 6a), sonra 6 siklus daha Letrazol verilip sol ooferektomi (Grup 6b) yapılan grup.

Grup 7 (n=10): 6 siklus hCG uygulanıp önce sağ ooferektomi (Grup 7a), sonra 6 siklus daha hCG uygulanıp sol ooferektomi (Grup 7b) yapılan grup.

Kullandığımız ilaçların dozları insanlarda kullanılan günlük dozlara göre ayarlandı. Oral medikasyon gruplarında uygulanan ilaçlar, musluk suyunda günlük olarak çözünerek nazogastrik sonda ile oral yoldan ( ağızdan lavaj şeklinde ikinci birinin yardımı ile), enjektabl medikasyonlar ise i.m. olarak verildi. Klomifen sitrat (Klomen, Organon, İstanbul, Türkiye) 1 mg/kg, letrazol (Femara, Novartis, İstanbul, Türkiye) 0,05 mg/kg dozlarında nazogastrik sonda ile oral olarak; rFSH (Puregon, Organon, İstanbul, Türkiye) 2 IU/kg, HMG (Humegon, Organon, İstanbul, Türkiye) 2 IU/kg, hCG (Pregnyl, Organon, İstanbul, Türkiye) 100 IU/kg dozlarında i.m. olarak uygulandı. Ayrıca ovulasyon indüksiyonu uyguladığımız G3, G4, G5 ve G6'daki ratlara her siklusta insanlarda olduğu gibi hCG 100 IU/kg dozlarında i.m. olarak uygulandı. Oral medikasyonun kontrol gruplarına aynı şekilde nazogastrik sonda ile musluk suyu verildi ve enjektabl medikasyon kontrol gruplarına i.m. serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Diöstrus ve meteöstrus dönemlerinde

toplam 6 siklus ovulasyon indüksiyonu sonrası ratlara sağ ooferektomi yapıldı. Takiben 6 siklus daha aynı uygulamaya devam edilip toplam 12 siklus ovulasyon indüksiyonu sonrası sol ooferektomi yapıldı. Alınan over dokularının yüzey epitelleri histopatolojik olarak değerlendirildi.

### **5.1. Ratlarda vajinal smear değerlendirilmesi:**

Deneyde kullanılan ratların östrus siklusu evrelerinin belirlenmesi için her gün sabah 08.30 – 10.00 saatleri arasında hayvanların vajinal smear örneklerindeki hücrelerin morfolojik özelliklerine bir ışık mikroskopunda 10X büyütme objektif ile bakıldı.

Ratlardaki östrus dönemlerini belirlemek için Mallenby ve ark.'nın (81) kullandıkları vajinal smear yöntemi uygulandı. Vajinal smear alınmadan önce ratların vulva ve perianal bölgeleri % 70'lik alkolle silinerek temizlendikten sonra steril ve disposable tahta çubuklarla vajinal duvardan tahriş etmeyecek şekilde smear alındı. Alınan sürüntü temiz bir lam üzerine yayılarak, üzerine % 70'lik etil alkol damlatılarak beş dakika bekletilerek tespit edildi. Havada kurutulan sürüntü preparatları % 1'lik metilen mavisi ile beş dakika boyandı. Vajinal sitoloji takibinde diöstrus fazında tespit edilen ratlara kullandığımız ajanlar uygulanmaya başlandı.

### **5.2.Ratlarda Oofektominin Yapılışı:**

Toplam 6 siklus ovulasyon indüksiyon ajanı alan deney hayvanlarına sağ ooferektomi işlemi için 2ml/kg dozunda ketamin hidroklorid ile anestezi yapıldı. Ratlar dorso-ventral pozisyonda diseksiyon tahtasına yatırılarak abdominal bölge üzerindeki tüyler temizlendi. Temizlenen bölgenin merkez kısmından orta hattın bisturi ile yaklaşık olarak iki santimetrelilik deri insizyonu yapıldı. Cilt altı yağ dokusu, kas tabakası ve periton da geçilerek sağ overler

insizyon bölgesinden ucu künt bir pens yardımıyla etrafındaki yağ tabakası ile birlikte çıkarıldı. İşlem bittikten sonra kas tabakası ve deri 3/0 atravmatik ipek ile dikildi ve insizyon hattına betadin (Kansuk Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye) sürüldü. Bu işlem sonrası tüm ratlar tek tek kafeslere tekrar konularak ratlara 6 siklus daha ovulasyon indüksiyon ajanı uygulandı. Toplam 12 siklus sonrası ratlar aynı işleme tabi tutularak sol overleri de çıkarıldı. Takiben ratlar dekapitasyon ile öldürüldü.

Çıkarılan over dokuları histolojik inceleme için %10'luk formaldehitle fikse edilerek, parafin bloklara gömüldü, her over dokusundan 4 mikrometre kalınlığında 5 adet seri kesit alındı. Kesitler hematoksilen eozin ile boyandı.

### **5.3. Parametreler:**

Klinik Parametreler: Rat yaşı ( gün ), rat ağırlığı ( gram ).

Laboratuvar Parametreleri: Over dokusundan hazırlanan preparatlar, hematoksilen-eozin ile boyanarak ışık mikroskopisi altında incelendi. Histopatolojik inceleme tek bir patolog tarafından preparatların hangi gruba ait olduğu bilinmeden yapıldı. Over yüzey epitelinin histopatolojik değerlendirmesinde aşağıdaki özelliklere bakıldı.

- Epitelyal tabakalanma
- Epitelyal kümelenme
- Nükleer kromatin düzensizliği
- Nükleer kontur düzensizliği
- Selüler pleomorfizm
- Nükleer boyut artışı
- Nükleus/sitoplazma oranı
- Nükleolus varlığı ve boyutu

- Mitotik figür varlığı ve sayısı

Her preparatta en anormal alan değerlendirildi ve her özellik 0-2 puan (yok=0, var=1, çok var=2) olarak skorlandı. Bu şekilde overyan displazi skoru her preparat için 0-18 puan arası olarak hesaplandı.

**Verilerin istatistiksel analizi:** Her gruba ait 6. ve 12. siklusa ait değerlendirmeler önce kendi aralarında sonra kendi kontrol grubuyla en sonunda tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldı. Verilerin karşılaştırmasında One Way Anova testi ile Post Hoc test olarak Tukey HSD testi kullanıldı.  $P<0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

## 6. BULGULAR:

Çalışma boyunca kullanılan deneklerin hiçbirinde aktivitede azalma, hastalık ve ölüm gözlenmedi. Deneklerin tümü deney sonuna kadar canlı ve sağlıklı şekilde ulaştı. Histopatolojik değerlendirmede grupların hiçbirinde ovaryan maligniteye rastlanmadı. Her gruba ait elde edilen parametreler skorlanarak Tablo1’de gösterildi.

Kontrol grupları olan G1 ve G2’deki ratların over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerin olmadığı ve normal over yüzey epiteli histolojisi (resim 1) yapısında olduğu gözlemlendi. Ovaryan epitelyal displazi bulguları ise resim 2’de gösterildi.

Klomifen sitrat uygulanan G3’teki ratların over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği ve nükleer boyut artışı kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD). Yine bu grupta ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, epitelyal kümelenme (resim 3), pleomorfizm, nükleus/sitoplazma oranında artış, nükleol varlığı ve mitoz ise kontrol gruplarına göre artmış izlendi ancak istatistiksel olarak fark izlenmedi ( $p>0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

rFSH uygulanan G4’teki ratların over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği, nükleer boyut artışı ve nükleus/sitoplazma oranında artış kontrol

gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD). Yine bu grupta ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal kümelenme, pleomorfizm ve nükleol varlığı ise kontrol gruplarına göre artmış izlendi ancak istatistiksel olarak fark izlenmedi ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD). Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan mitoz ise izlenmedi.

HMG uygulanan G5'teki ratların over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği, pleomorfizm, nükleer boyut artışı, nükleus/sitoplazma oranında artış ve nükleol varlığı kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD). Yine bu grupta ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal kümelenme ise kontrol gruplarına göre artmış izlendi ancak istatistiksel olarak fark izlenmedi ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD). Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan mitoz ise izlenmedi.

Letrazol uygulanan G6'daki ratların over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği ve nükleer boyut artışı kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD). Yine bu grupta ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal kümelenme, pleomorfizm, nükleer boyut artışı, nükleus/sitoplazma oranında artış, nükleol varlığı ve mitoz ise kontrol gruplarına göre artmış

izlendi ancak istatistiksel olarak fark izlenmedi ( $p < 0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

Sadece hCG uygulanan G7'deki ratların over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği, nükleer boyut artışı ve nükleus/sitoplazma oranında artış kontrol gruplarına göre artmış izlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal kümelenme, pleomorfizm, nükleol varlığı ve mitoz ise izlenmedi.

Ayrıca ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal kümelenme ve mitoz açısından kontrol grupları ile hiçbir grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ( $p < 0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanmada 6 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G4, G5, G6 arasında ve G7 ile G5 arasında, 12 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda yine kontrol grupları ile G4, G5, G6 arasında ve G7 ile G5 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ( $p < 0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleer kromozom düzensizliğinde 6 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G3, G4, G5, G6 arasında ve 12 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G3, G4, G5, G6 arasında ve G7 ile



G3, G5, G6 arasında istatiksels olarak anlamlı fark izlendi ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

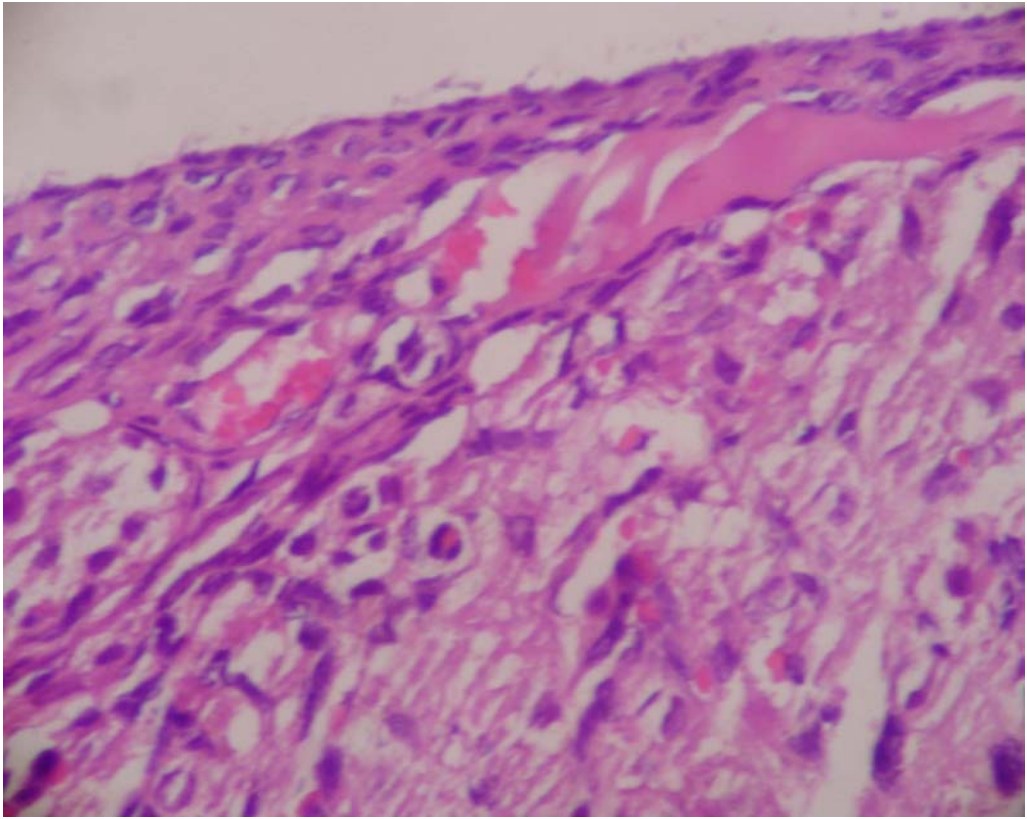
Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleer kontör düzensizliğinde 6 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G3, G4, G5 arasında ve 12 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G3, G5, G6 arasında ve G7 ile G3, G5, G6 arasında istatiksels olarak anlamlı fark izlendi ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan pleomorfizmde hem 6 siklus, hem de 12 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G5 arasında ve G7 ile G5 arasında istatiksels olarak anlamlı fark izlendi ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

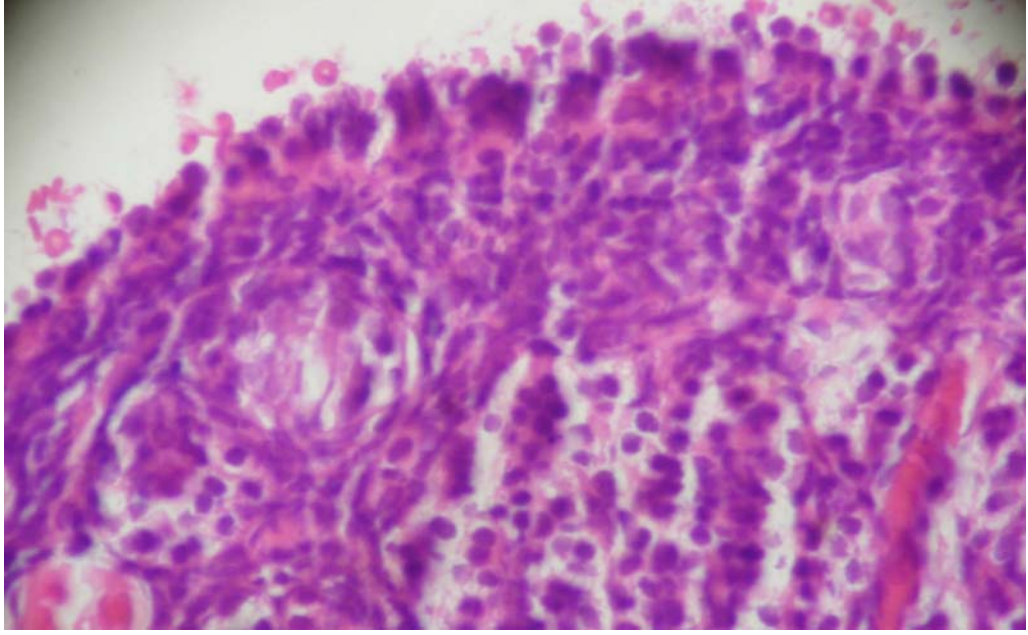
Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleer boyut artışında 6 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G3, G4, G5, G6 arasında ve G7 ile G3, G4 arasında, 12 siklus ovulasyon indüksiyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G5 arasında ve G4, G6, G7 ile G5 arasında istatiksels olarak anlamlı fark izlendi ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleus/sitoplazma oranında artışta 6 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G4, G5 arasında ve G7 ile G4 arasında, 12 siklus ovulasyon indüksiyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G5 arasında ve G7 ile G5 arasında istatiksels olarak anlamlı fark izlendi ( $p<0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).

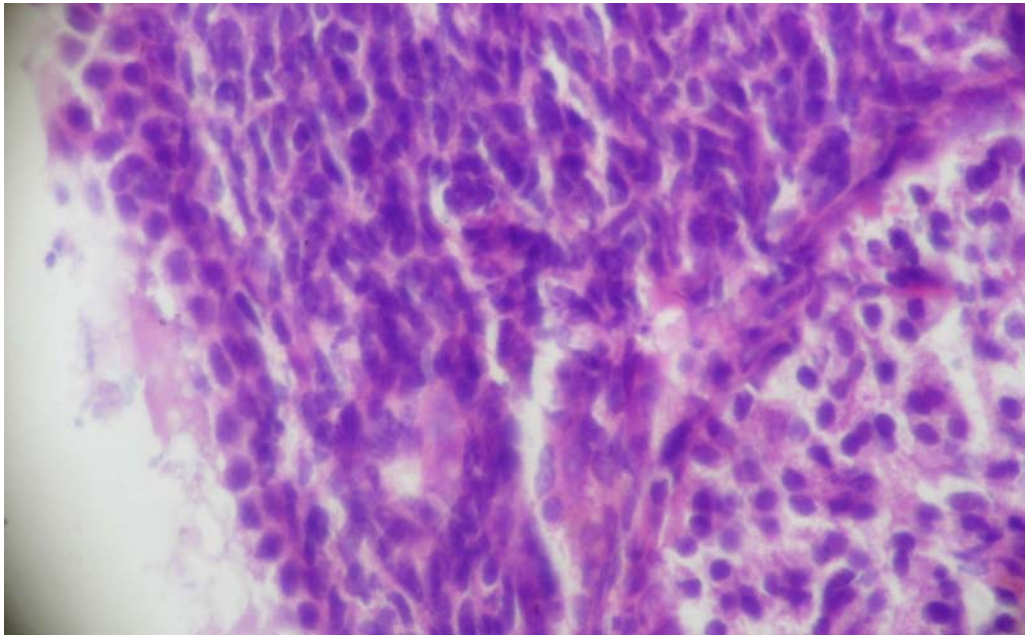
Ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleol varlığında 6 siklus ovulasyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G5 arasında ve G6, G7 ile G5 arasında, 12 siklus ovulasyon indüksiyon ajanı uygulanan ratlarda kontrol grupları ile G4, G5 arasında ve G7 ile G3, G4, G5 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ( $p < 0.05$ , One Way Anova, Tukey HSD).



Resim 1: Normal over yüzey epitelinin izlendiği over görünümü (Grup 1)  
(Hematoksilen-eozinX200)



Resim 2: Over yüzey epitelinde epitelyal displazinin görünümü (Grup 4)  
(Hematoksilen-eozinX200)



Resim 3: Over yüzey epitelinde epitelyal kümelenmenin görünümü (Grup 5)  
(Hematoksilen-eozinX200)



## 7.TARTIŞMA:

Bu çalışmada ovulasyon indüksiyon ajanlarının over yüzey epiteli üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Ovulasyon indüksiyonu ile ovaryan epitelyal displaziden epitelyal malignensiye kadar olan değişiklikler arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı. Çalışmada ovulasyon indüksiyonu yapılan gruplardan hCG uygulanan grup dışındakilerde ovaryan epitelyal displazi skorlarında anlamlı artış elde edilmiştir. Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla ovulasyon indüksiyon ajanlarının over yüzey epiteli üzerine etkilerini araştıran ilk deneysel çalışmadır. Literatürde yer alan daha önceki çalışmalar retrospektif olup gruplar arasında homojenite sağlanmamıştır. Oysa bu çalışma prospektif olup homojenite sağlanmıştır.

Displaziler en sık epitelyal dokularda izlenir. Displazi hem tek tek hücrelerin benzerliğinin hem de yapısal düzenlemesinin kaybolması anlamına gelir. Displastik hücreler belirgin bir pleomorfizm (boyut ve şekil farklılığı) gösterirler ve sıklıkla koyu renkli boyanan (hiperkromatik) çekirdeklere sahiptir. Bu çekirdekler hücrenin boyutuna göre anormal derecede büyüktür. Mitoz görüntüleri alışılmıştan daha fazladır. Diferansiyasyon kaybı ya da anaplazi ise malignitenin en önemli işareti olarak kabul edilir. Anaplastik hücreler belirgin bir pleomorfizm gösterirler. Çekirdeklerinin aşırı derecede hiperkromatik ve büyük olması karakteristiktir. Çekirdek-sitoplazma oranı normaldeki 1:4-1:6 yerine 1:1'e yaklaşabilir veya dev boyutlu tek bir çekirdek ya da çok sayıda çekirdek içerebilir. Anaplastik çekirdekler değişkendir ve boyutları ve şekilleri tuhaftır. Kromatin kaba ve kümelidir. Mitozlar sıklıkla çok sayıda ve belirgin derecede atipiktir (82)

Deneyimizde kullandığımız ajanlardan FSH ve HMG ile hem egzogen olarak gonadotropin seviyeleri arttırılmış hem de ovulasyon arttırılmıştır. Klomifen sitrat varlığında hipotalamo-hipofizer aks dolaşımdaki östrojene duyarsızlaşır. Reseptör kapasitesi azaldığı ve gerçek östrojen uyarını düştüğü için negatif feedback azalır ve GnRH sekresyonu aktive olur. Letrazol ile siklusun erken dönemlerinde estradiol seviyesi azalır ve gonadotropin sekresyonu artar. Kullanmış olduğumuz letrazol ve klomifen sitrat ile de hem ovulasyon hem de endojen gonadotropin düzeyleri arttırılmış olabilir.

Deneyimizde yaşları aynı olan rat grupları kullanılarak yaşa bağlı olabilecek farklılıklar önlenmeye çalışıldı. Uyguladığımız ajanların kısa ve uzun dönem etkileri karşılaştırılırken de aynı ratların sağ ve sol overleri karşılaştırılarak farklı deneklerde ortaya çıkabilecek hatalar önlenmeye çalışıldı.

Deneyimizde kullandığımız dokuz atipik ovaryan epitelyal değişiklik borderline ovaryan tümörlerinde görülen özelliklerdir. Bu özellikler aynı zamanda evre I ovaryan karsinomaların komşu ovaryan epitelyal yüzeyinde (83) ve unilateral ovaryan kanserlerde karşı taraftaki overlerde de (84) gösterilmiştir. Salazar ve arkadaşları benzer atipik özellikleri ailede meme ve over kanseri olması nedeniyle profilaktik oofektomi olan kadınların sağlıklı overlerinde de tanımlamışlardır (85). Nieto ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ovulasyon indüksiyon tedavisi almış hastalar fertil hastalarla karşılaştırıldığında ovaryan epitelyal displazi skorlarının anlamlı bir şekilde arttığı gözlenirken, nullipar hastalar fertil hastalarla karşılaştırıldığında epitelyal displazi skorlarında fark olmadığı gözlenmiştir (75). Bizim deneyimizde de benzer olarak, sadece hCG uygulanan G7 dışında ovulasyon

indüksiyon ajanı uygulanan tüm gruplarda ( G3, G4, G5, G6 ) epitelyal displazi skoru kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu.

Bamford ve Steele ovulasyon indüksiyonu ile ilişkili ilk ovaryan epitelyal kanser vakasını 1982'de göstermişlerdir (86). Daha sonraları ovulasyon indüksiyonu ile invazif epitelyal kanser ve düşük malignite potansiyelli ovaryan kanser tipleri arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda makale ve vaka çalışmaları bildirilmiştir (69,87,88,89). Düşük parite sayısı ovaryan kanser gelişimi için risk faktörüdür. Bu nedenle parturisyon sayısındaki artış ovaryan kanserler için koruyucu olmalıdır. Bunun sebebi ovulasyondaki süpresyon gibi görünmektedir (90). Benzer şekilde oral kontraseptif kullanımı da ovulasyonu süprese ettiği için ovaryan kanser riskini azaltmaktadır (91).

Folikül stimüle edici ilaçların over yüzey epiteli üzerinde hem mitojenik hem de mutojenik etkileri mevcuttur (92).

Rossing ve arkadaşları, klomifen sitrat kullanımının genel popülasyonla karşılaştırıldığında ovaryan gelişimi arttırdığını saptamışlardır. Aynı zamanda 12 siklus ve üzerinde klomifen sitrat kullananlarda ovaryan neoplastik gelişimin arttığını da saptamışlardır (93).

Bizim deneyimizde de benzer olarak klomifen sitrat uygulanan G3'teki ratların over yüzey epitellerinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontur düzensizliği ve nükleer boyut artışı kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu. Bu bulgular ovulasyon indüksiyonu ve kanser gelişimi arasında ilişki olduğunu düşündürmektedir. Deneyimizde elde ettiğimiz bulgular literatür bilgilerini desteklemektedir.

Borderline over kanserleri ve invazif ovaryan kanserler arasında hastaların özellikleri ile ilgili olarak çok sayıda benzerlik mevcuttur (94). Bununla birlikte ovaryan kanserlerle kıyaslandığında borderline over tümörleri ile ovulasyon indüksiyonu arasında bir ilişki olduğuna dair bazı kanıtlar mevcuttur. Borderline over kanserleri genetik mutasyonlardan çok hormonal faktörlerle ilişkili gibi gözükmemektedir (95). Bununla ilgili olarak östrojen reseptör ekspresyonunun borderline tümörlerin ortak özelliği olduğu gösterilmiştir (96). Bu reseptörler fertilite ilaçları ile tedavi edilen yüksek düzeyde östrojeni ve süperovulasyonu olan hastalarda tümör oluşumunun başlamasına yol açabilir. Bu görüş Rossing (93), Shushan (97) ve Harris (69) ile arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalar ile desteklenmektedir.

Bu çalışmalarda sırasıyla fertilite ilaçları ile tedavi edilen borderline over tümörlü hastalarda odds ratio 3.30, 3.52 ve 4.0 olarak bulunmuştur. Fertilite tedavisi sonrasında borderline over tümörlerinin riskindeki artışı bildiren bu çalışmalar infertilitenin başlı başına olabilecek etkileri nedeniyle tartışılmaktadır. Shusan ve arkadaşlarının 164 invazif ve 36 borderline over tanısı konulmuş 200 hasta ve 408 kontrol grubu kadında retrospektif olarak yaptıkları çalışmada epitelyal over kanserli kadınların %12'sinin, sağlıklı kontrol grubu kadınların %7.1'inin fertilite ilacı kullandığı tespit edilmiştir. HMG kullanıldığında ise borderline over kanserinde 9 kat artış olduğunu bildirmişlerdir (97). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da HMG uygulanan G5'teki ratların over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği, pleomorfizm, nükleer boyut artışı, nükleus/sitoplazma oranında artış ve nükleol



varlığı kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu. Yine bu grupta ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal kümelenme ise kontrol gruplarına göre artmış izlendi ancak istatistiksel olarak fark izlenmedi.

rFSH uygulanan G4'teki ratların ise over yüzey epitelleri histolojik olarak incelendiğinde ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği, nükleer boyut artışı ve nükleus/sitoplazma oranında artış kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu. Yine bu grupta ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal kümelenme, pleomorfizm ve nükleol varlığı ise kontrol gruplarına göre artmış izlendi ancak istatistiksel olarak fark izlenmedi.

Yüksek gonadotropin seviyeleri ile seyreden postmenopozal dönem ve infertilite tedavisi alınan dönem boyunca ovaryan kanser insidansındaki artış epidemiyolojik çalışmalar ile gösterilmiştir (69,97,11). FSH'ın ovaryan tümör oluşumunda rol oynadığı (98,99) bildirilmiş olsa da normal ve neoplastik over yüzey epiteli hücrelerinde FSHR ekspresyonu ve FSH'ın kesin rolü hakkında çok az bilgi mevcuttur. FSHR G protein bağlı bir reseptördür ve normal over yüzey epiteli, ovaryan inklüzyon kisti ve epitelyal tümörlerde eksprese olur. İn vitro olarak doz ve zaman bağımlı olarak FSH tedavisi tavşanların over yüzey epitelinde büyümenin stimülasyonu ve ovaryan kanser hücresi oluşumu ile sonuçlanmıştır (100). Günümüzde yapılan çalışmalarla FSH ile tedavi sonucu hücre gelişiminde potent bir artış ve FSHR mRNA'nın normal ve malign over yüzey epiteli hücrelerinde eksprese olduğu gösterilmiştir (101).

Çalışmamızda over yüzey epitelinin değerlendirilmesinde kullanmış olduğumuz histolojik parametreler ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerdir. Bu özellikler ovaryan epitelyal displaziyi göstermektedir. Her grup için ovaryan epitelyal displazi skorları puanlama ile gösterilmiştir. Uygulamış olduğumuz rFSH ve HMG ile egzogen gonadotropin seviyeleri ve ovulasyon sıklığı artırılarak ve Letrazol ve Klomifen sitratla da endojen gonadotropin ve ovulasyon sıklığı artırılarak over yüzey epitelinde meydana gelecek değişmelerin gözlenmesi amaçlanmıştır. Hiçbir grupta neoplastik lezyona rastlanmamıştır. Ancak ovulasyon indüksiyonu uygulanan G3, G4, G5 ve G6'daki ratlarda rastladığımız epitelyal tabakalanma, nükleer kromatin düzensizliği, nükleer kontur düzensizliği, selüler pleomorfizm, nükleer boyut artışı, nükleus/sitoplasma oranında artış, nükleolus varlığı ve boyutu kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış izlendi. Çalışmamız bu yönüyle yukarıda bahsedilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

hCG'nin ovaryan epitelyal kanserler için koruyucu olduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur. Tourgeman ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada hCG'nin ovaryan epitelyal neoplastik hücre proliferasyonunu in vitro olarak süprese ettiği gösterilmiştir (102).

Rossing ve arkadaşları, klomifen ve HMG uygulayarak yapmış oldukları ve ovaryan tümör insidansını artmış olarak buldukları çalışmada hCG'nin etkilerini araştırdıkları zaman artmış ovaryan tümör riskinin ortadan kalktığını görmüşlerdir (93). hCG hemen her zaman klomifen sitrat veya HMG ile kombine kullanıldığı için hCG ve ovaryan kanser arasındaki ilişki kafa karıştırıcıdır. Tourgeman ve arkadaşlarının (102) yaptıkları in vitro çalışmada hücresel proliferasyon kontrol ve FSH'ya maruz bırakılanlarda benzer

bulunurken hCG varlığında hem kontrol hem de FSH'ya göre hücre proliferasyonu azalmış bulunmuştur. Bu in vitro çalışmada elde edilen bulguya göre ovulasyon indüksiyon protokollerinde yaygın olarak kullanılan hCG'nin bu etkisi beklenen artışın görülmemesi ile ilgili olabilir.

Bu nedenle çalışmamızda bir gruba ( G7) sadece hCG uygulayarak hCG'nin tek başına olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda hCG uygulanan grup kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ovaryan epitelyal displazi skorunun değişmediğini ancak yukarıda belirtilen çalışmalardakiyle farklı olarak koruyucu etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir. Bunun aksine epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan epitelyal tabakalanma, nükleer kromozom düzensizliği, nükleer kontör düzensizliği, nükleer boyut artışı ve nükleus/sitoplazma oranında artış kontrol gruplarına göre anlamlı olmasa da artmış olarak izlendi.

Uygulamış olduğumuz ajanların kısa ve uzun dönem etkilerinin karşılaştırılması amacıyla aynı rat gruplarının sağ ve sol overleri karşılaştırılmıştır. Toplam altı siklus ovulasyon indüksiyonu uyguladığımız ratların önce sağ overleri çıkarılıp sonra altı siklus daha ovulasyon indüksiyonu uygulanıp sol overler çıkarılmıştır. Altı siklus ve oniki siklus ovulasyon indüksiyonu uyguladığımız ratlar kendi aralarında karşılaştırıldığında sadece, rFSH uyguladığımız G4'te; ovaryan epitelyal tümörlerde görülen histolojik özelliklerden olan nükleer boyut artışı ve nükleus/sitoplazma oranında artış; toplam oniki siklus ovulasyon indüksiyonu uyguladığımız ratlarda altı siklus ovulasyon indüksiyonu uyguladığımız ratlara göre anlamlı olarak artmış bulundu. Eğer ovulasyon indüksiyonu uyguladığımız ratların takip periotlarını

uzatma şansımız olsaydı kısa ve uzun dönem etkilerini daha farklı gözlemleyebilirdik.

Ovulasyon indüksiyon ajanları ve ovaryan epitelyal kanserler arasında ilişki olduğunu bildiren yukarıda belirttiğimiz çalışmaların yanı sıra ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Ness ve arkadaşları (103) herhangi bir fertilitate ajanının kullanılmasının ovaryan kanser riskindeki artış ile ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Rossing ve arkadaşları fertilitate ilaçları ile tedavi edilen hastalar ile tedavi almayan infertil hastalar arasında ovaryan kanser riskinde anlamlı olmayan bir artış bulmuşlar ve klomifen sitrat kullanımının 12 siklus ve üzerinde olması durumunda ovaryan kanser riskinde artış olabileceğini bildirmişlerdir (93). Mosgaard ve arkadaşları (90) ve Venn ve arkadaşları (104) da fertilitate ilaçları ile tedavinin, tedavi almayan infertil hastalarla karşılaştırıldığında ovaryan kanser riskini arttırmadığını göstermişlerdir. Parazzini ve arkadaşları (105) fertilitate ilaçları ile invazif ovaryan kanserlerin riskindeki artışın anlamlı olarak ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. Potashnik ve arkadaşlarının (106) yaptıkları ve 19,7 yıl süren prospektif bir vaka kontrol çalışmasında tedavi alan 780 ve almayan 417 toplam 1197 infertil hasta genel popülasyonla karşılaştırıldığında ovaryan kanser insidansında artma saptanmamıştır.

Sonuç olarak 20 yıldan fazla bir süreden beri yapılan epidemiyolojik çalışmalarla ovulasyon indüksiyonu ve ovaryan kanserler arasındaki ilişki yoğun olarak tartışılmaktadır. Bu konuda farklı sonuçların bildirilmesi ovulasyon indüksiyonu ve ovaryan kanserler arasındaki ilişkinin tam olarak açığa çıkması için araştırmaların devam etmesini gerektirmektedir.

Bizim yapmış olduğumuz bu çalışmada hiçbir grupta ovaryan malignite izlenmemesine rağmen FSH, HMG, klomifen sitrat ve letrazol ile indüklenen ratlarda ovaryan epitelyal displazi skorlarının artmış olması ovulasyon indüksiyonu ve ovaryan kanserler arasında ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Çünkü ovaryan epitelyal displaziler ovaryan malignensilerin öncü lezyonları olarak görülmektedir. Eğer ovulasyon indüksiyonu uyguladığımız ratların takip periotlarını uzatma şansımız olsaydı belki de bu ratlarda ovaryan kanseröz lezyonlar gözlemlenebilirdi. Ovulasyon indüksiyonu ve ovulasyon indüksiyon sikluslarının sayısı ile ovaryan kanserler arasındaki ilişki henüz kesin olmasa da ovulasyon indüksiyon siklusları ovaryan kanser riski nedeniyle olabildiğince azaltılmalıdır. Ayrıca ovulasyon indüksiyonu uygulanmış kadınlar ovaryan kanser riskine karşı dikkatli bir şekilde takip edilmeli ve kontrol altında tutulmalıdırlar.

## 8. KAYNAKLAR

1. Berek JS. Novak's Gynecology. 12th press. 1998. Ch 27, p:915-962. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland USA.
2. Hull MGR, Glazner CMA, Kelly NJ, et al. Population study of causes, treatment and outcome of infertility. Br Med J 1983; 291: 1693-7.
3. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Sixth edition. 1999. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, U.S.A.
4. Balen A. Ovulation induction. Current Obstetrics & Gynaecology 2004; 14: 261-8
5. Ohba T., Ujioka T, Ishikawa K, Nobuyuki T, Okamura H. Ovarian hyperstimulation syndrome-model rats; the manifestation and clinical implication. Molecular and Cellular Endocrinology 2003; 202: 47-52.
6. Pernoll ML. Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment. Seventh edition. 1991. Section 1, page:5-55. Appleton & Lange. Connecticut, U.S.A.
7. Arıncı K, Elhan A. Kemikler, eklemler, kaslar, iç organlar. Anatomi. 2001.1.cilt s:337-340. Güneş Kitabevi Ankara, Türkiye.
8. Clement PB, Anatomy and histology of the ovary. Kurman R. J.(editor). Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, Fifth edition. 2002. Ch:15, p:649-65. Springer.
9. Bloom W, Fawcett DW. Female Reproductive System In: A textbook of Hystology 11. edition. 1986. p: 851-899. WB Saunders Comp.Philadelphia, ABD.
10. Clow OL, Hurst PR, Fleming JS. Changes in the Mouse ovarian surface epithelium with age and ovulation number. Molecular and Cellular Endocrinology. 2002;191: 105-111.

11. Risch HA. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1774-86
12. Okamura H, Katabuchi H. Detailed morphology of human ovarian surface epithelium focusing on its metaplastic and neoplastic capability. *Int J Anal Embryol* 2001; 106 (suppl. 2): 263-76. )
13. Cajender S. Structural alterations of rabbit ovarian follicles after mating with special reference to the overlying surface epithelium. *Cell Tissue Res* 1976; 173: 437-49.
14. Branström M, Norman RJ. Involvement of leukocytes and cytokines in the ovulatory process and corpus luteum function. *Hum Reprod* 1993; 8: 1762-75.
15. Iriani F, Hodgen GD: Mechanism of ovulation. *Reprod Endocrinology* 1992;21:19-39.
16. Kışınışçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS. *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Bölüm 1, Konu 2, s:4-24. 1996. Güneş Kitabevi. Ankara, Türkiye.*
17. Pauerstein CJ, Eddy CA, Craxotta HD, Hess R, Siler-Khodr TM, Craxotta HB. Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in woman and infrahuman primates. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 130: 876.
18. Zelinski-Wooten MB, Hutchison JS, Chandrasekher YA, Wolf DP, Stouffer RL. Administration of human luteinizing hormone (hLH) to Macaques after follicular development: further titration of LH surge requirements for ovulatory changes in primate follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 502.
19. Yoshimura Y, Wallach EE. Studies on the mechanisms of mammalian ovulation. *Fertil Steril* 1987; 47: 22.

20. Tedeschi C, Hazum E, Kokia E, Ricciarelli E, Adashi EY, Payne DW. Endothelin 1 as a luteinization inhibitor: inhibition of rat granulosa cell progesterone accumulation via selective modulation of key steroidogenic steps affecting both progesterone formation and degradation. *Endocrinology* 1992; 131: 2476.
21. Li W, Ho Yeun B, Leung PCK. Inhibition of progestin accumulation by activin-A in human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 756.
22. Eppig JJ, Chessnel F, Hirao Y, O'Brein MJ, Pendola FL, Watanabe S, Wigglesworth K. Oocyte control of granulosa cell development: how and why. *Hum Reprod* 12 Natl Suppl, JBES 1997; 2: 127.
23. Peng X-R, Leonardsson G, Ohlsson M, Hsueh AJW, Ny T. Gonadotropin induced transient and cell-specific expression of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 leads to a controlled and directed proteolysis during ovulation. *Fibrinolysis* 1992; 14: 151
24. Smith G, Roberts R, Hall C, Nuki G. Reversible ovulatory failure associated with the development of luteinized unruptured follicles in women with inflammatory arthritis. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 458.)
25. Fowler PA, Templeton A. The nature and function of putative gonadotropin surge-attenuating/inhibiting factor (GnSAF/IF): *Endocr Rev* 1996; 17: 103.
26. Greenblatt RB, Barfield WE, Jugck E.C. and Ray A.W. Induction of ovulation with MRL/41. Preliminary report. *JAMA* 1961; 178: 101-4.
27. Gemzell CA., Diczfalusy E. and Tillinger G. Clinical effect of human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH). *J Clin Endocrinol Metab* 1958; 18: 1333-48.
28. Gemzell CA. Treatment of infertility after partial hypophysectomy with human pituitary gonadotrophins. *Lancet* 1964; i: 644-647.
29. Bettendorf G. Human hypophyseal gonadotrophins in hypophysectomized women. *Int J Fertil* 1963; 8: 799.



30. Lunenfeld B, Insler V, Rabau E. The principles of the gonadotropin therapy. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)* 1970; 148: 52-101.
31. Knobil E. Neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Rec Prog Horm Res* 1980; 36: 53-88.
32. Homburg R, Insler V. Ovulation induction in perspective. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 449-62.
33. Ernst S, Hite G, Cantrell JS, Richardson Jr A, Benson HD. Stereochemistry of geometric isomers of clomiphene: a correction of the literature and a reexamination of structure-activity relationships. *J Pharm Sci* 1976; 65: 148.)
34. Clark JH, Markaverich BM. The agonist-antagonist properties of clomiphene. *Pharmacol Ther* 1981; 15: 467-519
35. Kerin JF, Liu JH, Phillipou G, Yen SCC. Evidence for a hypothalamic site of action of clomiphene citrate in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 265.
36. Ludwig M, Doody KJ, Doody KM. Use of recombinant human chorionic gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril* 2003; 79: 1051-9.
37. Gemzell C. Induction of ovulation with human gonadotropins. *Recent Progr Horm Res* 1965; 21: 179-204.
38. Mazer C, Ravetz E. *Am J Obstet Gynecol* 1941; 41: 474-84.
39. Donini P, et al. Purification of gonadotropin from human menopausal urine. *Acta Endocrinol* 1964; 45: 321-8.
40. Rao MC, Midgley AR, Richards JS. Hormonal regulation of ovarian cellular proliferation. 1978; 14: 71-8.
41. Goss PE, Weippl Ks. Aromatase inhibitors for Practice chemoprevention. *Best & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004; 18: 13-130.

42. Colussi DM, Parisot CY, Lefevre GY. Plasma protein binding of letrozole, a new nonsteroidal aromatase enzyme inhibitor. *J Clin Pharmacol* 1998; 38: 727-35.
43. Sioufi A, Gauducheau N, Pineau V, Marfil F, Jaouen A, Cardot JM, Czendlik C, Howald H, Pfister C, Vreeland F. Absolute bioavailability of letrozole in healthy postmenopausal women. *Biopharm Drug Dispos* 1997; 18: 779-89.
44. Pfister CU, Martoni A, Zamagni C, Lelli G, De Braud F, Souppart C, Duval M, Hornberger U. Effect of age and single versus multiple dose pharmacokinetics of letrozole (Femara) in breast cancer patients. *Biopharm Drug Dispos* 2001; 22: 191-7.
45. Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar S, Moudgal RN. Effect of estrogen deprivation on the reproductive physiology of male and female primates. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997; 61: 157-66.
46. Mitwally MFM, Casper RF. Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril* 2002; 77: 776-80.
47. Harper MJ, Walpole AL. A new derivative of triphenylethylene: effect on implantation and mode of action in rats. *J Reprod Fertil* 1967; 13: 101-19.
48. Klopper A, Hall M. New synthetic agent for the induction of ovulation: preliminary trials in women. *BMJ* 1971; 1: 152-4.
49. Williamson JG, Ellis JD. The induction of ovulation by tamoxifen. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1973; 80: 884-7.
50. Cole MP, Jones CTA, Todd IDH. A new anti-oestrogenic agent in late breast cancer: an early clinical appraisal of ICI 46474. *Br J Cancer* 1971; 25: 270-5.
51. Shors TJ, Lewaczyk C, Paczynski M, Mathew PR, Pickett J. Stages of estrous mediate the stress-induced impairment of associative learning in the female rat. *Neuroreport* 1998; 9: 419-23.

52. Yavru N, Yavru S. Deneý Hayvanları. Güneş Yayınevi. Konya.1996. s: 186-205.
53. Lumpkin MD, DePaolo LV, and Negro Vilar A. Pulsatil Release of Follicle-Stimulating Hormone in Ovariectomized Rats is İnhibited by porcine Follicular Fluid (inhibin). *Endocrinology* 1984; 114: 201-6.
54. Fortune JE. Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals. *Biol Reprod* 1994; 50: 225-32.
55. Zelenzik, AJ, Midgley AR, Reichert LE. Granulosa Cell Maturation in the Rat: İncreased Binding of Human Chorionic Gonadotropin Following Treatment with Follicle –Stimulating Hormone in vivo. *Endocrinology* 1974; 95: 818-25.
56. Levine JE, Norman RJ, Gliesman PM, Oyama TT, Bansgberg, D.R. and Spies, H.G. In vivo Gonadotropin-Releasing Hormone –Release and Serum Luteinizing Hormone Measurments in Ovariectomized, Estrogen Treated Rhesus Macaques. *Endocrinology* 1985; 117: 711-21.
57. Ferin M, Tempone A, Zimmering PE and Vande W. Effects of Antibodies to 17 Beta estradiol and Progesterone on the Estrous Cycle of the Rat. *Endocrinology*.1970; 85: 1070-78.
58. Espey LL and Lipner H. Ovulation in the Phsiology of Reproduction. 1994 ( Eds. Knobil E.And Neill J.D). Raven Press Ltd. New York. U.S.A.
59. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1996. *CA Cancer J Clin* 1996; 46: 5-27.
60. Scully RE. Ovarian tumors. A review. *Am J Pathol* 1977; 87: 686-720.
61. Fathalla MF. Incessant ovulation-a factor in ovarian neoplasia? *Lancet*. 1971; 2: 163.

62. Russell SE, Hickey GI, Lowry WS, White P, Atkinson Rj. Allele loss from chromosome 17 in ovarian cancer. *Oncogene* 1990; 5: 1581-3.
63. Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk II. Inferences regarding pathogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71: 717-21.
64. Malik S, Balkwill F. Epithelial ovarian cancer: a cytokine propelled disease. *Br J Cancer* 1991; 64: 617-20.
65. Gillett WR, Mitchell A, Hurst PR. A scanning electron microscopic study of the human ovarian surface epithelium: charecterisation of two cell types. *Hum Reprod* 1991; 6: 645-50.
66. Gillett WR, James C, Jetha N, McComb PF. Removal of the ovarian surface epithelium from the rabbit ovary-a cause of adhesions following a standart injury. *Hum Reprod* 1994; 9: 497-500.
67. Venn A, Healy D, McLachlan R. Cancer risks associated with the diagnosis of infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003; 17: 343-67.
68. Brekelmans CT. Risk factors and risk reduction of breast and ovarian cancer. *Curr Opin Obstet Gynaecol.* 2003; 15: 63-8.
69. Whittemore AS, Harris R, Itnyre J, and Collaborative Ovarian Cancer Group. Charecteristics relating to ovarian cancer risk: Collaborative analysis of 12 US case control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 1184-203.
70. Fredrickson TN. Ovarian tumors of the hen. *Environ Health Perspect* 1987; 73: 35-51.
71. Holschneider CH, Berek JS. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. *Semin Surg Oncol.* 2000; 19: 3-10.
72. Berchuck A, Carney M. Human ovarian cancer of the surface epithelium. *Biochemical Pharmacology* 1997; 54: 541-4.

73. Murdoch WJ, Townsend RS, McDonnell AC. Ovulation induced DNA damage in ovarian surface epithelial cells of ewes: prospective regulatory mechanisms of repair/survival and apoptosis. *Biol Reprod* 2001; 65: 1417-24.
74. Purdie DM, Bain CJ, Siskind V, Webb PM, Green AC. Ovulation and risk of ovarian epithelial cancer. *Int J Cancer* 2003;104: 228-32.
75. Nieto JJ, Crow J, Sunderasan M, Constantinovici N, Perrett CW, MacLean AB, Hardiman PJ. Ovarian epithelial dysplasia in relation to ovulation induction and nulliparity. *Gynecol Oncol* 2001; 82: 344-9.
76. McClure N, Healy DL, Rogers PA, Sullivan J, Beaton L, Haning RV Jr et al. Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet* 1994; 344: 235-6.
77. Casagrande JT, Louie EW, Pike Mc, Roy S, Ross RK, Henderson BE. "Incessant ovulation" and ovarian cancer. *Lancet* 1979; 2: 170-3.
78. Rao BR, Slotman BJ. Endocrine factors in common epithelial ovarian cancer. *Endocr Rev* 1991; 12: 14-26.
79. Shoham Z. Epidemiology, etiology, and fertility drugs in ovarian epithelial carcinoma: where are we today. *Fertil Steril* 1994; 62: 433-48.
80. Balen A. The effects of ovulation induction with gonadotropins on the ovary and uterus and implications for assisted reproduction. *Hum Reprod* 1995; 10: 2233-7.
81. Mallenby J, Dunyer J, Hawkins C. And Hitchen C. Effects of experimental limbic on the estrus cycle and reproductive success in rats, *Epilepsia*, 1991;34(2): 220-227
82. Cotran RS, Kumar V, Robbins LS. Robbins Pathologic Basis of Disease. 5th edition. 1994. p:241-304. WB Saunders Company, Philadelphia, U.S.A.

83. Plaxe S, Deligdisch L, Dottino P, Cohen C. Ovarian intraepithelial neoplasia demonstrated in patients with stage I ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 367-72.
84. Mittal K, Zeleniuch-Jacquotte A, Cooper J, Demopoulos R. Contralateral ovary in unilateral ovarian carcinoma: a search for preneoplastic lesions. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12: 59-63.
85. Salazar H, Godwin A, Daly M, et al. Microscopic benign and invasive malignant neoplasms and a cancer-prone phenotype in prophylactic oophorectomies. *J Natl Cancer Inst* 1997; 88: 1810-20.
86. Bamford PN, Steele SJ. Uterine and ovarian carcinoma in a patient receiving gonadotropin therapy. Case report. *Br J Obstet Gynecol* 1982; 89: 962-4.
87. Grimbizis G, Tarlatzis BC, Bontis J et al. Two cases of ovarian tumors in women who had undergone multiple ovarian stimulation attempts. *Hum Reprod* 1995; 10: 520-3.
88. Shu XO, Brinton LA, Gao YT, Yuan JM. Population based case control study of ovarian cancer in Shanghai. *Cancer Res* 1989; 49: 3670-4.
89. Salle B, de Saint HP, Devouassoux M, Gaucherand P, Rudigoz C. Another two cases of ovarian tumors in women who had undergone multiple ovulation induction cycles. *Hum Reprod* 1997; 12: 1732-5.
90. Mossgaard BJ, Lidegaard O, Kjaer SK, Schou G, Andersen AN. Infertility, fertility drugs, and invasive ovarian cancer: a case-control study. *Fertil Steril* 1997; 67: 1005-12.
91. Hankinson SE, Golditz GA, Hunter DJ, Spencer TL, Rosner B, Stampfer MJ. A quantitative assessment of oral contraceptive use and risk of ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1992; 80: 708-14.
92. Daly MB. The epidemiology of ovarian cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992; 6: 729-38. Bandera CA, Cramer DA, Friedman AJ, Sheets EE.

Fertility therapy in the setting of a history of invasive epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1995; 58: 116-8.

93. Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, Moore DE, Self SG. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl Med* 1994; 331: 771-6.
94. Parazzini F, Retselli C, La Vecchia C, Negri E, Chiari S, Maggi R et al. Risk factors for epithelial ovarian tumors of borderline malignancy. *Int J Epidemiol* 1991; 20: 871-7.
95. Shushan A, Paltiel O, Schenker JG. Induction of ovulation and borderline ovarian cancer \_ the hormonal connection? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 85: 71-4.
96. Abu-Jawdeh GM, Jacobs TW, Niloff J, Cannistra SA. Estrogen receptor expression is a common feature of ovarian borderline tumors. *Gynecol Oncol* 1996; 60: 301-7.
97. Shushan A, Paltiel O, Iscovich J, Eichalal U, Peretz T, Schenker JG. Human menopausal gonadotropin and risk of epithelial ovarian cancer. *Fertil Steril* 1996; 65: 13-8.
98. Konishi I, Kuroda H, Mandai M. Review: gonadotropins and development of ovarian cancer. *Oncology* 1999; 57: 45-8.
99. Zheng W, L JJ, Luo F, Zheng Y, Feng YJ, Felix JC, Lauchlan SC, Pike MC. Ovarian epithelial tumor growth promotion by follicle-stimulating hormone and inhibition of the effect by luteinizing hormone. *Gynecol Oncol* 2000; 76: 80-8.
100. Wimalasena J, Dostal R, Meehan D. Gonadotropins, estradiol, and growth factors regulate epithelial ovarian cancer cell growth. *Gynecol Oncol* 1992; 46: 345-50.
101. Syed V, Ulinski G, Mok SC, Yiu GK, Ho S-M. Expression of gonadotropin receptor and growth responses to reproductive hormones in normal and malignant ovarian surface epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61: 6768-76.

- 102.** Tourgeman DE, Lu JJ, Boostanfar R, Arnezcuca C, Felix JC, Pautson RJ. Human chorionic gonadotropin suppresses ovarian epithelial neoplastic cell proliferation in vitro. *Fertil Steril* 2002; 78: 1096-8
- 103.** Ness RB, Cramer DW, Goodman MT, Kjaer SK, Mallin K, Mosgaard BJ et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 217-24.
- 104.** Venn A, Watson L, Lumley J, Giles G, King C, Healy D. Breast and ovarian cancer incidence after infertility and in vitro fertilisation. *Lancet* 1995; 346: 995-1000.
- 105.** Parazzini F, Pelucchi C, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Montella M et al. Use of fertility drugs and risk of ovarian cancer. *Hum Reprod* 2001; 16: 1372-5.
- 106.** Potashnik G, Lerner-Geva L, Genkin L, Chetrit A, Lunenfeld E, Porath A. Fertility drugs and the risk of breast and ovarian cancers: results of a long-term follow-up study. *Fertil Steril* 1999; 71: 853-9.



## 9. ÖZGEÇMİŞ

10.07.1976 yılında Elazığ'da doğdum. İlk öğrenimimi Elazığ Anadolu Lisesi, orta öğrenimimi Ankara Fen Lisesi'nde tamamladım. 2000 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2001 yılı Nisan dönemi TUS sınavında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nü kazandım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.