



**İNFERİLİTE SEBEBİYLE TUP BEBEK ÜNİTESİNE
BAŞVURAN HASTALARIN OOSİTLERİNİ
ÇEVRELEYEN GRANÜLOZA HÜCRELERİNİN
MORFOMETRİK ANALİZ SONUÇLARI
İLE FERTİLİZASYON ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Tuba Nur KARABIYIK

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Tuba DEMİRCİ
Yüksek Lisans Tezi-2017**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNFERİLİTE SEBEBİYLE TÜP BEBEK ÜNİTESİNE
BAŞVURAN HASTALARIN OOSİTLERİNİ
ÇEVRELEYEN GRANÜLOZA HÜCRELERİNİN
MORFOMETRİK ANALİZ SONUÇLARI İLE
FERTİLİZASYON ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
İNCELENMESİ**

Tuba Nur KARABIYIK

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Tuba DEMİRCİ

ERZURUM

2017

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNFERTİLİTE SEBEBİYLE TÜP BEBEK ÜNİTESİNE BAŞVURAN
HASTALARIN OOSİTLERİNİ ÇEVRELEYEN GRANÜLOZA
HÜCRELERİNİN MORFOMETRİK ANALİZ SONUÇLARI İLE
FERTİLİZASYON ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Tuba Nur KARABIYIK

Tez Savunma Tarihi : 11.07.2017

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Tuba DEMİRCİ (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Jale SELLİ (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Başak BÜYÜK (Çanakkale Onsekiz Mart
Üniversitesi)



Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mehtap TAN
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM- 2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İnfertilite Tanım ve Tarihçesi	2
2.2. İnfertilite Nedenleri.....	3
2.3. ÜYTE Uygulamaları.....	4
2.4. Geçmişte ve Günümüzde Kullanılan ÜYTE Uygulamaları	5
2.4.1. IUI.....	5
2.4.2. IVF.....	5
2.4.3. ICSI.....	5
2.4.4. GIFT.....	6
2.4.5. ZIFT	6
2.5. Oogenez	6
2.6. Folikülogenez.....	8
2.6.1. Primordial Folikül Evresi.....	9
2.6.2. Primer Folikül	11
2.6.3. Sekonder folikül.....	11
2.6.4. Preantral Folikül	12
2.6.5. Antral Folikül.....	12

2.6.6. Preovulatar (Graaf) Folikül.....	13
2.6.7. Foliküler Atrezi.....	13
2.7. Ovulasyonun Hormonal Düzenlenmesi.....	14
2.8. Oosit – Foliküler Hücre Etkileşimi.....	16
3. MATERYAL VE METOT.....	19
3.1. Grupların Oluşturulması.....	19
3.2. Ovaryum Stimülasyon Protokolünün Uygulanması.....	19
3.3. OPU.....	19
3.4. Oosit Temizleme İşlemi.....	21
3.5. Biyokimyasal Analizler.....	23
3.6. İstatistiksel Analizler.....	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	33
KAYNAKLAR.....	35
EKLER.....	43
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	43
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	44

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamda benden bilgisini, tecrubesini, zamanını esirgemeyen tez yazımı suresince verdiği emeklerinden dolayı Anabilim Dalı Başkanı ve tez danıőmanım sayın Yrd. Doç. Dr. Tuba DEMİRCİ'ye,

Yüksek lisans eğitimim süresince, Histoloji ve Embriyoloji Biliminde yetiőmemde büyük emekleri olan anabilim dalındaki bütün hocalarıma bana verdikleri destek ve katkıları için, eğitim süresi boyunca muhabbetlerinden keyif aldığım ve desteklerini esirgemeyen yüksek lisans arkadaşlarıma, her zaman bıkmadan bana yardımcı olan ve zaman zaman sabrını zorladığım birlikte olmaktan büyük keyif ve mutluluk duyduğum Sayın Uzm. Emb. Müge ŐENTÜRK'e, her Őeyin ötesinde varlıklarından güç aldığım, kendimi hep çok Őanslı hissettiren ve her zaman yanımda olan en değerlilerime, aileme sonsuz teőekkürler.

Tuba Nur KARABIYIK

ÖZET

İnfertilite Sebebiyle Tüp Bebek Ünitesine Başvuran Hastaların Oositlerini Çevreleyen Granüloza Hücrelerinin Morfometrik Analiz Sonuçları ile Fertilizasyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Amaç: İnfertilite, tüm dünya üzerinde üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık % 15'inde görülen ciddi bir problemdir. İnfertilite sınıflandırılmasında kadın infertilite oranının yüksek oluşu dikkat çekmektedir. İnfertilite tedavisi amacıyla uygulanan üremeye yardımcı tedavi (ÜYTE) yöntemlerinden biri olan in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi çocuk sahibi olamayan çiftlere umut kaynağı olmuştur. Kadın infertilitesi nedenleri arasında ovulasyon bozuklukları, uterin, tubal ve servikal faktörler gibi nedenler yer almaktadır. Ayrıca kadın yaşı, oosit, embriyo kalitesi de fertilizasyonu ve implantasyonu etkileyen diğer faktörlerdendir. Bu çalışmada, IVF tedavisi uygulanan hastaların oositlerinin etrafında bulunan granüloza hücrelerinin morfometrik analizleri yapılarak hasta yaşı, FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca^{+2} seviyeleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi'ne İVF tedavisi için başvuran hastalardan 50 infertil kadın hasta rastgele seçildi ve 35 yaş altı ve 35 yaş üstü olacak şekilde iki gruba ayrıldı. Bu hastalardan oosit toplama (oosit pick-up:OPU) işlemi sırasında alınan kumulus oosit kompleksindeki granüloza hücreleri kullanıldı. Papanicolaou boyama yöntemi ile boyanan granüloza hücrelerinin ışık mikroskobu altında morfometrik ölçümleri yapıldı.

Bulgular: Hastaların yaşı, beta-HCG, FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca^{+2} değerleri ile birlikte değerlendirildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi. Granüloza hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek alan ölçümleri ile beta-HCG, FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca^{+2} değerleri gibi biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde 35 yaş altı ve 35 yaş üstü gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Yapılan ileri istatistiksel incelemeler sonucunda yaş ile TSH arasında, granüloza hücre sitoplazma alanı ile serum T4 seviyeleri arasında, serum FSH seviyeleri ile Ca^{+2} değerleri arasında ve ayrıca serum T4 değerleri ile Ca^{+2} değerleri arasında anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edildi.

Sonuç: Elde ettiğimiz bulgular ışığında, FSH, LH, TSH, T3, T4'ün yanı sıra Ca^{+2} 'un da oosit kalitesini ve fertiliteyi etkileyebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Granüloza hücresi, morfometrik analiz, "Papanicolaou" boyama

ABSTRACT

Investigation of the Relationship Between the Results of the Morphometric Analysis of Granulosa Cells Surrounding the Oocytes of the Patients Admitted to the In Vitro Fertilization Unit due to Infertility and Fertilization

Aim: Infertility is a serious problem that is seen in about 15% of the couples of reproductive age on the world. It is noteworthy that female infertility rate is high in classification of infertility. In vitro fertilization (IVF) treatment that is one of the assisted reproductive techniques (ART) and applied for the purpose of infertility treatment has become a source of hope for couples that have no children. The ovulation disorders, uterine, tubal and cervical factors are found among the causes of female infertility. In addition, female age, oocyte, and embryo quality are also other factors affecting fertilization and implantation. In this study, it was aimed to investigate the relationship among the patient age, FSH, LH, TSH, T3, T4 and Ca^{+2} levels by making the morphometric analysis of granulosa cells around the oocytes of the patients undergoing IVF treatment.

Material and Method: Fifty infertile women patients were randomly selected among the patients who applied for IVF treatment to the IVF Unit of the Ataturk University Research Hospital, and two groups were divided as under the age of 35 and over the age of 35. Granulosa cells in the cumulus oocyte complex taken from these patients during oosit pick-up (OPU) procedure were used. Morphometric measurements of granulosa cells stained with “Papanicolaou” staining method were performed under light microscope.

Results: The age of the patients was evaluated together with beta-HCG, FSH, LH, TSH, T3, T4 and Ca^{+2} values. The obtained data were analyzed statistically. When the measurements of the cytoplasm and nucleus areas of granulosa cells were compared with biochemical parameters such as beta-HCG, FSH, LH, TSH, T3, T4 and Ca^{+2} values, it has been observed that there is no significant difference between the groups of under the age of 35 and over the age of 35. At the end of further statistical analyzes, it was determined that there was a significant correlation between age and TSH, between the cytoplasm area of granulosa cells and serum T4 levels, between serum FSH levels and Ca^{+2} values, and also between serum T4 and Ca^{+2} values.

Conclusion: According to our findings, it was concluded that in addition to FSH, LH, TSH, T3 and T4, Ca^{+2} could affect oocyte quality and fertility.

Key Words: Granulosa cell, morphometric analysis, “Papanicolaou” staining

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ART	: Yardımlı üreme teknikleri (Assisted reproductive techniques)
Beta-HCG	: İnsan koryonik gonodotropin
BMP-15	: Kemik morfogenetik protein-15
Ca⁺²	: Kalsiyum
ET	: Embriyo transfer
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GDF-9	: Büyüme farklılaşma faktörü-9
GIFT	: Gametin fallop tüplerine transferi
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
HA	: Hyalüronik asit
hCG	: İnsan koryonik gonodotropin
ICSI	: İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
IUI	: İntra uterin inseminasyon
IVF	: İn vitro fertilizasyon
KL	: Korpus luteum
LH	: Lüteinizan hormon
MIS	: Müllerialin inhibe edici madde
OMI	: Oosit maturasyon inhibitor faktör
OPU	: Oosit toplama işlemi (Oocyte pick-up)
PCOS	: Polikistik over sendromu
SS	: Standart sapma
T3	: Triiyodotironin
T4	: Tiroksin
TEM	: Transmisyon elektron mikroskobu

- TSH** : Tiroid uyarıcı hormon
- USG** : Ultrasonografi
- ÜYTE** : Üremeye yardımcı tedavi
- ZIFT** : Zigotun fallop tüplerine transferi
- ZP** : Zona pellusida



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Ovulasyon ve hormonal değişim	16
Şekil 3.1. Foliküler sıvının incelendiği steril kabin.....	20
Şekil 3.2. Folikül sıvısının stereo mikroskop altında incelenmesi	20
Şekil 3.3. İnkübatör	21
Şekil 3.4. Yayma preparatta görülen granüloza hücreleri. (Boya:“Papanicolaou boyası).....	25



TABLolar DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 2.1. Kadın ve Erkek İnfertilite Nedenleri	4
Tablo 4.1. Granüloza Hücresi Sitoplazma ve Çekirdek Alan Ölçümlerinin ile Yaş Arasındaki İlişki.....	25
Tablo 4.2. Biyokimyasal Verilerin Ortalama Değerleri.....	26
Tablo 4.3. Yaş Gruplarında beta-HCG Dağılımı	26
Tablo 4.4. Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması	28

1. GİRİŞ

İnfertilite, evli çiftlerin 12 ay boyunca düzenli cinsel ilişki ve herhangi bir korunma yöntemi uygulamadığı halde gebeliğin oluşmaması durumudur. Günümüzde birçok nedene bağlı olarak ortaya çıkan infertilite nedenlerinin yaklaşık %40-45’inde kadın faktörü sorumludur. Ovulasyon bozuklukları ise özellikle genç kadınlarda daha sık rastlanan infertilite nedenlerinden biridir. Düzenli ovulasyon sağlıklı fonksiyonel bir overde büyüyen folikül içinde gelişen oositin atılmasıyla ilişkilidir. Granüloza hücreleri, oosite fiziksel destek sağlamakla kalmayıp aynı zamanda oositin büyüme, gelişme ve beslenmesinde de önemli rol oynayan hücrelerdir.

Granüloza hücrelerinde meydana gelen bazı değişikliklerin oosit maturasyonunu doğrudan etkilediği bilinmektedir. Bu amaçla, “Papanicolaou” boyama yöntemi uygulanan granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanı ölçümleri ışık mikroskobu altında yapıldı ve sonuçlar biyokimyasal parametrelerle karşılaştırıldı ve fertilizasyon ile arasındaki ilişki incelendi.

Çalışmamızda ÜYTE uygulamalarına başvuran kadınlardan over stimülasyon protokol uygulamaları ile geliştirilen foliküllerin aspirasyonunda elde edilen oositlerin çevresini saran granüloza hücrelerin de yapıldı.

Literatür taramalarında, IVF sikluslarında insan granüloza hücrelerinde yapılan çalışmaların yok denecek kadar az olduğu görülmektedir. Çalışmamızın bu konuda literatüre katkı sağlayacağı ve daha sonra yapılacak çalışmalara yol göstereceği şüphesizdir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite Tanım ve Tarihçesi

İnfertilite, evli çiftlerin 12 ay boyunca düzenli cinsel ilişki ve herhangi bir korunma yöntemi uygulamadığı halde gebeliğin oluşmaması durumudur.¹ Üreme çok eski zamanlardan beri önemini koruyan bir kavramdır. Gebeliğin erken teşhisi ve gebeliğin oluşmaması ilgili ilk çalışmalar eski Mısır dönemine dayanırken, infertilite ile ilgili çalışmalara MÖ 2200-1950 yıllarında rastlanmaktadır.²

İnfertilite tedavi yöntemlerinden biri olan IVF çalışmalarına ilk önce hayvan çalışmalarıyla başlanmıştır. Kurbağalarda yapılan deneysel çalışmalarda, oosit döllenesinde semenin sıvı kısmının değil, sperm bulunan hücresel kısmının etkin olduğunu, 1729-1799 yıllarında yaptığı çalışmalarla Abbe Lazzaro Spallanzani ortaya koymuştur.³ Walter Heape tarafından 1890 yılında yapılan çalışmada ise bir tavşan türünden kanallarının yıkanması yolu ile preimplantasyon evrede bulunan embriyoların alınarak, diğer bir tavşan türünün kanallarına transfer edip önceki türde tavşanların doğmasını sağlamıştır.^{3, 4} Memelilerde süperovulasyonun ilk araştırmacıları Fizyolog B.Edwards ve eşi Ruth Fowler olmuştur. B.Edwards ve B.Bavister 1968 yılının Mart ayında insan oositini ilk kez laboratuvar koşullarında fertilize etmeyi başaran araştırmacılar olmuşlardır. Bu çalışmaları takiben Edward ve arkadaşları da 1969 ların sonlarında insan oositleriyle ilk IVF'i başardıklarını bildirmişlerdir. İlk IVF gebeliği, Edwards ve Steptoe tarafından 1976 yılında iki kez ektopik gebelik sonucu salpenjektomi geçirmiş bir annede oluşturulmuştur. Bu gebelik de 25 Temmuz 1978'de Louise Brown'ın doğumu ile sonuçlanmış ve bu olay infertilite tedavisinde yeni bir çağı başlatmıştır. Meydana gelen tüm bu gelişmelerin ardından IVF tedavisinde farklı yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Bunlar uygun hastalarda çeşitli modifikasyonlar ile geliştirilip kullanılmaya başlanan, intrauterin inseminasyon (IUI), intrafallopian

transfer (GIFT), zigot intrafallopian transfer (ZIFT) ve intrastoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) dur.³⁻⁵

Geçen 30 yıllık süre içerisinde bu konularda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu gelişmeler arasında, ovulasyon uyarımı, oositlerin toplanması, embriyo transferi, oosit ve embriyo kültürü ve embriyoların dondurularak saklama teknikleri bulunmaktadır. Bütün bu çalışmalar infertilite problemlerinin çözümünü sağlamaya başlamış ve ÜYTE yöntemleri kullanılarak sadece ABD’de 1991 yılında 3000’nin üzerinde canlı doğum gerçekleştirilmiştir.³⁻⁵

2.2. İnfertilite Nedenleri

Çok eski zamanlardan beri önemini koruyan üreme kavramı canlıların neslini devam ettirmesinde büyük öneme sahiptir. Üremenin çeşitli nedenlerle gerçekleşmemesi durumu infertilite olarak değerlendirilir. Üreme çağındaki çiftlerin %10-15’inde görülen infertilitenin sıklığı ve nedenleri erkekler ve kadınlarda farklılık gösterir. Çiftlerin %30-40’ında erkek faktörü, % 40-50’sinde kadın faktörü etken olmakla birlikte %10-15 civarında ise infertilite nedeni açıklanamamaktadır.^{6,7}

İnfertilitenin en sık sebepleri; ovuluar bozukluk, tubal, servikal ve uterin faktörler, erkek infertilite ve nedeni açıklanamayan infertilitedir. Uterin patoloji bu sebepler arasında en seyrek görülendir (Tablo 2.1). Yaşla birlikte her bir faktörün görülme sıklığıda değişmektedir. Örneğin; genç kadınlarda ovulasyon bozukluklarına daha sık rastlanırken, tubal ve servikal faktörler genç ve yaşlılarda eşit sıklıkta görülmektedir. Erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite ise yaşlı çiftlerde daha sık görülmektedir.⁸

Tablo 2.1. Kadın ve Erkek İnfertilite Nedenleri

KADIN İNFERTİLİTE NEDENLERİ	ERKEK İNFERTİLİTE NEDENLERİ
- Vulva ve Vajene Ait Faktörler	- Genital Organ Anomalileri
- Ovulatuvar Faktörler	- Sperm Anomalileri ve Fonksiyon Bozuklukları
- Tubal Faktörler	- Diğer Faktörler
- Uterin Faktörler	
- Servikal Faktörler	
- Diğer Faktörler	

2.3. ÜYTE Uygulamaları

İnfertilite tedavisinde son yıllarda dikkat çekici gelişmeler meydana gelmiştir. Bunlardan birisi başarılı tedavi sonuçları ve üreme üzerinde temel çalışma olanaklarını arttıran, ÜYTE uygulamalarının infertilite tedavisinde kullanılmaya başlanmasıdır. Yardım arayışı içinde olan infertil çiftlerin ÜYTE konusunda bilgilendirilmesiyle başvuru sayılarındaki artış bu konudaki çalışmaların gelişmesine de katkı sağlamıştır.⁹

Üremeye yardımcı tedavi uygulamaları, çocuk sahibi olamayan evli çiftlere, çocuk sahibi olmaları için yapılacak uygulamaların esaslarını içeren ileri tekniklerdir.¹⁰ İnfertilite tedavisindeki en önemli ve etkili kural, infertilite nedenlerinin doğru bir şekilde belirlenmesi ve etkin tedavi yönteminin seçilip uygulanmasıdır. Ülkemizde ÜYTE uygulamaları kapsamında ilk tüp bebek merkezi, 23 Haziran 1988 yılında Ege Üniversitesi'nde Prof. Dr. Refik Çapanoğlu ve ekip arkadaşlarının çalışmaları sonucu hizmete açılmıştır. Bu gelişmelerin ardından Türkiye'de ilk tüp bebek de 18 Nisan 1989 senesinde bu merkezde dünyaya gelmiştir.¹¹

2.4. GemiŖte ve Günümüzde Kullanılan ÜYTE Uygulamaları

2.4.1. IUI

IUI, yıkanmıŖ sperm folikül çatlamasına yakın, katater eŖlięinde uterin kaviteye enjekte edilmesi olayıdır.¹¹

IUI uygulamaları, sperm konsantrasyonu ya da motilitesindeki anomalilerde, servikal faktör, luteal faz defektleri, minimal endometriyozis ve açıklanamayan infertilite tedavilerinde kullanılmaktadır.¹²

2.4.2. IVF

İn vitro fertilizasyon uygulamaları, öncelikli olarak fallop tüplerindeki tıkanıklık durumlarında ayrıca mukus anomalileri, açıklanamayan infertilite ve dŖk sperm sayısı olan erkeklerde kullanılan bir yöntemdir. Kontrollü hiperstimülasyon ve hormon analizleriyle ultrasonografi (USG) eŖlięinde foliküller geliŖim ve olgunlaŖma takip edilmekte, siklusun 3-5. gününde baŖlanan USG takipleri ve ilaçlar, bireysel yanıt a göre ayarlanmaktadır.

Foliküller yaklaşık 18 mm ulaŖtıęında, ovulasyon indüksiyonu ve son oosit matürasyonunun uyarılması için human koryonik gonodotropin (hCG) verilmektedir. hCG enjeksiyonundan yaklaşık 35 saat sonrada USG eŖlięinde transvajinal yolla oosit toplama iŖlemi yapılmaktadır. Toplanan oositler ve hazırlanan sperm laboratuvar ortamında fertilize edilmektedir. Fertilizasyon gerekleŖtikten sonraki 3-5. günlerde 4-16 hücre evresinde olan embriyo uterus içerisine yerleŖtirilir. Embriyonun transfer (ET) aŖamasından sonra gebeliği erken dönemlerinin desteklenmesi ve implantasyon baŖarısını arttırmak için dıŖarıdan progesteron desteği verilmektedir.^{11, 13 -15}

2.4.3. ICSI

ICSI, oosit içerisine tek bir sperm enjekte edilmesiyle yapılan fertilizasyon iŖlemidir. ICSI uygulanmalarına ilk olarak 1992'de baŖlanmıŖtır. Erkek infertilitesi

dışında da giderek artan bir oranda kullanılan ICSI uygulaması, birçok ülkede olduğu gibi ülkemizdeki tüp bebek merkezlerinin de neredeyse tamamında kullanılmaktadır. ICSI ayrıca zona pellucida ve vitellin membran seviyesindeki gamet etkileşimi bozukluklarında da kullanılabilir.^{11, 14 -16}

2.4.4. GIFT

GIFT, IVF-ET işlemine benzemektedir. GIFT, kontrollü hiperstimülasyon yöntemi ile geliştirilip aspire edilen oositlerin spermle birlikte tuba ampullasına konmasıdır. GIFT yöntemi ayrıca seminal sıvının yetersizliği, açıklanamayan infertilitede de etkili bir tedavi olarak kullanılmaktadır. GIFT, tubal ya da pelvik hastalığı bulunan ve ayrıca ektopik gebelik geçirmiş kadınlar için uygun değildir.^{10, 11, 14 -16}

2.4.5. ZIFT

ZIFT, kadından toplanan oositlerin sperm ile birlikte inkübe edilmesi ve in vitro şartlarda oluşturulan embriyonun tubal alana laparoskopik olarak yerleştirilmesi işlemidir. IVF-ET işlemine benzeyen ZIFT için kadının fallop tüplerinden en az biri açık olmalıdır. IVF uygulamalarının GIFT ve ZIFT'e oranla daha fazla tercih edilmektedir. Bunun nedeni ise başarının yüksek, maliyetin düşük olmasıdır.^{4, 10, 14, 15}

2.5. Oogenez

Primordiyal germ hücrelerinden gelişen gametlerin oluşum ve gelişim sürecine gametogenez denir. İntrauterin gelişimin 3. haftasında primordiyal germ hücrelerine, ilk yolk kesesi duvarında rastlanır. Yolk kesesinin allantoise yakın olan duvarında görülen primordiyal germ hücrelerinin, Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile yapılan incelemelerinde, yuvarlak şekilli 15-20 µm çapında bir veya iki nükleolusları ile ince granüler kromatinli nükleuslarının olduğu görülür. Primordiyal germ hücre sitoplazması ise nükleusa yakın oval veya yuvarlak şekilli tübülo-veziküler kristalleri olan

mitokondriyonlar, perinükleer yerleşim gösteren granüllü endoplazmik retikulum sisternaları, serbest ribozom, golgi apparatus, polizom ve veziküller içerir. Ayrıca lipid damlacıkları ile glikojen partiküllerine de primordiyal germ hücre sitoplazmasında rastlanır.

Primordiyal germ hücreleri, intrauterin gelişimde 3. haftanın sonu 4. haftanın başlarında ameboid hareketlerle barsak dorsal mezenterinden, ilkel gonadlara göç ederler. Elektron mikroskobu incelemelerinde primordiyal germ hücrelerinin, psödopodları oluşturan sitoplazmik uzantılar içerdiği, germ hücrelerinin fuziform ve irregüler bir şekil almasında ise kemotaktik faktörler ile sitokinlerin rol aldığı düşünülmektedir. Primordiyal germ hücreleri yüzeyinde oluşan glikokaliks, ekstrasellüler matriks de fibronektin gibi makromoleküllerin ve ayrıca kemotaktik faktör ve sitokinlerin bağlanabilmesine imkan sağlar.

Gonadlara ulaşamayan primordiyal germ hücreleri dejenere olurlar. Aynı şekilde primordiyal germ hücrelerinin ileri gelişimi için de gonadlara ulaşmış olması gerekmektedir.

Gonadlara ulaşan primordiyal germ hücreleri oogoniumlara farklılaşırlar ve mitoz bölünmeler ile oogoniumların sayılarında artma meydana gelir. Mitotik aktiviteleri ile hücre kümeleri oluşturarak sayılarını artıran oogoniumlar, birbirleri ile hücreler arası köprüler aracılığıyla ilişki kurarlar. Kolonizasyon olarak adlandırılan bu olay da hızlı mitoz sonucu sitoplazmaların tam ayrılamamasının hücreler arası köprülerin oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Oogenez, prenatal (doğum öncesi) ve postnatal (doğum sonrası) gelişim olmak üzere iki aşamada incelenir. Oogoniumlardan primer oositlerin oluşumu, intrauterin gelişimin 4. ayından sonra başlar. Bu arada oogonia ve primer oosit kümelerini sarmaya başlayan foliküler hücreler ise yüzeyel germinal (kölomik) epitelinin proliferasyonu ve

invajinasyonları sonucu oluşurlar. İntrauterin gelişimin 7. ayından sonra primer oositler ayrı ayrı foliküler hücreler ile sarılı olarak bulunur ve bu yapı primordiyal folikül olarak isimlendirilir. Bu aşamada, foliküler hücreleri çevre bağ dokudan ayıran bazal lamina da oluşur. Ayrıca germ hücreleriyle foliküler hücreler arasında desmozom ve gap junctionların (geçit bağlantıları) oluşumu gözlenir. Bu evrede mitoz ile çoğalma sonlanırken over de sadece primordial foliküllere rastlanır. Oosit maturasyonunu engelleyici faktör (oocyte maturation inhibition-OMI) folikül hücrelerince salgılanır ve primer oositler I. mayozun profazında (diploten evresinde) duraklar. Böylece primer oositlerin ileri gelişimi puberteye kadar engellenir. Oluşan atreziler ise primordiyal folikül sayısının, doğuma kadar bir miktar azalmasına neden olur.

Yenidoğanın over korteksinde bulunan primordiyal folikül sayısı 700.000-2.000.000 civarındadır. Bu sayı puberteye kadar primordial foliküllerdeki atrezilerin devam etmesi sebebiyle 400.000'e kadar düşer. Pubertede her menstrüel siklus başında 5-15 adet folikül hipofizden salgılanan gonadotropinlerin etkisiyle gelişmeye başlar. Bu foliküllerden ise sadece bir tanesi ovulasyon aşamasına kadar ilerler. Nadiren de olsa birden fazla folikülün bu aşamaya kadar geliştiği de görülebilir. Gelişmeye başlayan foliküllerden, dominant folikül dışındakilerin atreziye uğraması folikül sayısının menapoza kadar gittikçe azalmasına neden olur. Dolayısıyla menapoz durumunda over korteksinde hiç folikül bulunmaz. Puberteden menapoza kadar geçen süre içinde ovule olabilecek şansa sahip olan folikül sayısı ise 400-500 kadardır.¹⁷⁻²¹

2.6. Folikülogenez

Folikülogenez; over korteksinde meydana gelmektedir. Oositlerin çevresini saran granüloza hücreleriyle birlikte sürekli gelişip, büyüdüğü süreç olarak tanımlanmaktadır. İnsanda fetal hayatta başlayan folikülogenezde gelişmekte olan ovaryumlar içerisindeki primordiyal germ hücreleri (oogonia), yirminci hafta civarında artmaya başlar.

Doğumdan birkaç hafta öncesine kadar primordial germ hücreleri mitoz bölünmeler ile sürekli olarak sayılarını artırır ve bu evreden sonra yeni oosit oluşumu gözlenmez. Gestasyonun ortalarında sayıları yedi milyona ulaşan germ hücreleri, ileri gestasyon aşamasında meydana gelen programlı hücre ölümleriyle azalmaya başlarlar. Böylece yenidoğan, overlerindeki yaklaşık 1-2 milyon yenilenemeyen oosit ile dünyaya gelir. Bu sayı atrezi veya hücre ölümleri ile puberteye kadar 400.000'e düşer. Oldukça uzun olan folikülogenez süreci, büyüyen folikül havuzundan primordial folikülün seçilimi ile başlar, ovulasyon veya atrezi ile sonuçlanır. Bir primordial folikülün ovulasyon evresine kadar gelişebilmesi yaklaşık olarak bir yıllık bir süreyi gerektirmektedir.²²

Folikülogenez gelişim evreleri;

- a) Primordial folikül evresi
- b) Primer folikül
- c) Sekonder folikül
- d) Preantral folikül
- e) Antral folikül
- f) Preovulatuvar folikül
- g) Foliküler atrezi'dir.

2.6.1. Primordial Folikül Evresi

İşlevsel olarak aktif olan bir overin temel üreme birimleri primordial foliküllerdir. Dolayısıyla primordial foliküller menstruel siklusun kaynağını oluşturmaktadırlar. Tüm primordial foliküllerin gelişimi gebeliğin 6. ve 9. ayları arasında oluşmaktadır ve kadın yaşamının üreme sürecinde yer alan tüm oositler doğumdan itibaren vardır. Primordiyal folikül, küçük çaplı bir oosit ile oositin çevresini saran ve pregranüloza denilen tek tabakalı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Primordial folikül büyümesindeki sinyal henüz bilinmemekle birlikte foliküler

hücrelerden salınan kit-ligand'ın, folikül büyümesini başlatıcı etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Primordial foliküller, doğum öncesi dönem, çocukluk dönemi, puberte, gebelik ve laktasyon boyunca sürekli olarak folikülogeneze katılırlar. Kadın overindeki folikül sayısı o kadının over rezervi olarak değerlendirilmektedir.²³

Primordial folikül: Mayozun profaz evresinde bekleyen primer oosit, onu çevreleyen tek katlı yassı granüloza hücreleri ile bazal laminadan oluşmaktadır. Oosit ve çevresini saran granüloza hücreleri, bazal lamina sayesinde mikroçevredeki diğer hücrelerle direkt olarak temasta olmazlar. Primordial foliküller endokrin sistemden sınırlı olarak etkilenirler ve bağımsız bir kanlanmaya sahip değildirler.

Fetusdaki gelişimlerin ardından bazı primordial foliküller gelişim için uyarılırlar. Recruitment olarak adlandırılan bu uyarım, primordial foliküllerin tükendiği menapoz aşamasına kadar sürmektedir. Primordial foliküllerin uyarımı, düzenli bir şekilde yaşamın ilk üç dekadı boyunca devam eder. Ancak 36 yaşından sonra görülen yaşa bağlı plazma folikül uyarıcı hormon (FSH) düzeyindeki artış, folikül uyarımında hızlanmaya ve azalan fertiliteye neden olabileceği düşünülmektedir.²³ 36 yaşından sonra görülen yaşa bağlı plazma FSH düzeyindeki monotropik artışın recruitmentteki hızlanma ve azalan fertilitenin ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Belki de yüksek plazma FSH konsantrasyonu primer-sekonder farklılaşmasını hızlandırmaktadır.²⁴

Folikül seçimi ve gelişiminin histolojik göstergeleri arasında granüloza hücrelerinin mitotik potansiyeli ile granüloza hücrelerinin şekillerinde yassı epitelden küboidal epitele dönüşüm bulunmaktadır. Bu gelişim gen aktivasyonu ve oosit gelişimi ile devam eder. Folikül uyarımı ve gelişimini kontrol eden faktörler arasında, granüloza orjinli kit ligant²⁵, teka orijinli kemik morfogenetik protein (BMP)-7²⁶ ve yüksek FSH düzeyi²⁷ gibi aktivatörler ve mülleryan inhibe edici madde (MIS) gibi inhibitörler bulunmaktadır. Recruitmentin pozitif veya negatifliğini de bu faktörler kontrol ederler.²⁸

Kadında folikül seçiminin klinik olarak önemli olmasına rağmen nasıl kontrol edildiği hakkında net bir bilgi yoktur.

2.6.2. Primer Folikül

Primer folikül, oosit etrafında tek tabakalı olarak dizilen küboidal granüloza hücrelerinin görülmesi ile tanımlanır. Primer folikülde gözlenen gelişmeler ise FSH reseptörü ekspresyonu, oosit büyüme ve farklılaşmasıdır.²⁹ Granüloza hücreleri, FSH reseptörünü primer folikül gelişimi boyunca eksprese ederler.³⁰

Oosit genomunun reaktivasyonu sonucu oosit çapı preantral period boyunca ~25 μ 'dan ~120 μ ' a kadar büyümektedir. Oosit çapında meydana gelen artış ile oosit, granüloza hücreleri ile birlikte bir matriks sentezler. Nonsellüler yapıdaki bu matriks zona pellusida (ZP) adını alır ve bu yapı homojen, mukopolisakkaritlerden zengin, oositin ve granüloza hücrelerinin yüzeyinden birbirine doğru uzanan mikrovillusları bulundurur. Bazı oosit mRNA'larının genetik okunması sonucu ZP proteinleri olarak bilinen proteinler oositin büyüme ve farklılaşmasına katkıda bulunmaktadır. Folikül çapının artmasıyla ZP'de kalınlaşma görülür. ZP-1, ZP-2 ve ZP-3 genleri aktive olur. Oosit yüzeyinde polimerize olan ZP proteinleri oosit etrafında koruyucu bir tabaka oluştururlar. Zona pellusidanın önemi, ZP-3'ün sperm-bağlayıcı molekül olması ve kapasitasyona uğramış spermde akrozom faaliyetinin başlatılması aşamasında görülür.

Granüloza hücreleri oosit maturasyonunda görev alan bir takım büyüme faktörlerini salgılamaya başlarlar. İnsan oositleri yüksek düzeylerde GDF-9 ve BMP-15 eksprese ederler³¹ ve in vitro olarak GDF-9'un insan preantral foliküllerinin gelişimi üzerinde sitümüle edici etkisinin olduğu bilinmektedir.³²

2.6.3. Sekonder folikül

Sekonder folikül gelişiminde çok tabakalı granüloza hücre tabakasına rastlanır ve bazal lamina etrafında stroma hücrelerine benzeyen bazı hücreler görülür. Teka folikülü,

folikül çevresindeki bağ dokusu farklılaşması ile oluşur ve bu yapı sekonder folikül gelişimi ile karakterizedir. Sekonder folikül gelişiminini iki primer teka tabakasının oluşumu izlemektedir. Bu tabakalar interstisyel hücrelere değişen içteki internal teka tabakası ve düz kas hücrelerine değişen dıştaki eksternal teka tabakasıdır. Ayrıca teka gelişmesi, anjiogenezis ile çok sayıda küçük damar yapılarının gelişmesinde olanak tanımaktadır. Folikül çevresindeki kan dolaşımı, gonadotropinlerin ve besinlerin ulaşmasına, artıklar ile sekrete edilen maddelerin de uzaklaştırılmasını sağlar.

Sekonder folikül gelişiminde birtakım değişiklikler meydana gelir. Bu gelişmeler granüloza hücre sayısındaki artış ile teka hücrelerinin oluşmasıdır. Primer folikülden, sekonder folikül gelişiminde rol oynayan büyüme faktörleri, oosit tarafından üretilir. Granüloza hücresinin ikinci tabakasının oluşumu sekonder folikül gelişimi ile ilgili olup, bu olay primerden folikülden sekonder foliküle geçiş olarak bilinmektedir.^{32, 33}

2.6.4. Preantral Folikül

Granüloza hücrelerinin arasında içi foliküler sıvı ile dolu olan küçük boşlukların belirmesi ile preantral folikül gelişimi başlar. Bu aşamada folikül preantral folikül olarak adlandırılır. Preantral fazın sonunda gelişmiş folikülde bulunan yapılar: Zona pellusida ile çevrelenmiş bir oosit ve çevresini saran çok katlı granüloza hücre tabakası, bazal lamina, teka interna, teka eksterna ve teka dokusu içinde bulunan kapiller ağıdır.

2.6.5. Antral Folikül

Erken antral aşamada gözlenen küçük boşluklar birleşerek tek ve büyük bir boşluk halini alır. Antrum oluşumu olarak adlandırılan bu aşamada, granüloza hücre sayılarının arttığı ve oositin tam olarak geliştiği gözlenir.³⁴ Bu evrede ki folikül, antral folikülü olarak isimlendirilmektedir. Antral foliküller ayrıca üreme çağındaki kadında ovaryan östrojenlerin ana kaynağını oluşturur.³⁵

2.6.6. Preovulatar (Graaf) Folikül

Graaf foliküllerinin boyut ve miktarı, yaş ve menstruel siklusa göre değişiklik gösterir. Foliküler faz boyunca dominant folikülün aşırı derecede büyümesinden, hücre proliferasyonu ve foliküler sıvının artması sorumludur.³⁶ Folikül periferinde granüloza hücrelerinin birkaç tabaka şeklinde yerleşmesi ile membrana granüloza tabakası olarak adlandırılan yapı oluşur. Oositin etrafını saran ve oosite yakın olan granüloza hücreleri korona radiata, geri kalanlar ise kümülüs hücreleri olarak adlandırılırlar. Olgun oosit de ovulasyon esnasında korona ve kümülüs hücreleriyle birlikte atılır. Foliküler sıvı artması ve mitozun durması atretik folikül boyutunu sınırlandıran olaylardır.

Graaf folikülünde granüloza hücrelerinin oositin çevresindeki şekillenme ve yerleşimi tam olarak tamamlanmıştır. Granüloza alt birimleri olan: Membran, perantral alan, kumulus ooforus ve korona radiata gibi yapıların ortaya çıkması gelişimin tamamlandığının göstergeleridir. Graaf folikülü gelişimi sürecinde granüloza hücrelerinin tamamı FSH reseptörü ekspres ederler. Ancak her granüloza hücre grubu, FSH düzeyine içinde bulunduğu konuma göre farklı yanıt verebilmektedir.³²

Her bir siklusta antral folikül uyarımı, yükselen FSH etkisiyle gerçekleşir ve graaf folikül aşamasına doğru ilerler. Foliküller primordial, primer ve antral aşamalara, endokrin ve parakrin faktörlerin etkisi altında ulaşmaktadır. Antral aşamada gonadotropinlerin etkisiyle çok az folikül preovulatar aşamaya ulaşırken foliküllerin çoğu atreziye uğrar. Her siklusta dominant graaf folikülleri preovulatar gonadotropin salınımına cevap olarak fertilize olabilecek olgun oositi dışarı atar. Arta kalan teka ve granuloza hücreleri ise korpus lütemu oluşturmak üzere birtakım değişikliklere uğrarlar.

2.6.7. Foliküler Atrezi

Yenidoğan ovaryumunda bulunan primordiyal folikül sayısı birçok kez ele

alınmış bir konudur. Primordiyal foliküller doğumun başlangıcında ya da kısa bir süre sonra aktive olurlar. Folikülojenik büyüme, foliküler atrezi aşamasına kadar devam eder. Erişkin hayatta primordiyal havuz tükenmesi de ileri yaşlarda folikül kaynağında meydana gelen azalma ile ilişkilidir.

Memelilerdeki foliküllerin (oositlerin) %99'u atreziyle yaşamlarını kaybetmektedirler. Foliküler atrezi apoptozis aracılı bir süreçtir. Oosit ve çevresini saran granüloza hücrelerinde meydana gelen apoptozis, atrezinin temel prensibidir. FSH'nın apoptozisi önlemedeki rolü, FSH'nın folikül uyarım ve gelişimini sağlayan faktör olduğu düşüncesini doğurmuştur.³⁴

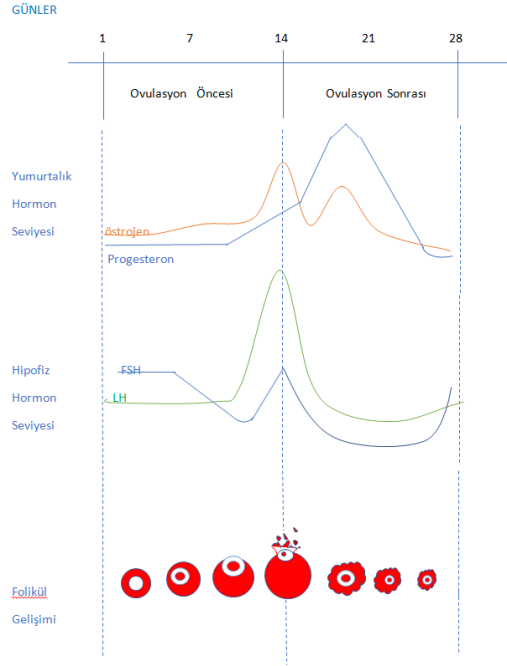
2.7. Ovulasyonun Hormonal Düzenlenmesi

Her menstrüel siklusta foliküler fazdan luteal faza geçiş, ovaryumda meydana gelen birtakım değişiklikler ile gerçekleşir. Foliküler faz luteal fazdan ovulasyon ile ayrılır (Şekil 2.1).³⁶ Foliküller fazın erken evrelerinde FSH ve lüteinizan hormon (LH) etkisiyle 10-20 adet preantral folikül gelişmeye başlar.^{37,38} Folikül büyümesinden sorumlu olup, siklusun ilk 8-10 günlerinde etkili olan başlıca hormon FSH'dır. Foliküler lümenine östrojen sentezlenmesi de FSH etkisiyle teka ve granüloza hücreleri tarafından gerçekleşir. FSH seviyesinin, granüloza hücrelerinin poliferasyon ve diferansiyasyonlarını tamamlamalarına olanak tanıyarak, foliküler büyüme ve olgunlaşmaya katkı sağladığı bilinmektedir. Foliküller, lüteinize olma potansiyellerini, LH'a cevap olarak kazanırlar.³⁹ Foliküler büyümenin ileri aşamalarında, ovulasyon öncesi progesteron artması da yine LH'nın etkisi altında gerçekleşir. Folikül lümeninde östrojen birikimi ve birikiminin ulaştığı seviye ile folikülde ki sürekli büyüme ve gelişme FSH'dan bağımsız olarak gerçekleşir. Adenohipofizden FSH salınımını, östrojen seviyesi inhibe eder. Foliküler gelişim hormonal olarak kontrol edilir ve bunun sonucunda sadece bir folikül gelişimini tamamlayarak ovule olur. LH'nın seviyesindeki

artışın maksimum seviyeye ulaşması ovulasyonu başlatırken, FSH daha az oranda yükselir.

Menstrüel siklusun ortasında salınan LH, ovule olacak dominant folikülün steroidojenik fonksiyonunda gereklidir.³⁹ Teka interna hücreleri artan LH'ya cevap olarak içerdikleri LH reseptörleri aracılığıyla androjen üretimini artırır. Bunun yanında FSH'ya cevap olarak androjen-östrojen dönüşümünün artması granüloza hücrelerinde bulunan FSH reseptörleri ile gerçekleşir. Siklusun ortasındaki gonadotropin salınımı, dolaşımdaki östradiol seviyesinin artmasını sağlayarak olgun folikülde ovulasyonun başlamasına neden olur.⁴⁰ Luteal faz ovulasyonun ardından başlar. Granüloza ve teka hücreleri hızlı bir morfolojik değişikliğe uğrayarak korpus luteumu (KL) oluştururlar. KL, östrojen ve yüksek oranda progesteron salgılar. Endometriumun sekretuar faza girmesi östrojen ve progesteron etkisiyle gerçekleşir. Bu faz, fertile olan oositin, implantasyona hazırlık evresidir. LH, menstrüel siklus boyunca, KL un gelişmesi ve sürekliliğinden sorumlu olan hormondur. Fertilizasyonun oluşmadığı durumlarda ise hormon seviyesinde düşüş meydana gelir ve korpus luteum birkaç gün içinde dejenere olur. Fertilizasyonun gerçekleşmesi durumunda ise progesteron ve östrojen KL tarafından salgılanır. KL un uyarımından ve gebelik boyunca sürekliliğinden, önce fetüs tarafından daha sonra da plasenta tarafından salgılanan hCG sorumludur.³⁹

Ovaryumda LH nın preovulatuvar dönemdeki salınımından önce üretilen başlıca hormon östrojen olup, teka ve granüloza hücrelerinin lüteinize olmasından sonra LH'nın etkisiyle bu hücrelerden salınan temel hormon ise progesterondur.⁴⁰



Şekil 2.1. Ovulasyon ve hormonal değişim

2.8. Oosit – Foliküler Hücre Etkileşimi

Ovaryan foliküllerin büyüme ve gelişmesi, granüloza hücrelerinin proliferasyon ve diferansiasyonuyla ilişkilidir.⁴¹ Granüloza hücrelerindeki proliferasyon folikül gelişiminin erken evrelerinde yavaş gerçekleşir. Foliküllerin büyümesinin erken evresinde gonadotropin stimülasyonu ve artan miktarlarda östradiol salınmasıyla granüloza hücrelerinin proliferasyonunda bir artış görülür. Son fazda ise, östradiolün seviyesindeki artışla bağlantılı olarak foliküler gelişmeyi, azalan hücre proliferasyonu takip eder. Bununla birlikte foliküllerin büyük bir çoğunluğu, granüloza hücre proliferasyonu ile karakterize olan atrezi sürecine girerler.⁴²

Kümüls ve teka hücrelerinin çevrelediği oosit, folikül içinde bulunur. Eğer folikül atreziye girmeyip gelişmesini sürdürürse oosit komponentleri fertilizasyon için yeni bir düzenlenme sürecine girerler. Oosit gelişiminin çeşitli evrelerinde oosit morfolojisinde, fizyolojisinde ve oositi çevreleyen kümüls hücrelerinde çeşitli değişiklikler meydana gelir. Oosit maturasyonunda granüloza hücrelerinin ve kümüls

hücrelerinin fonksiyonu önemlidir.⁴³

Granüloza hücrelerinin iki önemli görevi vardır. Bunlardan ilki, ovulasyonun başlangıç aşamasından son aşamasına kadar oositin bütünlüğünün korunma ve beslenmesine yardım edilmesi, ikinci fonksiyonu ise teka lutein hücrelerinin özellikle östrojen etkisi altında başta progesteron olmak üzere steroid hormon üretmesidir.⁴⁴

Siklusun ortasında LH seviyesinde meydana gelen değişiklik, ovaryan foliküllerde ovulasyon için bir seri kritik değişikliklere neden olur.^{45, 46} Steroidogenez, kümülüs hücre büyümesi, oosit matürasyonu ve ovulasyon, gibi birçok kritik değişiklikte rol oynar.⁴⁷ LH stimülasyonu, ovulasyonu indükte ederek mayozun tekrar başlamasına neden olur. Ayrıca mRNA ve proteinlerin ekspresyonuna aracılık eder. Bunun yanı sıra oositi çevreleyen kümülüs hücrelerinin salgılayıcı özelliklerinde birtakım değişiklikler de meydana gelir.⁴⁸ LH reseptörlerinin ekspresyonu mural granüloza hücreleriyle sınırlandırılmıştır. Kümülüs hücreleri ve oositlerde LH reseptörü ya hiç bulunmaz ya da çok az miktarda bulunur ve bu yüzden direkt olarak LH stimülasyonuna duyarsızdırlar.⁴⁶⁻⁴⁹

Ovulasyonun gerçekleşmesi için gonadotropinlerin preovulatuvar artışını izleyen iki önemli olay gerçekleşmektedir. Bunlar oositi çevreleyen kümülüs hücrelerinin gelişimi ile beraber mayotik maturasyonun tamamlanmasıdır. Kümülüs hücrelerinin morfolojisinde hücre iskeletinin düzenlenmesi ve aktin mikrofilamentlerinin toplanması gibi değişiklikler meydana gelir. Ayrıca hyaluronik asitçe zengin ekstrasellular matrikste artış ile oosit ve kümülüs hücreleri arasında bulunan neksus tipi bağlantılarda da değişim gözlenir.^{50, 51}

Bu değişim ile ovulasyon esnasında foliküllerden kümülüs-oosit kompleksinin atımının kolaylaştırılması ve bu kompleks yapının oviduktal fimbriyalar tarafından yakalanması, oviduktardan geçişi ve canlılığının korunması sağlanır. Kümülüsün

gelişmesi ayrıca, sperm motilitesi ve aktivasyonu için uygun dış şartların oluşumuna da katkı sağlar.⁵²



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Grupların Oluşturulması

Bu çalışmaya ocuk sahibi olmak için Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi'ne infertilite tedavisi için başvuran ve ICSI programına alınan 19-42 yaş aralığındaki rastgele seçilen toplam 50 hasta dahil edildi. Atatürk Üniversitesi etik kurulunun 10.03.2017 tarih ve 12/13 sayılı kararı ile çalışmaya başlandı. Hastalara hasta bilgilendirme formu okutularak çalışma hakkında bilgi verildi ve aydınlatılmış onamları alındı. Hastalar yaşlarına göre 35 yaş altı ve üstü olarak 2 gruba ayrıldı. Çalışmamız oosit aspirasyonu ile alınan folikül sıvısı içindeki granüloza hücrelerinde gerçekleştirildi. Her iki gruptaki hastaların ICSI programına alınmadan önce alınan kan örneklerinde tespit edilen FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca⁺² değerleri kaydedildi.

3.2. Ovaryum Stimülasyon Protokolünün Uygulanması

Hastalara, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogları agonist (Lucrin;Fransa) veya antagonistleri (Cetrotide; Serono,İsviçre,) ve insan menopozal gonadotropinleri (HMG) ya da folikül stimülan hormonları (FSH) (Menogon; Ferring, Kiel, Almanya, Gonal-F; Serono, Aubonne, İsviçre)'nin birlikte kullanıldıkları ilaç protokolleri uygulanarak over stimülasyonu gerçekleştirildi. Foliküler büyümenin takibi, düzenli olarak yapılan ultrason kontrolleri ile serum östradiol seviyelerinin ölçümü ile yapıldı. Folikül apı en az 18 mm olduğunda 5000 ya da 10000 IU insan koryonik gonodotropini (hCG) (Pregnyl; Organon, Türkiye) subkutan olarak uygulandı.

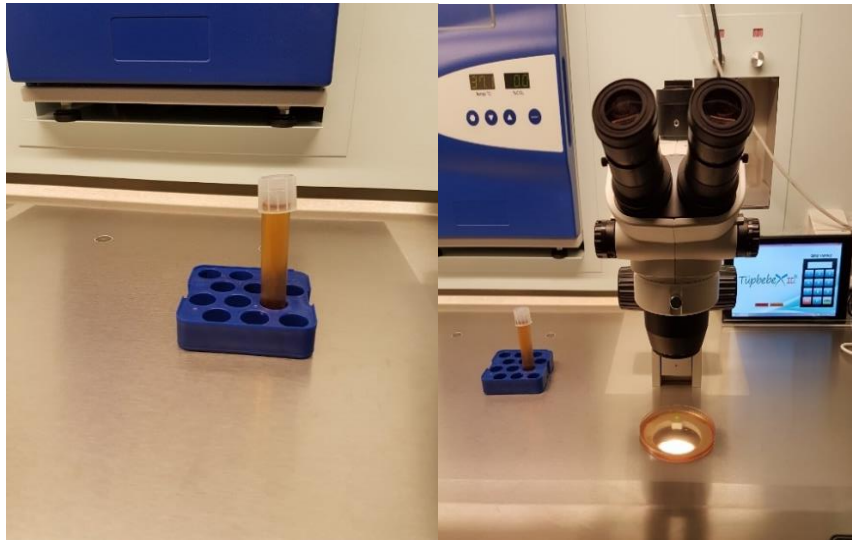
3.3. OPU

HCG enjeksiyonu yapıldıktan sonra 36. saatte oosit toplama işlemi genel anestezi eşliğinde gerçekleştirildi. Bu amaçla, steril bir kılıf içindeki transvaginal ultrason probu (Aloka; Prosound, Almanya) ve ona tutturulmuş tek yada çift lümenli steril OPU iğnesi (Gynetics; Belçika) ile transvaginal olarak oosit toplama işlemi

yapıldı. Yıkama medyumu olarak ise ASP (Vitrolife, İsveç) kullanıldı. Aspire edilen ve 14 ml'lik steril tüplere (Falcon, BD Fransa) alınan foliküler sıvı, embriyoloji laboratuvarında bulunan alttan ısıtmalı laminar air flow (IVF Workstation L-126 Dual,K-Systems; Danimarka) (Şekil 3.1) içindeki stereo mikroskop (SZ 61 Olympus, Japonya) altında steril petriye (Falcon; ABD) döküldü. Ardından korona-kumulus kompleksi arandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Foliküler sıvının incelendiği steril kabin



Şekil 3.2. Folikül sıvısının stereo mikroskop altında incelenmesi

Bir gün önceden 37 °C’ de etüvde bırakılan G-MOPS PLUS (Vitrolife, İsv) medyumundan 1000 µl alınarak centre well (Falcon; ABD) içine koyuldu ve toplanan korona-kümülüs kompleksleri bu medyum içine alınarak yıkandı. Yıkanan korona-kümülüs kompleksleri yine bir gün önceden hazırlanan 37°C’ deki %95 nem içeren, %6 CO₂ ve %5 O₂’ lik inkbatrdeki (Labotect C200, Almanya) G-IVF PLUS (Vitrolife, İsv) ortamına alınarak 2-3 saat inkübasyon süreci için hızlı bir Şekilde inkübatöre yerleŐtirildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Inkbatr

3.4. Oosit Temizleme İŞlemi

Mikroenjeksiyon iŐleminde kullanılacak olan oositin olgunluk değerlendirilmesi, toplanan oositlerin minimum 2 saatlik bir inkübasyon süresi sonunda oositi saran kümülüs-korona hücrelerinin uzaklaŐtırılması işlemi ile gerçekleştirildi.

Hyalüronidaz enzimi (Hyase-10X, Vitrolife, İsv) kullanılarak uygulanan oosit temizleme işlemi, 10 µl Hyase-10X G-MOPS PLUS ortamında dile edilerek

hazırlanan kültür kabında gerçekleştirildi. Yaklaşık 15-20 saniye pipetaj işlemi uygulanan oosit, çevresini saran kümülüs-korona yapısından kısmen temizlendi. Bu işlem sonunda Oosit etrafında kalan kümülüs hücreleri ise hyalüronidaz enzimi içermeyen G-MOPS PLUS ortamında önce 200 µm sonra 135 µm olmak üzere farklı çaplı pipetler (Vitrolife; İsveç) kullanılarak mekanik olarak temizlendi. Yapılan değerlendirmeler sonrasında olgun oositler ICSI işlemine alındı.

Oositlerin kümülüs-korona komplekslerinden arındırıldığı hyalüronidaz enzimi içeren kültür kabında pipetaj sonrası kalan kümülüs kompleksi pipet yardımıyla toplanarak bir lam üzerine alınıp lamel yardımıyla yayma işlemi uygulandı ve Papanicaloua boyama işlemi için fikse edildi. Her hasta için 2 lam hazırlandı ve bu lamlar boyama yapılacak güne kadar +4 °C de saklandı.

“Papanicolaou” Boyama Yöntemi

Cam lamlar üzerindeki granüloza hücrelerinin boyama işlemi için, lamlar şalelere yerleştirilerek aşağıdaki işlemler uygulandı;

1. % 95’lik Alkol’de 1 dk bekletildi.
2. % 95’lik Alkol’e 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
3. Distile suya 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
4. % 95’lik Alkol’e 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
5. Distile suya 10 kez daldırıldı.
6. Hematoksilen Gill2’de 1 dk bekletildi.
7. Distile suya 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
8. % 95’lik Alkol’e 10 kez daldırıldı.
9. Orange G-6’da 1 dk bekletildi.
10. % 95’lik Alkol’e 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
11. % 95’lik Alkol’e 10 kez daldırıldı.

12. EA-50'ye 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
13. % 95'lik Alkol'e 10 kez daldırıldı.
14. % 95'lik Alkol'e 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
15. % 100 Alkol'e 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
16. % 100 Alkol'e 10 kez daldırıldı.
17. Ksilen'e 10 kez daldırılıp çıkarıldı.
18. Ksilen'de 1 dk bekletildi.
19. Boyama işlemini tamamlayan preparatlar entellan ile kapatılarak kurumaya bırakıldı.
20. Preparatlar kurduktan sonra ölçüm ve analizler için ışık mikroskopta (Leica DM4000B, Germany) incelenerek ölçümler kaydedildi ve fotoğrafları çekildi.
21. Hazırlanan yayma preparatların değerlendirilmesi kamera ataçmanlı Leica DM4000B marka ışık mikroskobu altında stereo investigator 8 programı yardımıyla nucleator üzerinden uygun probun seçilmesi ile yapıldı. Granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanı ölçümleri mikroskop altında X40 objektiflik büyütmede her hasta için 30 hücrenin ölçümü yapılarak kaydedildi.

3.5. Biyokimyasal Analizler

Her iki gruptaki hastaların ICSI programına alınmadan önce alınan kan örneklerinde tespit edilen FSH (mIU/mL), LH (mIU/MI), TSH (uIU/mL), T3 (pg/mL), T4 (ng/dL) ve Ca⁺² (mg/dL) değerlerine hastane biyokimya laboratuvar kayıtlarından ulaşıldı.

IVF uygulaması ardından embriyo transferi yapılan hastaların Beta-HCG değerleri transferin yapıldığı günden sonraki 12-13. günlerde biyokimyasal olarak

ölçüldü. Bu günlerle uyumlu referans aralığının altında olan değerler negatif olarak değerlendirilirken aralığın içinde ve üzerinde olan değerler pozitif olarak değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

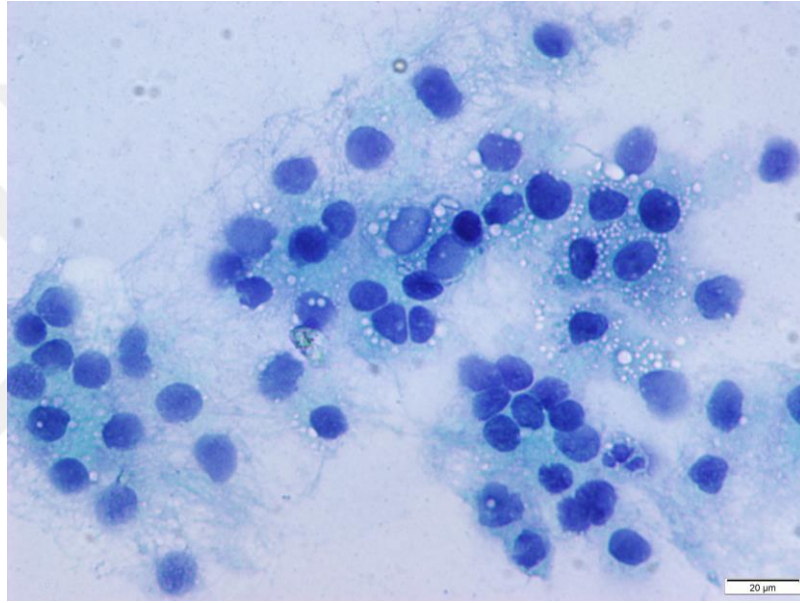
Verilerin istatistiksel analizinde Microsoft SPSS 21.0 istatistik paket programı kullanıldı. Sonuçların gruplar arası karşılaştırılmasında veriler normal dağılıma uymadığı için nonparametrik testler uygulandı.

Gruplar arasında FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca^{+2} değerleri ile granüloza hücrelerinin çekirdek ve sitoplazma alanlarının karşılaştırılması amacıyla Mann-Whitney U testi kullanıldı. Beta-HCG pozitifliğinin karşılaştırılması ise Ki-kare testi ile gerçekleştirildi. FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca^{+2} değerleri ile granüloza hücrelerinin çekirdek ve sitoplazma alanlarının birbiri ile olan ilişkilerinin değerlendirilmesi için Spearman sıralı korelasyon analizi yapıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Morfometrik Ölçümlerle İlgili Bulgular

Her bir hasta için hazırlanan ve “Papanicolaou” boyasıyla boyanan yayma preparatları Leica 6400 DM kamera ataçmanlı ışık mikroskopunda incelendi (Şekil 3.4). Her bir yaymada 30’ar adet granüloza hücrelerinin çekirdek ve sitoplazma alanları Stereo investigator 8 programı yardımıyla hesaplanarak elde edilen değerler ortalama ve standart sapma (SS) şeklinde Tablo 4.1’de belirtildi.



Şekil 3.4. Yayma preparatta görülen granüloza hücreleri. (Boya:“Papanicolaou boyası”)

Tablo 4.1. Granüloza Hücresi Sitoplazma ve Çekirdek Alan Ölçümlerinin ile Yaş Arasındaki İlişki

Gruplar	Granüloza hücresi sitoplazma	Granüloza hücresi çekirdek alanı
	alanı ortalama değeri ve SS	ortalama değeri ve SS
Yaş<35	164.34±56.23	59.36±14.21
Yaş>35	181.22± 92.86	64.46±28.58

ICSI programında olan hastalardan hormon tedavisine başlamadan önce alınan kan örneklerinde biyokimyasal olarak tespit edilen serum ortalama FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca⁺² değerleri Tablo 4.2’de gösterildi.

Tablo 4.2. Biyokimyasal Verilerin Ortalama Değerleri

Gruplar	Serum FSH seviyeleri ortalama değeri	Serum LH seviyeleri ortalama değeri	Serum TSH seviyeleri ortalama değeri	Serum T3 seviyeleri ortalama değeri	Serum T4 seviyeleri ortalama değeri	Ca ⁺² seviyeleri ortalama değeri
Yaş<35	7.022	4.45	1.777	3.19	0.917	9.013
Yaş>35	8.128	5.65	1.324	3.39	0.909	8.912

Ayrıca hastalara ait beta-HCG sonuçları 35 yaş altı ve 35 yaş altı üstü gruplarda pozitif veya negatif olarak değerlendirildi. Sonuçlar, Tablo 4.3’de belirtildi.

Tablo 4.3. Yaş Gruplarında beta-HCG Dağılımı

Gruplar	Beta-HCG (+)	Beta-HCG (-)
Yaş<35	13	12
Yaş>35	7	18

Yapılan istatistiksel analizler sonucu elde edilen veriler doğrultusunda aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

Otuz beş yaş altında olan hastalardan alınan granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alan değerleri 35 yaş üstü hastaların değerlerine kıyasla artmış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi (Mann-Whitney U Test, $p>0.05$).

Serum FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca^{+2} değerlerinin 35 yaş altı ve 35 yaş üstü hastalar arasında yapılan karşılaştırılmalarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Mann-Whitney U Test, $p>0.05$).

Otuz beş yaş altı olan hastalarda 13 hastada beta-HCG pozitif iken, 35 yaş üstü grupta beta-HCG pozitif hasta sayısı 7 olarak tespit edildi. İki grup arasında beta-HCG pozitif hasta sayısı açısından belirgin bir fark olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Ki Kare Test, $p>0.05$).

Granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alan değerleri ile bazı sayısal değişkenler arasında yapılan korelasyon analizi sonuçları Tablo 4.4'de verildi.

Yapılan ileri analizlerde granüloza hücrelerinin sitoplazma alanı ile serum T4 değerleri arasında negatif yönde zayıf bir korelasyon olduğu saptandı ($r= -0.33$) ve bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı idi (Spearman Testi, $p<0.05$). Granüloza hücrelerinin çekirdek alanı ile serum T4 değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönde zayıf bir korelasyon vardı (Spearman Testi, $p<0.05$, $r= -0.30$).

Yukarda belirtildiği gibi serum ortalama TSH değerleri açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark olmamasına rağmen yapılan ileri analizlerde serum TSH seviyesinin artan yaşla birlikte azaldığı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde zayıf bir korelasyon olduğu tespit edildi (Spearman Testi, $p<0.05$, $r= -0.30$).

Artan yaş ile serum TSH değerleri arasında ilişki, yaş ile T3 (Spearman Testi, $p>0.05$, $r= 0.04$) ve T4 (Spearman Testi, $p>0.05$, $r= 0.01$) değerleri arasında tespit edilemedi.

Ancak serum T4 ve Ca^{+2} değerleri arasındaki ilişki ileri analiz yöntemleri ile

incelendiğinde artan serum T4 seviyeleri ile orantılı olarak serum Ca^{+2} seviyelerinin de arttığı görüldü. Bu iki değer arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde yüksek bir korelasyon vardı (Spearman Testi, $p=0.04$, $r=0.6$).

Serum FSH düzeyleri ile serum LH düzeyleri arasında pozitif yönde önemli ilişki olduğu saptanırken (Spearman Testi, $p=0.01$, $r=0.35$), serum FSH düzeyi ile Ca^{+2} düzeyleri arasında negatif yönde önemli bir korelasyon olduğu gözlemlendi (Spearman Testi, $p=0.017$, $r= -0.49$).

Tablo 4.4. Biyokimyasal Verilerin Karşılaştırılması

		Sitoplazma Alanı	Çekirdek Alanı	Yaş	FSH	LH	TSH	T3	T4	Ca
Sitoplazma Alanı	r	1.000	0.728	0.81	0.20	-0.03	0.17	0.02	-0.32	-0.26
	P		0.00	-0.33	0.15	0.82	0.22	0.91	0.02	0.22
Çekirdek Alanı	r	0.000	1.000	0.12	0.15	-0.00	0.04	0.09	-0.30	-0.02
	P		0.00	0.40	0.28	0.94	0.76	0.61	0.03	0.92
Yaş	r	0.33	0.12	1.000	0.21	0.21	-0.30	0.04	0.01	0.02
	P	0.81	0.40		0.12	0.12	0.03	0.82	0.93	0.92
FSH	r	0.20	0.15	0.21	1.000	0.35	-0.20	0.02	-0.18	-0.49
	P	0.15	0.28	0.12		0.01	0.16	0.89	0.19	0.01
LH	r	-0.03	-0.00	0.21	0.35	1.000	0.00	-0.09	0.12	-0.26
	P	0.82	0.94	0.12	0.01		0.99	0.59	0.40	0.21
TSH	r	0.17	0.04	-0.30	-0.20	0.00	1.000	-0.08	-0.24	0.58
	P	0.22	0.76	0.03	0.16	0.99		0.63	0.09	0.00
T3	r	0.02	0.09	0.04	0.02	-0.09	-0.08	1.000	-0.06	0.07
	P	0.91	0.61	0.82	0.89	0.59	0.63		0.73	0.78
T4	r	0.32	-0.30	0.01	-0.18	0.12	-0.24	-0.06	1.000	0.58
	P	0.02	0.03	0.93	0.19	0.40	0.09	0.73		0.00
Ca^{+2}	r	0.26	-0.02	0.02	-0.49	-0.26	0.58	0.07	0.58	1.000
	P	0.22	0.92	0.92	0.01	0.21	0.00	0.78	0.00	

5. TARTIŞMA

İnfertilite kısırılık olarak bilinen ve dünyada üreme çağındaki evli çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen ciddi bir sorundur. Tubal tıkanıklık, erken menopoz, polikistik over sendromu, ovulasyon düzensizliği gibi çeşitli sebepler kadınlarda görülen infertilitenin nedeni olabilir. Son yıllarda, yapılan çalışmalar ve gelişen üremeye yardımcı tedavi yöntemleri infertil çiftlere çocuk sahibi olma konusunda umut kaynağı olmuştur. Kadının yaşı, süperovulasyon sürecine verdiği cevap, oosit ve embriyo kalitesi üremeye yardımcı tedavide başarıyı etkileyen en önemli faktörlerdir.⁵³

Kadın yaşı ise ÜYTE'de sonucu etkileyen en önemli etkendir.⁵⁴ Kadınlarda doğurganlık 30 yaşından sonra azalır; bu yavaşlama 35 - 40 yaşları arasında hızlanırken 45 yaşında doğurganlık neredeyse sifıra yaklaşmaktadır.^{55, 56} Oosit yaşı ve embriyo kalitesi implantasyon potansiyelini etkileyen önemli faktörlerdir. Bu potansiyel 30'lu yaşlarda azalmaya başlamakta ve 40 yaşından sonra ise hızlı bir düşüş göstermektedir.⁵⁷ Artan yaş ile birlikte doğurganlığın, endometriyal alıcılığın ve oosit kalitesinin azaldığı, kromozom anomalileri, döllenme veya erken embriyo gelişim kusurlarının ise arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.⁵⁸

Ancak yapılan bazı çalışmalar ise IVF-ET uygulamalarının 35 yaş altı ve 40 yaş üstü kadınlarda benzer fertilizasyon oranlarının olduğunu göstermiştir ve yaşlanma sürecinin oositlerin döllenme potansiyelini etkilemediği savunulmuştur.⁵⁹ Yaptığımız çalışmada 35 yaş altı ve 35 yaş üstü hastalarda implantasyon başarı oranlarını serum Beta-HCG seviyelerini ölçerek değerlendirdik ve iki grup arasında implantasyon başarısı açısından bir fark olmadığını tespit ettik ve oosit yaşı ile embriyo implantasyon başarısı arasında bir ilişki olmadığı sonucuna vardık.

Dişi fertilitesi olgun oosit üretebilen fonksiyonel bir over ile doğrudan ilişkilidir. Fonksiyonel over bileşenleri ise oositi saran granüloza hücreleri ile teka hücrelerini

kapsamaktadır. Olgun folikül ise içindeki oositi saran hücrelerin ürettiği hormonlara bağlıdır. Bu hormonlar ve foliküler hücrelerden üretilen çeşitli olgunlaşma ve büyüme faktörlerinin hücre büyüme ve farklılaşmasında önemli rolleri vardır.⁵³ Olgun bir oositin gelişimi uzun bir süreçtir. Oositin olgunlaşması ile antral folikülde oositi çevreleyen granüloza hücreleri arasında karmaşık bir etkileşim gerçekleşir. Çeşitli endokrin, parakrin ve otokrin faktörler over folikül gelişimini ve ovulasyonu düzenler.⁶⁰

Granüloza hücrelerinin gelişiminde ve steroidojenik aktivitenin devamlılığında birçok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörler içerisinde FSH ve LH en çok araştırılan hormonlardır.⁶¹⁻⁶³ Over hormonları olarak bilinen FSH ve LH seviyelerinin oosit olgunlaşma sürecini başlattığı, oosit gelişimine katkı sağladığı ve döllenme olasılığını arttırdıkları bilinmektedir.⁶⁴ Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda da elde ettiğimiz analiz sonuçlarına göre FSH ve LH seviyeleri arasında önemli bir korelasyon vardı.

Buna ek olarak TSH hormonları da infertilite tedavisi gören kadınlarda rutin olarak takip edilmektedir. Tiroid hastalıklarının üreme çağındaki kadınlarda erkeklere oranla 4-5 kat daha fazla olduğu bilinmektedir.⁵⁸ Tiroid işlev bozukluğunun fertilizasyon işlev bozukluğu ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Tirotropin ve tiroid hormon reseptörleri insan granüloza hücrelerinde gösterilmiş ve hem T3 hem T4 foliküler sıvıda da tespit edilmiştir. Tiroid hormonlarının fertilizasyon bozukluğuyla ilişki olduğunu gösteren çalışmalarda mevcuttur.⁵⁹ Biz de granüloza hücre sitoplazma alanı ile serum T4 seviyeleri arasındaki korelasyon analizi sonucunda bu iki parametre arasında negatif yönde bir ilişki olduğunu tespit ettik. TSH seviyelerini yükseldiği hipotiroidi durumlarında ise TSH'nın granüloza hücreleri ve teka hücreleri gibi over dokuları üzerine etki edebileceği De Silva ve ark.⁶⁵ tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmalara ithafen çalışmamızda granüloza hücre sitoplazması ile T4 arasındaki bu negatif korelasyonun olduğu ve literatürde TSH seviyeleri ile T4 arasındaki ters

işleyişin etkili olduğunu düşünmekteyiz. TSH seviyelerindeki artışın fertilizasyonu olumsuz etkilediği ve serum T4 seviyesinin granüloza hücre sitoplazması ile ters ilişkinin fertilitiyi dolaylı olarak etkilediğini düşündürmektedir.

Foliküler büyümede rol alan faktörler arasında FSH'nın yanı sıra, epidermal büyüme faktörleri, insülin benzeri büyüme faktörleri ile Ca^{+2} iyonlarının etkisi vardır.⁶⁶ Foliküler granüloza hücrelerinin canlılığı oosit gelişimi için önemlidir. Oosit ve granüloza hücreleri metabolik bir birliktelik oluşturur. Böylece iyonlar, aminoasitler ve küçük moleküller karşılıklı hareket ederler. Granüloza hücreleri ile çevrili olan oositler metabolik olarak daha aktiftirler. Granüloza hücreleri oositin metabolizma ve büyümesinin devamlığını sağlar, oositin gelişim ve olgunlaşması için faydalıdır. Oosit sitoplazmik maturasyonunu destekler.⁶⁷ Bunu hem kendi aralarındaki hem de oositle aralarındaki yaygın gap junctionlar aracılığı ile yaparlar.⁶⁸ Granüloza hücreleri; fertilizasyon da⁶⁷ sperm penetrasyon ve kapasitasyonunda⁶⁹ ve oositi oksidatif stresin indüklediği apoptozisten koruma gibi önemli görevleri vardır.⁷⁰ Granüloza hücrelerinde apoptozisin artması yaşla beraber hücre içine voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} girişi ile oluşur ve sonuç olarak oosit kalitesinde ve dolayısıyla doğurganlıkta azalma meydana gelir.⁶⁷ Yaptığımız çalışmada granüloza hücre sitoplazma ve çekirdek alan ölçümleri ile Ca^{+2} arasında doğrudan bir ilişki yoktu. Ancak serum T4 seviyesi ile Ca^{+2} değerleri arasında doğrusal korelasyon, serum FSH değeri ile Ca^{+2} değeri arasında da negatif yönde bir korelasyon olduğu görüldü. Serum T4 seviyesinin granüloza hücre sitoplazma ve çekirdek alan değeri ile aralarındaki negatif korelasyonun yüksek ya da düşük seviyeli TSH ile bağlantılı olduğunu, serum T4 ve Ca^{+2} değerinin doğrusal korelasyonundan granüloza hücresi sitoplazma ve çekirdek alanı arasında dolaylı bir etki olduğu ve fertilitiyi etkilediğini düşündük. Aynı zamanda serum FSH ile Ca^{+2} arasındaki negatif korelasyonun foliküler büyümede FSH 'nın pozitif etkisinin yanı sıra

Ca⁺² iyonlarının negatif yönde bir etkisinin olduğunu düşündü. Yüksek FSH değerinin düşük konsantrasyonlu Ca⁺² ile bunun aksi durumda da foliküler gelişimin etkilendiğini düşündük.

Granüloza hücre fizyolojisi inekler başta olmak üzere birçok türde incelenmiştir.^{62, 72-74} Ancak tarafımızdan yapılan literatür incelemelerinde daha önce insan granüloza hücreleri üzerinde çalışılmış olmasına rağmen granüloza hücrelerinde morfolometrik ölçüm ve analizler yapılmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma granüloza hücre sitoplazma ve çekirdek alanı ölçümleri ile yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Bu çalışmanın granüloza hücreleri ile fertilizasyon konusunda yapılacak yeni çalışmalara örnek teşkil edeceği ümit edilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnfertilite ve buna neden olan faktörlerin hala tam olarak aydınlatılmamış olması bu konuya olan ilgiyi artırmıştır.

Çalışmamızda, oosit çevresini saran ve oosit gelişiminde etkili olduğu bilinen granüloza hücreleri morfometrik olarak incelenmiş ve çeşitli parametrelerle karşılaştırılmıştır. Granüloza hücre gelişiminde ve steroidojenik aktivitenin devamlılığında birçok faktörün rol oynadığı bu faktörler içerisinde FSH ve LH'nin en çok araştırılan hormonlar olduğu bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada FSH ve LH'nin birbirleriyle olan doğrusal korelasyonu bu konuya doğru yaklaşım gösterdiğimizi vurgulamaktadır.

Ayrıca, tiroid hastalıklarının üreme çağındaki kadınlarda daha fazla olduğu, TSH'nin granüloza hücreleri ve teka hücreleri gibi over dokuları üzerine etki edebileceği çalışmalarla gösterilmiştir. Tiroid hormon seviyelerindeki değişimin fertilitiyi etkilediği bilinmekte olup çalışmamızda da granüloza hücre sitoplazma ve çekirdek alan değerleri ile T4 arasındaki negatif korelasyonun ve bunun yanı sıra foliküler büyümede rol alan faktörlerden biri olan Ca^{+2} iyonunda serum T4 ile olan doğrusal korelasyonun fertilitiyi doğrudan etkileyebileceğini düşünmekteyiz.

Granüloza hücrelerinin morfometrik incelenmelerinin biyokimyasal veriler ile yapılan karşılaştırılmalarında, hormonal değerlerin fertilitiyeye olan ilişkilerinin gösterimi konusuna bir nebze olsa ışık tutacağı kanaatindeyiz.

Daha fazla olgu sayısı ile insan granüloza hücrelerinin ince yapısına dair yapılan ultrastrüktürel çalışmalar ile granüloza hücrelerinin, tiroid hormonları, Ca^{+2} iyonları ve fertilitiyeye olan bağlantısını kavrama konusuna katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

İnfertilite tedavisinde hasta biyokimya verilerinde T4 seviyesi ile Ca^{+2} değerinin oosit kalitesini etkilediği ve bu değerlerin tedavide dikkate alınmasını, Ca^{+2} değerinin

değişiminin hücre sitoplazma ve çekirdek alanını etkilemesi ile hücrede apoptoza neden olabileceği ve ayrıca bu artış T4 seviyesini artıracığı için fertilitiyi etkileyeceğinden, bu değerlerin takip edilmesi ve değerlerin birbirleriyle olan etkileşimine göre bir tedavi uygulanmasını önermekteyiz. Ayrıca T4 ile Ca^{+2} arasındaki ilişkinin takip edilmesi olgun ve kaliteli oosit gelişimine de katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

1. Kişnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Öneroğlu LS. *Erkeğe bağlı infertilite, Androloji. Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*, 3. Baskı. Ankara, Güneş, 1996:119.
2. Karaca A, Ünsal G. The effects of infertility on women's mental health and role of psychiatric nursing. *J Psy Nurs*, 2012, 32:80-82.
3. Hassa H. *İnfertil olgulara klinik yaklaşım ve IVF laboratuvar uygulamaları*, 1. Baskı. Eskişehir, Osmangazi Üniversitesi Yayınları, 2003:418.
4. Kuş C. *İnfertilite Durumunda Kadınların Yaşam Kalitesi ve Algıladıkları Sosyal Desteğin Belirlenmesi*. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hemşirelik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2008.
5. Artar G. *Tüp Bebek Başarısızlıklarında Klinik Etmenler*. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Kadın Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2009.
6. Kişnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Öneroğlu LS. *Erkeğe bağlı infertilite, Androloji. Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*, 3. Baskı. Ankara, Güneş, 1996:1760.
7. Shoham Z, Di Carlo C, Patel A, Conway GS, Jacobs HS. Is it possible to run a successful ovulation induction program based solely on ultrasound monitoring? The importance of endometrial of endometrial measurements. *Fertil Steril*, 1991, 56:836-841.
8. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Solues MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 181:952- 957.
9. Speroff L, Glass N. H. Kase R.G. *Clinical gynaecologic endocrinology and*

infertility. 7th ed. USA, 2007:84.

10. Kargın M. İnfertil Bireylerde Umutsuzluğun Belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hemşirelik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara:Gazi Üniversitesi, 2009.
11. Teskereci G. İnfertilite Tedavisi Gören Çiftlerde Yaşam Tarzının, Yaşam Kalitesine Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Kadın Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Antalya: Akdeniz Üniversitesi, 2010.
12. Hassa H. *İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları*, 1. Baskı. Eskişehir, Osmangazi Üniversitesi Yayınları, 2003:418.
13. Aktürk F.S. Türk Toplumunun Yardımcı Üreme Tekniklerine Bakışı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyon: Kocatepe Üniversitesi, 2006.
14. Kırca N, Pasinlioğlu T. İnfertilite Tedavisinde Karşılaşılan Psikososyal Sorunlar. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar, *Current Approaches in Psychiatry*, 2013, 2:162-178.
15. Algül T. Tüp Bebek Merkezinde 1999-2008 Yılları Arasında İn Vitro Fertilizasyon/ İntrastoplazmik Sperm İnjesiyonu Uygulanan Sikluslarda Mevsimsel Değişkenliğin Etkisinin Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Kadın Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, 2010.
16. Aktürk F.S. Türk Toplumunun Yardımcı Üreme Tekniklerine Bakışı. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hemşirelik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Afyon: Kocatepe Üniversitesi, 2006.
17. Motta PM, Makabe S, Nottola SA. The ultrastructure of human reproduction. I. The natural history of the female germ cell: origin, migration and differentiation inside the developing ovary. *Hum Reprod Update*, 1997, 3:281-295.
18. Sadler TW. *Ürogenital Sistem in Langman's Medikal Embriyoloji*, 6th ed. Baltimor,

- Williams & Wilkins, 1990:246.
19. Carlson BM. *Human Embryology and Developmental Biology*. 5th ed. Philadelphia, Elsevier, 2014:21.
 20. Schoenwolf C, Bleyl B, Brauer R. *Larsen's Human Embryology*. 4th ed. Newyork, Elsevier , 2009:20.
 21. Anwar A, Moussa MD. In vitro maturation of oocytes. <http://www.obgyn.net/ivf/vitro-maturation-oocytes>. 8 Ekim 2011.
 22. Abraham LK, Tres L. *Histology and Pathology*. 4th ed. Newyork, Elsevier, 2015: 668.
 23. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF: Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: Implications for forecasting menopause. *Human Reprod*, 1992, 7:1339-1342.
 24. Piette C, de Mouzon J, Bachelot A, Spira A: In-vitro fertilization: influence of women's age on pregnancy rates. *Human Reprod*, 1990, 5:50-56.
 25. Parrot JA, Skinner MK. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiate folliculogenesis. *Endocrinology*, 1990, 140:42-62.
 26. Lee W, Otsuka F, Moore RK, Shimasaki S. The effect of bone morphogenetic protein7 on folliculogenesis and ovulation in the rat. *Biol Reprod*, 2001, 65:994.
 27. Xiao CW, Asselin E, Tsang BK. Nuclear factor B-mediated induction of Flice-like inhibitory protein prevents tumor necrosis factor -induced apoptosis in rat granulosa cells. *Biol Reprod*, 2002, 67:436-441.
 28. Findlay JK, Drummond AE, Dyson ML, Baillie AJ, Robertson DM, Ethier JF. Recruitment and development of the follicle; the roles of the transforming growth factor-beta superfamily. *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 191:35-43.
 29. Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor

- gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:37-48-51.
30. Fortune JE, Cushman RA, Wahl CM, Kito S. The primordial to primary follicle transition. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 163:53-60.
31. Teixeira Filho FL, Baracat EC, Lee TH, Suh CS, Matsui M, Chang RJ. Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87:13-37-44.
32. Erickson GF, Shimasaki S. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertil Steril*, 2001, 76:943-949.
33. Eppig JJ. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, 2001, 122:29-38.
34. Erickson GF: The graafian follicle: A functional definition. In: Adashi EY(ed) *Ovulation: Evolving Scientific and Clinical Concepts*, 2nd ed. New York, Springer-Verlaag, 2000, 31:235.
35. Çolgar U. Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite 1. Baskı. İstanbul, Medikal yayıncılık, 2006:
- 10.
36. McGee EA, Hsueh AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev*, 2000, 21:20-14.
37. Sperof L, Glass R.H. *Endocrinology and Infertility*. 6th ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 1999:487.
38. Hardy K, Wright CS, Franks S, Winston RM. In vitro maturation of oocytes. *Br Med Bull*, 2000, 56:588-602.
39. Michael H Ross, Edward J Reith, Lynn J Romrell. Female reproductive system. *histology: A text and Atlas*. 2nd ed. USA, Williams&Wilkins, 1989:649.

40. Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev*, 2000, 80:1-29.
41. Hutt KJ, Albertini DF. An oocentric view of folliculogenesis and embryogenesis. *Reprod Biomed Online*, 2007, 14:758-764.
42. Tomanek M, Chronowska E. Immunohistochemical localization of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in the pig ovary. *Folia Histochem Cytobiol*, 2006, 44:269-274.
43. Emery BR, Miller RL, Carrell DT. Hamster oocyte membrane potential and ion permeability vary with preantral cumulus cell attachment and developmental stage. *BMC Dev Biol*, 2001, 1:14.
44. Antczak M. The synthetic and secretory behaviors (nonsteroidal) of ovarian follicular granulosa cells: Parallels to cells of the endothelial cell lineage. In: Jonathan VB, Linda G (eds). *Essential IVF Basic Research and Clinical Applications*. 1th ed. London, Kluwer Academic Publishers, 2004:628.
45. Conti M, Hsieh M, Park JY, Su YQ. Role of the epidermal growth factor network in ovarian follicles. *Mol Endocrinol*, 2006, 20:715-723.
46. Park JY, Su YQ, Ariga M, Law E, Jin SL, Conti M. EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science*, 2004, 303:682-684.
47. Jammongjit M, Gill A, Hammes SR. Epidermal growth factor receptor signaling is required for normal ovarian steroidogenesis and oocyte maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102:16257-16262.
48. Shimada M, Hernandez-Gonzalez I, Gonzalez-Robayna I, Richards JS. Paracrine and autocrine regulation of epidermal growth factor-like factors in cumulus oocyte complexes and granulosa cells: key roles for prostaglandin synthase 2 and

- progesterone receptor. *Mol Endocrinol*, 2006, 20:1352-1365.
49. Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res*, 2000, 45:528-537.
50. Salustri A, Ulisse S, Yanagishita M, Hascall VC. Hyaluronic acid synthesis by mural granulosa cells and cumulus cells in vitro is selectively stimulated by a factor produced by oocytes and by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem*, 1990, 265:19517-19523.
51. Zhuo L, Kimata K. Cumulus oophorus extracellular matrix: its construction and regulation. *Cell Struct Funct*, 2001, 26:189-196.
52. Prochazka R, Kalab P, Nagyova E. Epidermal growth factor-receptor tyrosine kinase activity regulates expansion of porcine oocyte-cumulus cell complexes in vitro. *Biol Reprod*, 2003, 68:797-803.
53. Lindeberg M. Molecular and morphological studies of folliculogenesis, oocyte maturation and embryogenesis in humans. Krolinska Institutet, Doctora degree, Stockholm:2008.
54. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment. *Lancet*. 1996, 348(9039):1402-1406.
55. Menken J, Trussell J, Larsen U. Age and infertility. *Science*. 1986, 233:1389-1394.
56. Adonakis G, Camus M, Joris H, Vandervorst M, Van Steirteghem A, Devroey P. The role of the number of replaced embryos on intracytoplasmic sperm injection outcome in women over the age of 40. *Human Reprod*. 1997, 12:2542-2545.
57. Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1996, 65:783-790.

58. Szamatowicz M, Grochowski D. Fertility and infertility in aging women. *Gynecol Endocrinol.* 1998, 12:407-413.
59. Lim AS, Tsakok MF. Age-related decline in fertility: a link to degenerative oocytes? *Fertil Steril.* 1997, 68:265-271.
60. Roche JF. Control and regulation of folliculogenesis--a symposium in perspective. *Rev Reprod.* 1996, 1:19-27.
61. Chandras C, Harris TE, Bernal AL, Abayasekara DR, Michael AE. PTGER1 and PTGER2 receptors mediate regulation of progesterone synthesis and type 1 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity by prostaglandin E2 in human granulosa lutein cells. *J Endocrinol.* 2007, 194:595-602.
62. Greisen S, Ledet T, Ovesen P. Effects of androstenedione, insulin and luteinizing hormone on steroidogenesis in human granulosa luteal cells. *Hum Reprod.* 2001, 16:2061-2065.
63. Johnson ML, Redmer DA, Reynolds LP, Bilski JJ, Grazul-Bilska AT. Gap junctional intercellular communication of bovine granulosa and thecal cells from antral follicles: effects of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone. *Endocrine.* 2002, 18:261-270.
64. Revelli A, Delle Piane L, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009, 7:40.
65. De Silva M, Pearl AW, Butler WJ. Thyroid stimulating hormone causes cumulus expansion in mouse oocytes. *Theriogenology.* 1994, 41:899-905.
66. Gürsoy E, Ergin K. Dişi Üreme Sistemi Atlası, 3. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007:978.
67. Tanghe S, Van Soom, A, Nauwynck H, Coryn M, de Kruif A. Minireview:

- Functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation, and fertilization. *Mol Reprod Dev*, 2002, 61:414-424.
68. Furger C, Cronier, L, Poirot C, Pouchelet M. Human granulosa cells in culture exhibit functional cyclic AMP-regulated gap junctions. *Mol Hum Reprod*, 1996, 2: 541-548.
69. Eisenbach M. Sperm chemotaxis. *Rev Reprod*, 1999, 4:56-66.
70. Tatemoto H, Sakurai, N, Muto, N. Protection of porcine oocytes against apoptotic cell death caused by oxidative stress during In vitro maturation: role of cumulus cells. *Biol Reprod*, 2000, 63:805-810.
71. May JV, Schomberg DW. Granulosa cell differentiation in vitro: effect of insulin on growth and functional integrity. *Biol Reprod*, 1981, 25:421-431.
72. Benhaim A, Feral C, Langris M, Bocquet J, Leymarie P. Progesterone secretion and proliferation in cultured rabbit granulosa cells under conditions of beta-D-xyloside-induced inhibition of proteoglycan synthesis. *Biol Reprod*, 1995, 52:939-946.
73. Breard E, Delarue B, Benhaim A, Feral C, Leymarie P. Inhibition by gonadotropins of interleukin-1 production by rabbit granulosa and theca cells: effects on gonadotropin-induced progesterone production. *Eur J Endocrinol*, 1998, 138:328-336.
74. Tosca L, Froment P, Solnais P, Ferre P, Foufelle F, Dupont J. Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase regulates progesterone secretion in rat granulosa cells. *Endocrinology*, 2005, 146:4500-4513.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Tuba Nur KARABIYIK
Doğum tarihi:	29.11.1987
Doğum Yeri:	Erzurum
Medeni Hali:	Bekar
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel:	0506 177 4842
Faks:	-
E-mail:	tbnr.scl@gmail.com
Eğitim	
Lise:	Ziya Gökalp Lisesi (2004)
Lisans:	Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi (2008-20012)
Yüksek Lisans:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (2013-2017)
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	-
Almanca:	-
Rusça:	-
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
	-
İlgi Alanları ve Hobiler	
	Kitap Okumak

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/L
Konu : Etik Kurul Kararı

23.02.2017

Sayın: Tuba Nur KARABIYIK
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Öğrencisi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz "**İnfertilite Sebebiyle Tüp Bebek Ünitesine Başvuran Hastaların Oositlerini Çevreleyen Granüloza Hücrelerinin Morfometrik Analiz Sonuçları ile Fertilizasyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi**" isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için **Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan** izin alınması gerekmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Tuba Nur KARABIYIK	
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI	İnfertilite Sebebiyle Tüp Bebek Ünitesine Başvuran Hastaların Oositlerini Çevreleyen Granüloza Hücrelerinin Morfometrik Analiz Sonuçları ile Fertilizasyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi	
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 1 Karar No: 37	Tarih: 23.02.2017
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin kendisi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Zeynep ÇAKIR
Etik Kurul Başkanı

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Üye

Prof.Dr.Hamıdullah UYANIK
Üye

Prof.Dr.Zekai HALICI
Üye

Yrd.Doç.Dr.İlker İNCE
Üye

Yrd.Doç.Dr.Binali FIRINCI
Üye

Yrd.Doç.Dr.Zahide KOŞAN
Üye

Emrah MELETLİOĞLU
Üye