

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

**WİSTAR ALBİNO SIÇANLARDA GRANULOSİT KOLONİ STİMULE  
EDİCİ FAKTÖRÜN ENDOMETRİYUM KALINLIĞINA ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DR. SADUN SUCU**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF. DR. ÜLKÜ ÖZMEN**

**ZONGULDAK**

**2017**

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

**WİSTAR ALBİNO SIÇANLARDA GRANULOSİT KOLONİ STİMULE  
EDİCİ FAKTÖRÜN ENDOMETRİYUM KALINLIĞINA ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DR. SADUN SUCU**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF. DR. ÜLKÜ ÖZMEN**

**ZONGULDAK**

**2017**

## TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı :Wistor Albino Ratlarda Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktörün Endometrium Kalınlığına Etkisinin Araştırılması

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Sadun SUCU

Tez Savunma Tarihi : 18/08/2017

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Ülkü ÖZMEN

Prof.Dr. Ülkü ÖZMEN  
Jüri Başkanı



Prof.Dr. Ömer Erbil DOĞAN  
Üye



Doç.Dr. Aykut BARUT  
Üye

UYGUNDUR



Prof. Dr. Ali BORAZAN  
Dekan

## ÖNSÖZ

Bir sağlık kuruluşunun poliklinik hizmetinden, yataklı servis hizmetine, ameliyathanesinden sosyal programlarına kadar tüm organları ile birlikte sevk ve idaresinde bana katmış olduğu bilgi birikimi için; gerçekleştirilen ameliyatlarda, müdahalelerde acil durumların yönetimine yönelik verdiği cesaret için; bir hastanın değerlendirilmesinde ve tedavisinin planlanmasında kusursuzluğun ehemmiyetini gösterdiği için; yara bakımı konusunda bana kattıkları; cerrahi prosedürlerde yeteneğin gelişmesindeki tabiri ile “elimizi kırdığı” için ve sayesinde elimdeki neşter her daim keskin kalacağı için kliniğimizin bağdaştırıcı ve bütünleştiricisi, yüreği cüssesinde büyük değerli hocam Prof. Dr. Mehmet İbrahim Harma’ya minnettirim.

Her bir öğrencisini kendi ailesinden biri olarak gören ve yeri geldiği zaman kendisini dahi ihmal ederek öğretme aşkı ve şevki içerisinde olan, sabah erken saatlerde gelerek birebir vaka yaptırان, gösteren, vajinal histerektomi, endometriozis cerrahisi başta olmak üzere birçok cerrahi tekniği sabırla ve sevgiyle bana anlatan, hasta olduğumda bir anne şefkati ile yaklaşan, hastaları ile ilişkisini her daim örnek aldığım, kusursuz riskli gebelik yönetiminden, kusursuz malignite cerrahisine kadar bir çok yaklaşımı sayesinde izlemleyebildiğim sevgimi ve saygımı dile getirmekte kelimelerin yetersiz kaldığı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Müge Harma’ya şükranlarımı ve minnetimi sunarım.

Tarifi mümkün olmayan cerrahi yeteneğini her ameliyatta hayranlıkla izlediğim ve her izleyişimde tekrar hayran kaldığım, dinamizmi, enerjisi, iletişimi ve güzelliği ile etrafındaki herkese ilham kaynağı olan, laparoskopik ve histeroskopik cerrahi prosedürlerde bana katmış olduklarından dolayı kendimi izahı mümkün olmayacak şekilde gönül borcu içerisinde hissettiğim, minimal invaziv cerrahi teknikleri ile birlikte hastalarıyla olan ilişkisini birebir örnek aldığım, tarafımca görüş bildirilmesini dahi ukalalık olarak tanımlayabileceğim tıbbi muhteviyatının yanında, akademik duruşu, öğrenci eğitimi, insan ilişkileri ve hayata dair görüşleri ile her zaman kendime yol gösterici olmasını dilediğim kendisi kadar kalbi de güzel sevgili hocam Prof. Dr. Ülkü Özmen’e hayranlığımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Perinatolojik - jinekolojik değerlendirmesi ve teorik bilgisi ile bana katmış olduklarının yanında, ileride icra edeceğim mesleğin tüm adli ve bürokratik işlemlerini sayesinde öğrendiğim, babacan ve sabırlı tavrı ile her daim yanında bana yer vermiş olan, neşesi ve mizahi duygusu ile sancılı eğitim öğretim hayatımın

tebessümü olduğu kadar, hasta değerlendirmesindeki ciddiyetini kendime referans olarak belirlemeye çalıştığım, her türlü derdimizin dinleyicisi, zmleyicisi, yol göstericisi kıymetli hocam Doç. Dr. Aykut Barut ve bu tezin yapımında önemli bir paya sahip kıymetli hocam Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı ğretim yesi Prof. Dr. Fiğen Barut'a minnettarlığımı sunarım.

Komplikasyonların minimize edilmesi ve ultrasonografik değerlendirme konusunda bana katmış oldukları için, literatürel bilgi araştırmasına yönelik bana olan teşviki için, tesadüfe ve şansa hiçbir tıbbi işlemin bırakılmaması gerekliliğini tavır ve tutumundan rneklediğim Doç. Dr. İnan İlker Arıkan'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık dönemimin son zamanlarında bilgisi ile bana katkı sağlamış olan Yrd. Doç. Dr. Abdl Hamid Güler'e, bu tezin yapımında katkısı yadsınamaz olan Yrd. Doç. Dr. Frzan Ktrk'e tüm yan dal asistanlığı boyunca bana kazandırdıkları için Uzm. Dr. Anıl Turhan akır'a, bilgi birikimlerini bana aktaran Uzm. Dr. Grker Sel ve Uzm. Dr. Oğuz zdemir'e ve kliniğe benden sonra gelmiş olan, çalışmaktan büyük keyif aldığım ve tüm bildiklerimi kendilerine aktarmaya çalıştığım kıymetli asistan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Benim bugüne ulaşmamı sağlayan ve beni çok seven, "zor" un olmadığını "imkansızın" bahane olduğunu öğreten, tüm değer yargılarımı kendisinden aldığım sevgili babam Metin Sucu'ya; aile mefhumunun ne demek olduğunu kendisinde gördüğüm ve öğrendiğim, mevcut karakterimdeki her duygusal zerrenin kendisinin ışığının bir yansıması olan sevgili annem Gönül Sucu'ya ve benden 3 yıl sonra aileye katılıp pabucumu dama atarak bendeki çalışma azmini körükleyen, hayatın çok da ciddiye alınacak bir şey olmadığını öğreten sevgili kardeşim Bahri Sucu' ya, her daim yanımda olan ve ne olursa olsun, nasıl olursa olsun yanımda olmasını dilediğim Serap Topkaraya var oldukları için teşekkürler.

**Sadun SUCU**  
**ZONGULDAK, 2017**

## ÖZET

**Sucu S., Wistar Albino Sıçanlarda Granulosit Koloni Stimule Edici Faktörün Endometriyum Kalınlığına Etkisinin Araştırılması, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Tezi, Zonguldak, 2017.**

İnfertilitenin, çiftleri etkileyen birçok yönü ve sebebi vardır. Başarılı bir tedavi rejimi oluşturmak için, bu sebepler ortaya konmalı ve uygun tedavi protokolleri geliştirilmelidir. Çalışmamızda, ince endometriyuma sahip infertil çiftlerin tedavi rejimleri için kullanılabilir olan G-CSF'nin etkinliğini araştırmayı ve G-CSF'nin muhtemel yan etki potansiyelini ortaya koymayı amaçladık.

Hayvan modeli olarak oluşturduğumuz çalışmamızda, 50 adet rat, beş gruba ayırarak, alkol ile inceltirilmiş endometriyum üzerinde ve normal endometriyum üzerinde G-CSF'nin etkisini araştırdık. Bu araştırmanın yanında, uygulanan doz ve sürede G-CSF'nin yan etki potansiyelini ortaya koymaya çalıştık. Endometriyum ve uterus kalınlık ölçümleri tarafsız patolog tarafından semikantitatif olarak gerçekleştirildi. Her bir rat grubu içerisinde, parametrelerin birbiri ile olan ilişkisini ortaya koymak için korelasyon analizi yapıldı.

Uygulanan doz ve sürede G-CSF, endometrium yüzey epitel kalınlığını arttırmıştır. Uterus kalınlığı ve endometriyum kalınlığına etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Uygulanan tedavi süresinde ve dozunda G-CSF'nin nötrofil ve lökositler üzerinde beklenenin aksine negatif bir etkisinin olduğu ortaya konulmuştur.

İnfertil çiftlerin tedavisinde uygulanabilecek G-CSF tedavi protokolü için daha çok kontrollü çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimer:** İnfertilite, G-CSF, Endometriyum, Sıçan,

## SUMMARY

**Sucu S., Investigation of the Effect of Granulocyte Colony-Stimulating Factor to Endometrium Thickness in Wistar Albino Rat, Bülent Ecevit University Faculty of Medicine Obstetrics and Gynecology Department of the Thesis. Zonguldak 2017.**

Infertility has many aspects and causes that affect couples. In order to establish a successful treatment regimen, these reasons should be determined and appropriate treatment protocols developed. In our study, we aimed to investigate the efficacy of G-CSF, which could be used for treatment regimens of infertile couples with thin endometrium and to demonstrate G-CSF's side-effect potentials.

In our study as an animal model, by dividing 50 rats to 5 groups, we studied the effect of G-CSF on thin endometrium developed by using alcohol and normal endometrium. Besides this study, we tried to reveal the potential side effects of G-CSF at the dose and duration. Endometrium and uterine thickness measurements were performed semiquantitatively by a neutral pathologist. Within each group of rats, we performed a correlation analysis to show the relationship of the parameters to each other.

G-CSF increased endometrium surface epithelium thickness at the dose and duration. It has been determined that there is no effect on uterine thickness and endometrium thickness. It has been demonstrated that G-CSF has a negative effect on neutrophil and leukocyte as opposed to anticipated.

More controlled studies are needed for the G-CSF treatment protocol that can be applied in the treatment of infertile couples.

**Keywords:** Infertility, G-CSF, Endometrium, Rat

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ .....	iii
ÖZET.....	v
SUMMARY .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR .....	x
TABLO DİZİNİ .....	xi
GRAFİKLER DİZİNİ .....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 Kadın İnfertilitesi .....	4
2.1.1 Kadın İnfertilitesi Nedenleri .....	5
2.1.1.1 Ovulatuvar Bozukluklar .....	5
2.1.1.2 Tubal Anormallikler ve Pelvik Adezyonlar .....	6
2.1.1.3 Uterus Leiomyom .....	6
2.1.1.4 Uterin Anomaliler .....	7
2.1.1.5 Luteal Faz Defekti.....	7
2.1.1.6 Endometriozis .....	7
2.1.1.7 Servikal Faktor .....	7
2.1.1.8 Kalıtsal Trombofili.....	8
2.1.1.9 İmmün Faktörler.....	8
2.1.1.10 Genetik Faktörler .....	8
2.1.2 İnfertilitede Yapılan Tetkikler .....	8
2.1.2.1 Ovulatuvar Disfonksiyon .....	9
2.1.2.1.1 Serum Midluteal Progesteron .....	9
2.1.2.1.2 Ovulasyon Belirleyici Kitler .....	10
2.1.2.1.3 Overyan Rezerv .....	10
2.1.2.1.4 Overyan Sonografi .....	12
2.1.2.1.5 Bazal Vücut Isısı Çizelgesi.....	12
2.1.2.1.6 Endometrial Biyopsi .....	12
2.1.2.2 Tubal ve Pelvik Faktörler.....	13
2.1.2.2.1 Histerosalpingografi .....	13



2.1.2.2.2 Kromopertübasyonlu Laparoskopi .....	15
2.1.2.3 Uterin Faktörler .....	15
2.1.2.3.1 Transvajinal Sonografi .....	15
2.1.2.3.2 Salin-İnfüzyon Sonografi .....	15
2.1.2.3.3 Manyetik Rezonans Görüntüleme .....	16
2.1.2.3.4 Histereskopi .....	17
2.1.2.3.5 Laparoskopi .....	17
2.1.2.4 Servikal Faktör –Postkoital Test .....	18
2.1.2.5 Semen Analizi .....	19
2.1.3 Kadın İnfertilitesinin Tedavisi .....	21
2.1.3.1 Ovulatuvar Disfonksiyon .....	22
2.1.3.2 Tubal Faktör Ve Adhezyonlar .....	25
2.1.3.3 Endometriozis .....	27
2.1.3.4 Uterin Faktör Nedenli İnfertilite .....	28
2.1.3.5 Servikal Faktör Nedenli İnfertilite .....	29
2.1.3.6 Nedeni Açıklanamayan İnfertilite .....	29
2.1.3.7 Kadın İnfertilitesinin Tedavisinin Kontraendikasyonları.....	30
2.2 Kullanılan Deneysel Hayvanı Hakkında Genel Bilgiler .....	30
2.2.1 Ratlarda Davranış .....	31
2.2.2 Çevre ve Vücut Isısı.....	32
2.2.3 Işık .....	32
2.2.4 Barınma.....	33
2.2.5 Beslenme.....	34
2.2.6 Ratlarda Üreme .....	34
2.2.6.1 Cinsiyet Tayini .....	36
2.2.6.2 Pubertas ve Gonadotropinler.....	36
2.2.6.3 Östrus Siklusu .....	37
2.2.6.4 Östrus Siklusu Döneminin Saptanması.....	38
2.2.6.5 Ratlarda Çiftleşme - Reprodüktif Davranış.....	39
2.2.6.6 Doğum.....	40
2.2.6.7 Ratlarda İnfertilite ve Genel İnfertilite Sorunları.....	41
2.2.6.8 Ovariohisterektomi (Kısırlaştırma) .....	41
2.3 Koloni Stimüle Edici Faktörler .....	41
2.3.1 Koloni Stimüle Edici Faktörlerin Özellikleri.....	42

2.3.2 Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör (G-CSF) .....	43
3.GEREÇ VE YÖNTEM .....	44
3.1 Hayvan Deneyi Protokolü .....	44
3.1.1 Deney Grubu 1 (İntaruterin alkol tatbiki ile inceltilmiş endometriyuma sahip ve s.c. G-CSF tedavisi uygulanmış grup).....	45
3.1.2 Deney Grubu 2 (İntrauterin alkol tatbiki ile inceltilmiş endometriyuma sahip ve s.c. serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapılan grup).....	45
3.1.3 Deney Grubu 3 (sadece s.c. G-CSF enjeksiyonu tatbik edilmiş grup) .....	46
3.1.4 Deney Grubu 4 (sadece s.c. SF enjeksiyonu tatbik edilen grup) .....	46
3.1.5 Deney Grubu 5 (hiç bir cerrahi ve medikal işleme tabi tutulmayan kontrol grubu) .....	47
3.2. Ratların Kan Değerlerinin Ölçülmesi Ve Vücut Ağırlıklarının Ölçümü .....	47
3.3 Histopatolojik İnceleme .....	47
3.4 İstatistiksel Analiz .....	48
4. BULGULAR .....	49
4.1 Endometrium Yüzey Epitel Kalınlığı Bulguları.....	49
4.2 Endometrium Kalınlığı Bulguları.....	52
4.3 Uterus Kalınlığı Bulguları .....	53
4.4 Deney Bitiminde Ratların Vücut Ağırlığı Bulguları .....	55
4.5 Deney Bitiminde Ratların Hemoglobın Değeri Bulguları.....	56
4.6 Deney Bitiminde Ratların Trombosit Değeri Bulguları .....	58
4.7 Deney Bitiminde Ratların Beyaz Küre Değeri Bulguları.....	60
4.7 Deney Bitiminde Ratların Nötrofil Değeri Bulguları.....	62
4.8 Korelasyon Analizi Bulguları.....	64
4.8.1 Grup 1- “Alkol+GCSF”- Korelasyon Değerlendirmesi .....	65
4.8.2 Grup 2- “Alkol+SF”- Korelasyon Değerlendirmesi .....	65
4.8.3 Grup 3- “GCSF”- Korelasyon Değerlendirmesi.....	65
4.8.4 Grup 4- “SF”- Korelasyon Değerlendirmesi .....	66
4.8.5 Grup 5- “Kontrol”- Korelasyon Değerlendirmesi .....	66
5. TARTIŞMA .....	72
6. KAYNAKLAR .....	82
7. EKLER.....	99
Ek 1: Etik Kurulu Onayı.....	99

## KISALTMALAR

AMH	: Antimülleryan Hormon
ASA	: Antisperm Antikorlar
CSF	: Koloni Stimule Edici Faktör
EPCAM	: Epitelyal Hücre Adhezyon Molekülü
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
G-CSF	: Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör
GH	: Büyüme Hormonu
GM-CSF	: Granulosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
GNRH	: Gonadotropin Releasing Hormone
HCG	: İnsan Koryonik Gonadotropini
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HSG	: Histerosalpingografi
ICSI	: İntrastoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IUI	: İntra Uterin İnseminasyon
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
İHH	: İdiyopatik Hipotalamik Hipogonadizm
LFD	: Luteal Faz Defekti
LH	: Lüteinizan Hormon
MR	: Manyetik Rezonans
P	: Progesteron
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
RI	: Direnç İndeksi
SERM	: Seçici Östrojen Receptör Modülatorü
SF	: Serum Fizyolojik
SİS	: Salin-İnfüzyon Sonografisi
VEGF	: Vascular Endotelyal Growth Faktor
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri

## TABLO DİZİNİ

### Sayfa

Tablo 1: Dünya Sağlık Örgütü semen inceleme değerlendirmesi .....	20
Tablo 2: IVF tedavisinin tubal rekonstrüksiyon cerrahisine göre avantaj ve dezavantajları .....	26
Tablo 3: Nedeni açıklanamayan infertilitedeki tedavi yöntemlerinin ortalama siklus fekundabilitesi .....	30
Tablo 4: Ratlardaki kan sayımı normal değerleri.....	35
Tablo 5: CSF'ler ve çeşitleri .....	42
Tablo 6: Endometriyum yüzey epitelyum kalınlıkları aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (mikrometre).....	50
Tablo 7: Rat gruplarının, endometriyum yüzey epitelyum kalınlıklarına göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri .....	52
Tablo 8: Endometriyum kalınlıklarının aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (mikrometre).....	53
Tablo 9: Uterus kalınlıklarının aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (mikrometre).....	53
Tablo 10: Deney bitiminde ratların vücut ağırlıklarının aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (gram).....	55
Tablo 11: Rat gruplarının, vücut ağırlıklarına göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri.....	56
Tablo 12: Deney bitiminde ratların hemogloblin değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (g/dl).....	57
Tablo 13: Rat gruplarının, hemogloblin değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri.....	58
Tablo 14: Deney bitiminde ratların trombosit değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri ..	59
Tablo 15: Rat gruplarının, trombosit değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri.....	60
Tablo 16: Deney bitiminde ratların beyaz küre değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri ...	60

Tablo 17: Rat gruplarının, beyaz küre değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri.....	62
Tablo 18: Deney bitiminde ratların nötrofil değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri ...	63
Tablo 19: Rat gruplarının, nötrofil değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri.....	64
Tablo 20: Grup 1 için korelasyon analizi verileri .....	67
Tablo 21: Grup 2 için korelasyon analizi verileri .....	68
Tablo 22: Grup 3 için korelasyon analizi verileri .....	69
Tablo 23: Grup 4 için korelasyon analizi verileri .....	70
Tablo 24: Grup 5 için korelasyon analizi verileri .....	71

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Grafik 1: Gebe kalan kadınların yüzdelerinin zamanla ilişkisi.....	3
Grafik 2: İnfertilite nedenlerinin dağılımı.....	4
Grafik 3: Kadın infertilitesi nedenleri .....	5
Grafik 4: Gruplara göre endometriyum yüzey epitel kalınlığı aritmetik ortalamarı.....	50
Grafik 5: Gruplara göre çalışma bitiminde gruplardaki ratların ağırlık aritmetik ortalamarı.....	55
Grafik 6: Deney bitiminde rat gruplarının hemoglobin değerlerinin aritmetik ortalaması .....	57
Grafik 7: Deney bitiminde rat gruplarının trombosit değerlerinin aritmetik ortalaması .	59
Grafik 8: Deney bitiminde rat gruplarının beyaz küre değerlerinin aritmetik ortalaması .....	61
Grafik 9: Deney bitiminde rat gruplarının nötrofil değerlerinin aritmetik ortalaması .....	63

## RESİMLER DİZİNİ

### Sayfa

Resim 1: Dişi ratlarda ürogenital sistemin anatomisi .....	35
Resim 2: Ratlarda cinsiyet tayini. 2 haftalık ratlarda cinsiyet tayini .....	36
Resim 3: Ratlarda seksüel siklus dönemlerine göre vaginal sitolojik görünüm .....	39
Resim 4: Çalışma gruplarında kalınlığı ölçülen endometrial yüzey epiteline ait histopatolojik görünümler (H&E) .....	51
Resim 5: Çalışma gruplarının endometriumuna ait histopatolojik görünümler ve kalınlıklar (H&E).....	54
Resim 6: Çalışma gruplarının total uterus kalınlıkları (H&E).....	54



## 1. GİRİŞ

İnfertilite, çiftleri tıbbi, kültürel ve sosyo-ekonomik yönden etkileyen önemli bir sorundur. Bu etkilerinin azaltılması ve başarılı bir tedavi rejimi oluşturulması için infertilitenin nedenleri ortadan kaldırılmalı veya geri dönüşü mümkün olmayan nedenler alternatif yöntemler ile tedavi edilmelidir. Spermatogenezden ve ovulasyondan, sağlıklı ve canlı bir doğuma kadar geçen süre içerisinde birçok etken ve sorun ile karşılaşma riski mevcut iken infertil çiftlerin daha yolun başında karşılaştığı sorun, kendi sağlık sorunlarına ek olarak psikolojik sorunlara da neden olmaktadır. Sağlıklı bir gebelik gelişimi için uygun ovumun sperm ile döllenesinin yanında embriyonun uterin kaviteye ulaşması ve endometriyum içerisine implante olması gerekmektedir. İmplantasyon için endometriyumun sekretuar fazda olması kendi başına yeterli olmayıp, endometriyumun kalınlığının, yüzey antijenlerinin, kan akımının yeterli olması gerekir. İnfertilite tedavisinde son teknoloji olarak uygulanan invitro fertilizasyon tedavisinde dahi endometriyum özellikleri büyük önem arz etmektedir.

İnfertilitenin birçok sebebi olması nedeniyle uygulanacak tedavi rejimleri farklılık gösterir. Bu nedenlerin bir kısmı kolayca düzeltilebilirken bir kısmında ise literatürel bilgi ve tedavi yöntemleri kısıtlıdır. Bu kısıtlılığın en çok hissedildiği hasta grubu ise ince endometriyuma sahip hastalardır. Etiyopatogenezi net olarak aydınlatılmış olan edinilmiş ince endometriyum patolojilerinin yanında etiyopatogenezi hakkında net bir fikire sahip olmadığımız endometriyum patolojilerine yönelik tedavi rejimlerini oluşturmak ve uygulamak, infertil çiftler ve klinisyenler için zorlayıcı bir süreçtir.

İnce endometriyumun tedavisinde sildenafil sitrat, asetil salisilik asit, E vitamini gibi birçok ajan kullanılmış ve bir kısmında çeşitli derecelerde fayda sağladıkları görülmüştür. Bu tedavi rejimlerinin yanında koloni stimüle edici faktörlerin de ince endometriyum tedavisi üzerinde etkisi gösterilmiş fakat uygun doz, uygulama süresi ve farmakodinamiği net olarak belirlenememiştir.

Üreme çağındaki çiftlerin %10 - %15'i infertilite tanısı alırken ve büyük bir kısmının nedeni açıklanamazken, uygulanacak tedavi rejimlerinin güvenilirliği de sorgulanmalıdır. Uygulanacak olan rejimlerde etkinliğin araştırılmasının yanında, potansiyel yan etkileri de ortaya konarak daha bilinçli tedavi yöntemleri belirlenmelidir.



Çalışmamızda granülosit koloni stimüle edici faktorün ince endometriyum üzerine etkisi araştırılmış ve yan etki potansiyeli belirlenmeye çalışılmıştır.



## 2.GENEL BİLGİLER

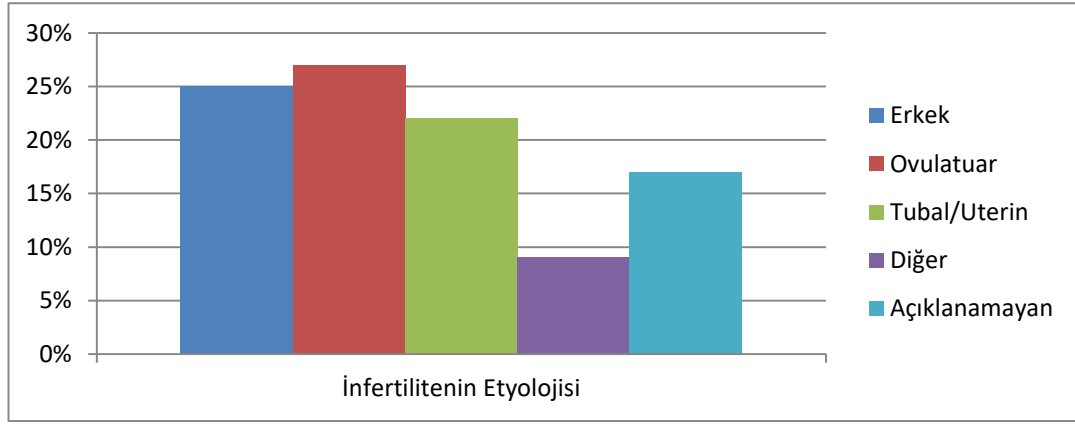
Uygun sıklıkta korunmasız 1 yıl cinsel ilişkiden sonra gebe kalamama, infertilite olarak tanımlanır. İnfertilite; daha önce gebelik olmaması primer infertilite ve en az bir gebelik sonrası gebe kalamama sekonder infertilite olarak ikiye ayrılabilir. Diğer taraftan fekundabilite, gebe kalma yeteneğidir. Büyük popülasyon çalışmalarında elde edilen bilgiler, aylık gebe kalma olasılığının %20 ile %25 arasında olduğunu göstermiştir. Gebe kalmaya çalışan kadınların yaklaşık %50'si 3 ayda, %75'i 6 ayda ve %85'den fazlası 1 yılda gebe kalacaktır.

**Grafik 1:** Gebe kalan kadınların yüzdesinin zamanla ilişkisi



Başarılı bir gebelik için ovulasyon, ovumun fallop tüpü tarafından tutulması, fertilizasyon, fertilize ovumun uterus içine taşınması ve reseptif uterin kavite içine implantasyonunu içeren, karmaşık olaylar sırası gereklidir. Genellikle infertilitenin üçte birine kadın, üçte birine erkek ve kalan üçte birine her ikisi katkıda bulunabilir. Bu yaklaşım, tedaviye başlamadan önce, çiftlerin her iki üyesinin de değerlendirilmesini vurgulamaktadır (1).

**Grafik 2:** İnfertilite nedenlerinin dağılımı



(Abma, 1997; Amerikan Üreme Tıbbı Derneği Uygulama Komitesi)

## 2.1 Kadın İnfertilitesi

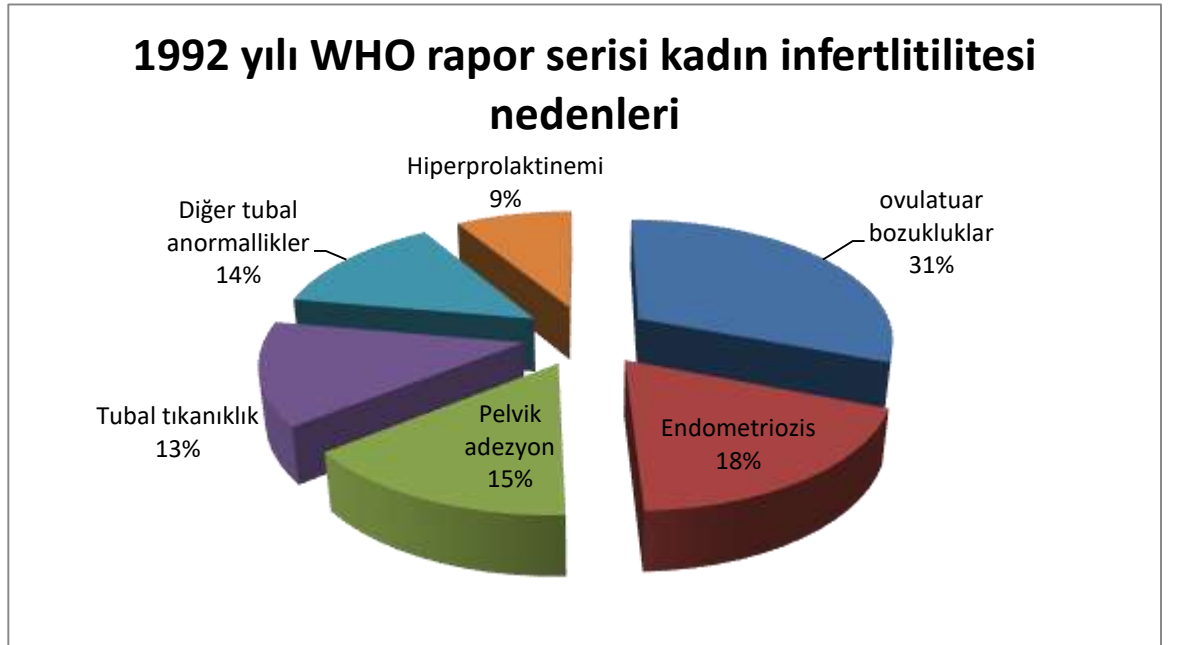
İnfertilite değerlendirmesi; teorik olarak ovulasyon, normal kadın üreme sistemi anatomisi ve normal semen özelliklerininin doğrulanması ile basitleştirilebilir. Herhangi bir tıbbi durumda olduğu gibi, eksiksiz bir hikaye ve fizik muayene kritiktir. (Amerikan Üreme Tıbbı Derneği 2000) Özellikle menstürasyon, önceki kontraseptif yöntem kullanımı, infertilite süresi, tekrarlayan over kisti öyküsü endometriozis, leiomyomlar, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, pelvik inflamatuvar hastalık öyküsü, gebelik kaybı, erken doğum, geç gebe kalma, plasenta retansiyonu, dilatasyon ve küretaj öyküsü, koryoamniyonit, fetal anomaliler, disparoni, servikal konizasyon öyküsü sorgulanmalıdır. Bunlarla birlikte bir dizi infertiliteye neden olabilecek durum araştırılmalıdır (1).

- a. Hiperprolaktinemi
- b. Tiroid hastalıkları
- c. Androjen fazlalığı semptomları
- d. Geçirilmiş kemoterapi
- e. Pelvik radyoterapi maruziyeti
- f. Pelvis ve batin cerrahisi öyküsü
- g. Ovulasyonu kötü yönde etkileyebilecek ilaçlar ve besin takviyeleri
- h. Vücut kitle endeksi
- i. Sigara, kafein ve alkol kullanımı
- j. Ağır metal ve insektisitlere maruziyet
- k. Yaşam tarzı, yeme alışkanlıkları ve toksinlere maruziyeti

### 2.1.1 Kadın İnfertilitesi Nedenleri

8500 infertil çiftin değerlendirildiği Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) bir çalışmasında, gelişmiş ülkelerde kadın kaynaklı infertilite oranı %37, erkek kaynaklı infertilitenin oranı %8, her iki cinsiyetinde infertilite nedenine sahip olduğu oran %35 olarak tespit edildi. Geriye kalan çiftler çalışma sırasında ya gebe kaldı ya da belli bir neden bulunamadı. İlerleyen kadın yaşı ile birlikte infertilite oranlarında artış tespit edildi. Buna ek olarak leiomyom, tubal hastalıklar ve endometriozis gibi diğer faktörler, gebelik oranlarını düşürdü (2).

**Grafik 3:** Kadın infertilitesi nedenleri



#### 2.1.1.1 Ovulatuvar Bozukluklar

Seyrek ovulasyon veya anovulasyon, oositin her ay fertilizasyon için hazır olmaması nedeniyle infertilite ile sonuçlanır. Yaş, kadın infertilitesini etkileyen önemli bir faktördür. Yaş ile birlikte azalan fekundabilite oositin niceliğinin ve niteliğinin azalmasına bağlıdır. Oositin kaynaklandığı kök hücre topluluğu, 6-7 milyon ile fetal yaşamın ortasında maksimum değere ulaşır ve doğumda 1-2 milyona, pubertenin başlangıcında ise 300.000 foliküle kadar düşer (3). Folikül kaybı 30'lu yaşların ortalarından sonra hız kazanmaktadır (4-5).

Sigara kullanımı, radyasyon maruziyeti, kemoterapi ve otoimmün hastalıklar folikül kaybını hızlandırır (6-8). Over kistlerinin (6 cm'ye kadar olan) infertilite üzerinde bir etkisinin olup olmadığı ise açık değildir, fakat cerrahi tedaviler, over rezervi üzerinde, kistin kendisinden daha zararlı bulunmuştur. Bu over kistlerinin büyük bir çoğunluğunu endometriomalar oluşturmaktadır (8).

### **2.1.1.2 Tubal Anormallikler ve Pelvik Adezyonlar**

Tubal hastalıklar ve pelvik adezyonlar sperm ve oositin fallop tüpü içerisindeki normal ilerleyişini önler. Tubal anormalliklerin birincil nedeni klamidyaya, gonore gibi patojenlerin neden olduğu pelvik inflamatuvar hastalıktır. Diğer nedenler arasında endometriozis, önceden geçirilmiş pelvik cerrahi sonrası yapışıklıklar, pelvik tüberküloz, tubal kaynaklı olmayan enfeksiyonlar (örn: fallop tüpüne açılan divertikül) gösterilebilir. Proksimal tubal oklüzyon bir pıhtı, mukus, amorf debris ya da uterotubal ostiumun spazmına bağlı gelişebilir ve gerçek bir anatomik oklüzyon olarak etki göstermez (9).

Distal tubal tıkanıklık sonucunda in vitro fertilizasyon (IVF) başarısı oranlarını düşüren hidrosalphinks oluşabilir. Hidrosalphinks, sperm migrasyonunu engellemesine ek olarak tubal içeriğin retrograd akışı ile embriyonun implantasyonuna uygun olan çevreyi kötü etkileyerek fertilitiyi düşürür. Hidrosalphinks olarak tespit edilmiş fallopi tüplerinin eksize edilmesi IVF başarısını artırır.

### **2.1.1.3 Uterus Leiomyom**

Uterus leiomyomu sık rastlanan monoklonal benign düz kas tümörüdür. Bir meta-analizde, sadece submukozal ya da intrakaviter komponenti olan myomlar düşük gebelik oranları ve implantasyon oranları ile ilişkili bulunmuştur (10). Submüköz myoma sahip infertil kadınlara yapılan myomektomi sonucunda fekundabilitede artış görülmüştür. Buradaki muhtemel mekanizma normal implantasyonun inhibisyonudur.

#### **2.1.1.4 Uterin Anomaliler**

Uterin anomalilerin normal implantasyon mekanizmasını bozarak infertiliteye neden olduğu düşünülmektedir. Müllerien anomaliler ise tekrarlayan gebelik kayıplarının önemli bir nedenidir. Septat uterus, reproduktif sonuçları kötü yönde etkilemektedir. İnfertilite ile ilişkilendirilebilecek diğer yapısal anomaliler, endometrial polipler ve önceki gebeliklerle ilişkili küretajlar sonrası oluşan sineşileri kapsar.

#### **2.1.1.5 Luteal Faz Defekti**

Luteal faz defekti, implantasyona uygun cevap verebilmesi için endometriyumu hazırlayan progesteronun korpus luteumdan uygun olarak üretilmemesini anlatmaktadır. American Society of Reproductive Medicine komitesinin 2015 yılındaki toplantısında görüş “ Her ne kadar progesteron erken embriyonik gelişim ve implantasyon süreci için çok önemli olsa da luteal faz defekti infertiliteye neden olan bağımsız bir antitedir. Genel kabul görmüş tanı koyduracak bir tetkiki ya da tedavisi yoktur.” şeklinde olmuştur (11).

#### **2.1.1.6 Endometriozis**

Endometriozisin fertilitiyi azaltmadaki rolü; pelvik adezyonları arttırması, endometrioma formasyonu ile ve cerrahi tedavisi ile over dokusuna zarar vermesi, ovulasyon, fertilizasyon ve implantasyon için gerekli sitokin ve büyüme faktörlerinde azaltmaya neden olması olarak belirtilebilir.

#### **2.1.1.7 Servikal Faktor**

Menstrüel siklusun ortasında servikal mukus spermlerin geçmesine izin verecek yapı kazanır. Konjenital malformasyonlar ve serviks travmaları (örn: cerrahi işlemler) normal mukus üretim sürecini bozabilir veya servikal stenoz ile sonuçlanabilir.

### **2.1.1.8 Kalıtsal Trombofili**

Kalıtsal trombofilinin açıklanamayan infertilite ile ilişkisi net olarak ortaya konamamıştır. Geniş bir retrospektif çalışma, faktör 5 Leiden mutasyonu ve lupus antikoagulanı varlığını da içeren yaygın trombofililerin IVF başarısızlığı ile ilişkisini ortaya koyamamıştır (12). Bu nedenle tekrarlayan infertilite tedavisi başarısızlıklarında ne trombofili taraması ne de tedavisi önerilmemektedir.

### **2.1.1.9 İmmün Faktörler**

Antifosfolipit antikor varlığı erken gebeliklerin immunolojik kaybına ve plasenta hasarına neden olur. Antifosfolipid antikorlar haricindeki antikorlar ve anormal immün sistem test sonuçları, tekrarlayan reproduktif başarısızlığa uğrayan kadınlarda sıklıkla rapor edilse de; çalışmalar, bu fenomenin nedenini ve etkisini kanıtlayamamışlardır (13). Otoimmün hastalığa sahip kadınlarda, antikorların fertilizasyon ve implantasyona etkisinin tam olarak açıklanamadığı bir artmış infertilite riski söz konusudur. Çölyak hastalığına sahip kadınlarda, reproduktif anormalliklerin, intrauterin gelişme geriliğinin, abortusların, infertilitenin sıklığı artmıştır (14).

### **2.1.1.10 Genetik Faktörler**

İnfertil çiftlerde karyotip anomalileri, genel populasyona oranla daha sık görülür (15). İnfertilitede en sık rastlanan anöplöidi anomalisi; kadınlarda Turner sendromu (45,X), erkeklerde Klinefelter sendromudur.

## **2.1.2 İnfertilitede Yapılan Tetkikler**

İnfertilite değerlendirilmesi teorik olarak ovülasyon, normal kadın üreme sistemi anatomisi ve normal semen özelliklerinin doğrulanması ile basitleştirilebilir (1).

### **2.1.2.1 Ovulatuvar Disfonksiyon**

Ovulasyon; hipotalamus, ön hipofiz veya overlerdeki anomalilere bağı olarak alt üst edilmiş olabilir. Hipotalamik bozukluklar, kazanılmış veya kalıtsal olabilir. Kazanılmış bozukluklara; aşırı egzersiz, yeme bozuklukları veya stres gibi yaşam biçimleri neden olabilir. Alternatif olarak, hipotalamik gonodotropin releasing-hormon nöronlarının disfonksiyonu ya da uygunsuz migrasyonu, idiyopatik hipotalamik hipogonadizm (İHH) ya da Kallman sendromunda meydana geldiği gibi kalıtsal da olabilir. Tiroid hastalığı ve hiperprolaktinemi de menstrüel bozukluklara katkıda bulunabilir (1).

#### **2.1.2.1.1 Serum Midluteal Progesteron**

Luteal fazın ortasında, serum progesteron düzeylerinin ölçülmesiyle ovulasyon belirlenebilir. Klasik 28 günlük bir siklusta, menstrüel kanamanın ilk gününden itibaren siklusun 21. günü veya ovulasyondan sonra 7. günde serum alınır. Foliküler faz boyunca düzeyleri, genellikle  $<2\text{ng /mL}$ 'dir. 4 ile 6 ng /mL'nin üzerindeki değerler ovulasyon ve korpus luteum tarafından üretilen progesteron ile oldukça ilişkilidir (16). Progesteron pulsatil olarak salgılanır ve bu nedenle tek ölçüm, luteal faz boyunca tüm üretimin göstergesi değildir. Sonuç olarak, kabul edilebilir progesteron düzeyleri için kesin bir eşik değer tam olarak değerlendirilememiştir. Bununla beraber, midluteal 9.4 ng /mL'den büyük progesteron düzeyinin, 10 ng/mL'den az olan hastalarda gözlenenenden daha fazla gebelik oranı öngördüğünü bildirilmiştir (17). Birçok klinisyen, progesteron düzeyi bu değerlerin altında olan herhangi bir hastayı, ampirik olarak doğal progesteron ile tedavi etmeyi tercih eder. Bu yaklaşımın zararlı olma olasılığı olmasa da bu tedavinin yararı kanıtlanamamıştır. Buna göre, midluteal progesteron düzeyi ovulasyonu saptamak için en mükemmel ölçüm olarak kabul edilir, fakat luteal fonksiyonun kesin göstergesi değildir (1).



### **2.1.2.1.2 Ovulasyon Belirleyici Kitler**

Ovulasyonu belirlemek için birçok ek test geliştirilmiştir. İdrarda ovulasyon belirleme kitleri eczanelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Kolorimetrik yöntemle idrarda lüteinizan hormonun (LH) konsantrasyonunu ölçen bu kitlerin kullanımları oldukça kolaydır ve yorumlamaları ile ilgili kolay açıklamalar sağlanmıştır.

Genellikle, kadın, öngörülen LH artışından 2 ile 3 gün önce teste başlamalıdır ve testi hergün yapmalıdır. Test için en uygun zamanla ilgili kesin bir fikir birliği yoktur. Bazı infertilite uzmanları, yoğun ilk sabah idrarının uygun test zamanı olduğunu ileri sürer. Diğerlerinin bu örneğin yalancı pozitif sonuçlar gösterebileceği konusunda kaygıları vardır ve sabah ikinci idrar örneği ile test yapılması önerilir. Bir diğer grup ise serum LH pikinin sabah olduğunu ve idrar pikinin saptanma olasılığının geç öğleden sonra ya da akşam daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır (1). Zamanlama, olasılıkla testin hergün yapılması kadar önemli değildir, çünkü LH artışının yarı ömrü, yalnızca 48 ile 50 saat arasındadır. Olguların çoğunda, ovulasyon, idrar LH pikinden sonraki günde meydana gelecektir (18,19). Kuşku sonuçlar elde edilirse, test 12 saat içinde tekrarlanabilir. Bir çalışmada, idrar LH analizlerinin %100 duyarlılık ve %96 doğruluğa sahip olduğu hesaplanmış olmasına rağmen bu tipik kullanım sonuçlarından fazladır (1,20,21).

### **2.1.2.1.3 Overyan Rezerv**

Erken foliküler fazda serum folikül stimulan hormon (FSH) düzeylerinin ölçümü, over rezervinin basit ve duyarlı bir belirteçidir (22). Over fonksiyonun azalmasıyla, granüloza ve luteal hücreler hipofiz ön lobundaki gonodotroplardan FSH salgılanmasının inhibisyonundan sorumlu bir peptid hormon olan inhibini daha az salgılar. FSH düzeyleri, luteal inhibinin azalmasıyla erken foliküler fazda yükselir. Serum FSH düzeylerinin ölçümü, klasik olarak adet başlangıcından sonra siklusun 3. gününde yapılır, böylece “siklus 3. gün” FSH seviyesi olarak adlandırılır. Ancak, 10 mIU/ml’den fazla değerler, over rezervindeki belirgin kaybı işaret eder ve daha

hızlı değerlendirme ve daha yoğun bir tedavi başanmalıdır (1). İn vitro fertilizasyon (IVF) sikluslarını değerlendiren büyük bir çalışmada, 15 mIU/ml'yi geçen siklus 3. gün FSH düzeyleri, düşük gebelik oranlarının anlamlı bir belirteci olarak saptanmıştır (22,23,24). Eş zamanlı olarak birçok klinisyen östrodiol düzeyini de ölçer (25,26). Östrodiol ölçümünün eklenmesi ile tek başına FSH'nın yalancı negatif değerlerinin sıklığını azaltabilir. Biraz çelişkili olarak, over foliküllerinin tamamı bitse de, yaşlı kadınlarda östrojen düzeyleri, artmış FSH düzeylerine bağlı olarak artmış overyen steroidogenezin uyarılması nedeniyle, siklusun erken dönemlerinde yükselmiş olacaktır. Siklusun 3. gününde >80 pg/mL östrodiol düzeyi anormal olarak kabul edilir. Östrodiol ve FSH'nın referans değerlerinin laboratuvarlar arasında değişebileceği bilinmelidir. Bu nedenle, her klinisyen kendi laboratuvarının normal değerlerini bilmelidir (1). Over rezervinin ek belirteçlerini belirlemek için girişimler, granüloza hücrelerinin ürettiği inhibin B'yi dahil etmiştir. İnhibin B, foliküler faz boyunca artar, hipofiz bezi tarafından FSH salınımının progresif olarak baskılanmasına yol açar. FSH ve östriol gibi, inhibin B' de, siklus boyunca serum seviyelerindeki büyük dalgalanmalar sebebiyle, foliküler fazın erken döneminde ölçülmelidir. Başlangıçta umut verici olsa da FSH testinden elde edilen bilgiye ek katkısı olduğu gösterilememiştir ve böylece bu test gözden düşmüştür (1).

Antimüllerien hormon (AMH) over rezervinin bir göstergesi olarak analiz edilen gündemdeki en yeni faktördür (27). İsminden de tahmin edilebileceği gibi, erkek farklılaşması sırasında fetal testislerden üretilen AMH, müllerien sistemin (fallop tüpleri, uterus ve üst vajen) oluşumunu engeller. AMH ayrıca, büyük foliküllerde sınırlı üretimi ile küçük preantral foliküllerin granüloza hücreleri tarafından da üretilir. Bu gözlem, AMH'nın dominant folikül belilenmesinde rol oynadığını düşündürmektedir. AMH ölçümünün siklus dönemlerinden bağımsız üretilmesi nedeniyle FSH ve inhibin testlerine göre avantajı vardır. Ayrıca, AMH seviyelerinin FSH veya östrodiol seviyelerindeki gözlemlenebilen değişikliklerin öncesinde düşebilir, bu durum AMH seviyelerinin azalan overyan primoridal folikül sayısı ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (28). AMH seviyeleri normal siklusu olan kadınlarla kıyaslandığında polikistik over sendromu (PKOS) olan kadınlarda 2-3 kat artmıştır. Bu gözlem bu hastalarda bulunan multiple erken folikül ile uyumludur (1).

Klomifen sitrat uyarma testinin, over rezervindeki azalmayı göstermede, "uyarılmamış" hormon düzeylerindeki azalmayı göstermede daha duyarlı olduğuna

inanılır (29). Klomifen sitrat, bir nonsteroidal östrojen reseptör modulatörüdür. Gerçek mekanizması tam olarak anlaşılmasa da klomifen'in, endojen östrojenlerin FSH salınımı üzerindeki negatif feedback inhibisyonunu engellediğine inanılır. Bu test ile, kadın siklusun 5 ile 9. günleri arasında oral olarak 100 mg klomifen sitrat alır. Östrodiol ve FSH düzeyleri 3. günde ve FSH düzeyi 10. günde ölçülür. Her iki zaman noktasındaki FSH'nın artışları, azalmış over rezervinin göstergesidir (1).

#### **2.1.2.1.4 Overyan Sonografi**

Seri over sonografisi matür antral folikül gelişimini ve daha sonra ovulasyon sırasındaki kollapsını gösterebilir. Bu yaklaşım zaman alıcıdır ve ovulasyon kaçırılabilir. Ancak sonografi, polikistik over sendromu (PCOS) tanısını desteklemek için mükemmel bir yöntemdir (1). Foliküler faz antral folikül sayımının sonografik değerlendirilmesi infertilite pratiğinde ovulasyon indüksiyonu sonrası cevap için kabul edilebilir bir gösterge olarak sıklıkla kullanılmaktadır (30,31). Küçük antral foliküllerin sayısı, istirahatteki folikül havuzunun büyüklüğünü yansıtır. Her iki overdeki 2 ve 10 mm arasındaki antral foliküller sayılır. Üreme çağındaki kadında toplam antral folikül sayısı sıklıkla 10 ile 20 arasındadır. 10'dan az antral folikül sayısı gonadotropin stimülasyonuna kötü yanıtı tahmin ettirir (1).

#### **2.1.2.1.5 Bazal Vücut Isısı Çizelgesi**

Bazal vücut ısısı çizelgesi ovulasyonun saptanması için uzun zaman kullanılmıştır. Bu test, kadının sabah oral vücut ısısının çizelgeye işaretlenmesini gerektirir. Oral ısı, foliküler faz boyunca genellikle 36.1 ile 36.6 santigrad arasındadır. Ovulasyon sonrası progesteron düzeylerindeki yükselme bazal ısıyı yaklaşık 0.1 ile 0.3 santigrad arttırmaktadır. Bu bifazik ısı paterni ovulasyonun güçlü bir belirteçidir (32). Ancak bu test ucuz olma avantajına sahip olsa da, birçok kadında duyarlı değildir. Bu test ilk kez gebe kalmaya çalışan bir çiftte yararlı olabilese de, genelde infertilitenin tanısız bir aracı olarak kabul edilmemektedir (1).

#### **2.1.2.1.6 Endometrial Biyopsi**

Yeterli progesteron düzeyi implantasyondan önce endometriyumun hazırlanması için gereklidir. Suboptimal progesteron üretimi, yetersiz endometrial

gelişimle sonuçlandırıldığında luteal faz dekti (LFD) ortaya çıkar. Böylece, endometrial biyopsi, hem korpus luteum fonksiyonunu hem de endometrial yanıtı göstereceği ve dolayısıyla, tek başına serum progesteron düzeyinden daha fazla klinik bilgi sağlayacağı önerilmektedir.

1975 yılında periovuluar, luteal ve erken menstrüel evrelerde endometriyumdaki histolojik olaylar sekansı tanımlandı. LFD, endometriumun histolojik görünümünün siklusun gerçek gününe göre 2 günden fazla geri olması olarak tanımlandı. Bu uyumsuzluk “faz dışı biyopsi” olarak tanımlandı. Klasik olarak, bir endometrial biyopsi önceki siklus uzunluğu ve daha yeni olarak LH artışının zamanı temel alınarak, yaklaşan menstrüel sıklusa en yakın zamanda yapılır (33).

Ne yazık ki bu testin yararı, değerlendirmeler ve değerlendirmeciler arasındaki yüksek değişkenlik nedeniyle oldukça engellenmektedir. İnfertil popülasyonda LFD’ nin hesaplanan sıklığı oldukça değişkendir, fakat genellikle %5 - %10 arasında olduğu kabul edilir. Bununla beraber, faz dışı biyopsi bulgusu, fertil kadınlarda da infertil kadınlarda oluşan kadar sık görülür, bu durum nedeniyle klinisyenler tarafından LFD’ nin klinik bir antite olmayacağı sonucuna varılmıştır. Günümüzdeki haliyle endometrial biyopsinin çok az belirleyici değeri vardır. Bu nedenle rutin olarak kullanılmamaktadır.

Endometrial bezler ve stromadaki protein ekspresyonunun zamanını anlamamız etkileyici gelişmelerin oluşmasında ilgi çekici olacaktır. Uterin reseptivite için olası belirteçler, osteopontin, sitokinler (lösemi inhibitör faktör, koloni-stimulan faktör -1 ve interlökin-1), hücre adezyon molekülleri (integrinler) ve embriyonun yapışmasına aracılık ettiği düşünülen L-selektin ligandır. Gelecekte bu proteinlerin ekspresyon paternleri, endometrial reseptiviteyi öngörmeyi sağlarsa, endometrial biyopsiler yeniden tanısal değerlendirmenin bir bileşeni olacaktır (34,35).

## **2.1.2.2 Tubal ve Pelvik Faktörler**

### **2.1.2.2.1 Histerosalpingografi**

Histerosalpingografi (HSG) zamanlaması, enfeksiyon riskini azaltmak ve intrauterin kan ve pıhtının intraabdominal geçişinden kaçınmak amacı ile kontrasepsiyonu takiben menstrüel kanamanın bitiminde sonraki 2- 5 gün arasında olmalıdır. HSG özel bir hazırlık gerektirmemesine rağmen, işlem sırasındaki ağrının

azaltılması için, işlemden 30-60 dk önce bir non-steroid antiinflamtuvar ile analjezi sağlanması amacı ile premedikasyon uygulanabilir (36). Bu radyolojik yöntem, tubanın durumunun belirlenmesinin yanında uterin kavitenin büyüklüğünün ve şeklinin değerlendirmek için de yararlı olabilir. Bu test için iyotlu kontrast madde uterus içine yerleştirilen bir katater aracılığı ile verilir. Floroskopi altında, boyanın önce uterin kaviteyi, daha sonra tuba lümenini doldurduğu ve son olarak tubal fimbriadan pelvik kavite içine dökülmesi izlenir.

Tubal hastalıklar her iki tubayı da etkiler ve bu nedenle, tek taraflı hastalık nadirdir. Normal karşı taraf tuba ile tek taraflı obstrüksiyon büyük olasılıkla HSG sırasında boyanın daha az dirençli yolu izlemesi nedeniyledir. Tedavi öncesi son bir tanıyı doğrulamak için kromopertübasyonlu laparoskopi yapılmalıdır.

Gebelik oranlarının HSG sonrası arttığı bildirilmiştir ve tuba içindeki kalıntıların temizlenmesi sonucu meydana geldiği ileri sürülmüştür. Ancak bu sonuçlar, günümüzde kullanılan su bazlı boyalardan çok, yağ bazlı boya ile yapılan değerlendirmelerde görülmüştür (1).

Histerosalpingografi ile uterin anomaliler hakkında bilgi sahibi olunabilir. İntrauterin kavitenin sınırlarının da değerlendirilmesini sağlar. Kavite içerisindeki polip, leiomyom ya da yapışıklık kontrast maddenin yayılmasını engeller ve radyografide boya opasitesi oluşturarak intrauterin defekt görüntüsüne neden olur. Kan pıhtıları, mukus plak ve kataterin yerleştirilmesi sırasında endometriyumun yırtılması yalancı pozitif sonuçlara yol açsa da, HSG'nin intrauterin patolojileri belirlediği gösterilmiştir (1). Altın standart olarak histeroskopinin kullanıldığı, 300'den fazla olgudan oluşan çalışmada HSG'nin duyarlılığı %98, özgüllüğü %35, pozitif prediktif değeri %70 ve negatif prediktif değeri % 8 olarak saptanmıştır. Yanlış tanılarının çoğu, submüköz myomun polipten ayırımındaki yetersizlik nedeniyledir (37). HSG, gelişimsel uterus anomalilerini de tanımlayabilir. Histerosalpingografide Y- şeklinde bir uterus izlenmesi, septalı veya bikornuat uterusu gösterebilir. Bu olgularda uterus fundusunun dış sınırları, manyetik rezonans görüntüleme (MR) , yüksek rezolusyonlu 3 boyutlu (3-D) sonografi veya laparoskopi kullanılarak değerlendirilmelidir. Düzgün fundal sınır, uterin septum tanısı ile uyumludur. Bu önemli bir belirtidir, çünkü septum sıklıkla kesilir, fakat bikornuat uterus genellikle tedavi edilemez. Genellikle gelişimsel uterus anomalileri infertilite nedeni değildir, fakat düşük veya geç dönem fetal kayıpla ilişkili olabilir, tedavide ikilem oluşturur. Bu nedenle, gebelik sonuçlarını düzeltmek için bazı uterin anomalileri cerrahi olarak tedavi etme girişimi mantıklı olabilir. Ancak,

çifte gebe kalmalarının etkilenmesinin olası olmadığı dikkatli bir şekilde anlatılmış olmalıdır (1).

#### **2.1.2.2.2 Kromopertübasyonlu Laparoskopji**

Dilüe edilmiş metilen mavisi, serviks yerleştirilen akorn kanül ya da uterus içine yerleştirilen balon katater aracılığı ile enjekte edilir. Tubal geçiş laparoskopji aracılığı ile değerlendirilir. Bazı durumlarda metilen mavisi yerine indigo karmen boyası kullanılır. (örn: glikoz fosfat 6- dehidrogenaz eksikliği, methemoglobinopati) İndigo karmenin 5 ml'lik ampülü 50-100 cc'lik steril salin ile seyreltilerek transservikal olarak uterin kavite içine enjekte edilir. İndigo karmenin veya metilen mavisinin tubal dolumu ve intrapelvik yayılımı laparoskopik olarak izlenerek tubal patens değerlendirilir.

#### **2.1.2.3 Uterin Faktörler**

Uterin anomaliler kalıtsal ya da edinilmiş olabilir. Sık uterin anomaliler uterin septum, bikornuat uterus, unikornuat uterus ve uterus didelfisi içerir. Bu anomalilerin alt gruplarının, gebelik komplikasyonları ile ilişkisi belirgin olsa da, büyük uterin septum dışında gebe kalmamaya olası etkilerini kanıtlamak zordur. Dietilstilbestrole intrauterin maruziyetinin vajinal adezyon riskindeki artışa neden olduğu görülmüştür (1).

##### **2.1.2.3.1 Transvajinal Sonografi**

Transvajinal pelvik sonografi kalınlaşmış endometriyumun myometriuma göre daha ekojen olduğu luteal fazda uterin anatomisinin belirlenmesinde yardımcı olabilir. 3-D sonografi cihazları yaygın olarak mevcut olmasa da, geliştirilmiş sonografinin ayırt edici yeteneğini arttırmaktadır.

##### **2.1.2.3.2 Salin-İnfüzyon Sonografi**

Foliküler fazda, endometrial kaviteye sonografi sırasında salin infüzyonu, uterus duvarları ile kavite arasında farklılık oluşturması için diğer bir yaklaşımdır. Bu işlem, histerosonografi, sonohisterografi veya salin-infüzyon sonografisi (SİS) gibi birçok isme sahiptir. Endometrial bozuklukları saptamada salin-infüzyon

sonografinin %75 duyarlılığa ve %90'dan fazla özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir. %50 gibi kabul edilebilir bir pozitif prediktif değere ve %95 ile mükemmel bir negatif prediktif değerine sahiptir ve negatif prediktif değeri HSG'nin negatif prediktif değerinden oldukça fazladır (38). Ayrıca SİS, uterus kavitesindeki defektin, saplı bir leiomyom veya polip olup olmadığını ayırt etmede HSG'den daha fazla duyarlı olabilir. SİS, submukozal leiomyomun kavitede olan kısmının ne büyüklükte olduğunu saptamaya yardımcı olabilir, çünkü intramural kısmının sadece %50'sinden daha azına sahip olanlara histereskopi uygulanmalıdır. SİS'in başlıca kısıtlılığı, fallop tüpleri hakkında bilgi sağlamaması iken, salinin pelvis içine hızlı geçişi, en azında tek taraflı açıklıkla uyumludur. Salin infüzyon sonografi, genellikle HSG'den daha az ağırlıdır ve radyasyona maruz kalınma gerektirmez. Bu nedenle, in vitro fertilizasyon gerektiği bilinen hastalarda olduğu gibi, tubal açıklık hakkında bilginin gerekmediği durumlarda tercih edilen bir yöntemdir (1).

### **2.1.2.3.3 Manyetik Rezonans Görüntüleme**

Müllerian anomaliler, farklı derecede olumsuz üreme sonuçları ile ilişkili, gelişimsel anomalilerdir. Son zamanlara kadar, ayrıntılı değerlendirme için laparoskopi, laparotomi, HSG ya da histereskopi gerekiyordu. Günümüzde bu invaziv teknikler, MR görüntüleme ile yer değiştirmiştir. Müllerian anomalilerin MR görüntüleme ile değerlendirilmesi, girişime tercih edilmektedir ve yaklaşık %100'e yakın bir doğruluğa sahiptir.

Bikornuat uterusu, ayırıcı septum, myometriumdaki oluşmakta olup MR görüntülemesinde myometriyumun sinyal yoğunluğu ile karakterizedir. Bikornuat uterus endometriyumu, normal genişliktedir ve birleşen artmış sinyal yoğunluğunun görüldüğü bağlantılı iki uterin kaviteyi örter. Fundusun konturları konkavdır. Sonuç olarak, bikornuat uterusun, fundusta iki boynuz arasında belirgin bir çentiği -1cm'den büyük- vardır ve interkornual çap 4 cm'den büyüktür. Uterus septus, iki uterus arasındaki fibröz septumun inkomplet rezorpsiyonu sonucunda oluşur. Septum hem T1 hem T2 ağırlıklı görüntülerde düşük sinyal yoğunluğu gösteren kollajenden oluşmuştur. Uterus septusun fundus kenarları konveks, düz ya da hafif konkav olabilir, fakat fundustaki girinti-çentik 1 cm'den küçüktür. MR görüntülemenin kullanıldığı diğer anomaliler, uterus didelfis ve rudimenter horn'un klinik olarak

oldukça önemli bir bulgusu olan ana uterus kavitesi ile birleşip birleşmediğini belirleyebilir. MR görüntüleme uterus didelfisi de tanımlayabilir (1).

#### **2.1.2.3.4 Histeroskopi**

Uterin kavitenin histeroskopik değerlendirilmesi, intrauterin anomalilerin saptanmasında kullanılan başlıca yöntemdir. Histeroskopi, muayenehane ya da ameliyathane koşullarında yapılabilir. Aletlerin gelişmesi ile muayenehane koşullarında eş zamanlı olarak tanı ve tedavi olanağını artırmaktadır. Yine de daha kapsamlı histeroskopik cerrahi ameliyathane koşullarında olanaklıdır. Histeroskopi endikasyonları değişkendir. İnfertilite değerlendirmesi ve bazı olgularda tedavisini, tekrarlayan gebelik kaybını, anormal uterin kanamayı, amenore ve kalan yabancı cisimi içerir. Histeroskopik tekniklerle anormal kanama; endometrial ablasyon, polipektomi veya submüköz myomektomi ile tedavi edilebilir. İnfertilite, intrauterin adezyon veya septumların insizyonu ile iyileştirilebilir. Ayrıca tıkalı ostiumlar açılabilir veya dilate edilebilir. Alternatif olarak sterilizasyon isteyenler için tubal oklüzyon araçları etkili ve güvenli bir kontrasepsiyon yöntemi olarak kullanılabilir (1).

#### **2.1.2.3.5 Laparoskopi**

Doğrudan inspeksiyon; pelvis patolojilerinin değerlendirilmesinde en doğru yaklaşım olup; laparoskopi, altın standart yaklaşımdır. Kromopertubasyon yapılabilir ve dilüe boya, servikse yerleştirilen bir akorn kanülü veya uterus içine yerleştirilen balon katater aracılığı ile enjekte edilir. Tubal geçiş laparoskopi aracılığı ile değerlendirilir. İndigo karmen boyası, metilen mavisine tercih edilir, çünkü özellikle glukoz-6-fosfat dehidrogenaz yetersizliği olan hastalarda nadiren akut methemoglobinemiye tetikleyebilir. İndigo karmen 5ml'lik ampülü, 50 ila 100 ml'lik steril salin ile serviksten verilmek üzere karıştırılır. Laparoskopi, endometriozis ya da pelvik yapışıklıklar gibi anomalilerin tanı ve doğrudan cerrahi tedavisinin yapılmasını sağlar. Endometriotik lezyonların ya da adezyonların laparoskopik ablasyonu, gebelik oranlarını artırabilir. Laparoskopi kesinlikle gerekliyse, uterin kaviteyi değerlendirmek için hasta anestezi altındayken histeroskopi de yapılabilir.



Ayrıca, operatif histeroskopi olgularında, örneğin septum kesisi sırasında laparoskopi, doğrudan cerrahiye yardımcı olur ve perforasyon önlenir.

Laparoskopi, klomifen sitrat veya gonadotropin ile yapılan ovulasyon indüksiyonu ile gebe kalamayan hastalarda da düşünülebilir. Pelvik hastalık saptanır ve tedavi edilirse, IVF'e geçiş engellenebilir. IVF'deki başarı oranlarının artması ile bu son görüşün haklılığı azalmaya başlamıştır, çünkü cerrahinin maliyeti bir IVF siklusunun maliyetini geçmiştir (1).

#### **2.1.2.4 Servikal Faktör –Postkoital Test**

Serviks ve servikal mukus, üreme sürecinde birçok yolda rol oynamaktadırlar. Servikal mukus, vajina ve ejakulattan spermleri yakalayarak diğer seminal proteinleri ayırır, anormal morfolojili spermleri filtre eder, biyokimyasal olarak hazır hale getirir ve sperm için rezervuar görevi yapar. Bu şekilde, spermlerin canlı kalma süresi ve ilişki ile ovulasyon arası süre uzayacaktır. Mukus, katı ve sıvı komponentleri olan jel yapısında bir glikoproteindir. Müsin dizileri arasında kanallar olan bir yapısı vardır. Steroid hormon yapısındaki değişimlerle birlikte menstrüel siklus boyunca bu kanallarda genişleme ve daralma olmaktadır ve sperm geçişlerini ayarlamaktadırlar. Östrojen, servikal mukus üretimin artırır. Foliküler gelişim boyunca östrojen düzeyi arttıkça mukus miktarı ve akışkanlığı artarak sperm geçişine olanak sağlanmaktadır. Progesteron ise servikal mukus üretimini azaltarak visköz yapıya gelmesine neden olur, böylece sperm geçişine engel olacaktır. Servikal mukustaki siklik değişiklikler, gebelik olasılığının ovulasyona yaklaştıkça artmasını ve daha sonra hızla azalmasını açıklamaktadır.

Sims-Hühner testi olarak da bilinen postkoital test, infertilitede servikal faktörü belirleyen geleneksel bir methodur. Önerilen teknikler, zamanlama ve yorumlar değişiklik göstermektedir. Bununla birlikte, servikal mukus örnekleme (aspirasyon veya nazal polip forsepsiyle) beklenen ovulasyondan hemen önce, ilişkiden 2-12 saat sonra yapılmalıdır. Postkoital testte, klasik olarak mukusun mikroskopik ve makroskopik incelenmesi yapılır ve varolan spermlerin motilite ve sayısı belirlenir. Mukusun fiziksel özellikleri olarak; hacmine, pH değerine, berraklığına, sellülaritesine, viskositesine (spinnbarkeit olarak da bilinen santimetre olarak mukusun uzama yeteneği) ve ferning testine (mukusun cam üzerinde kurutulması sonrası kristal yapısının incelenmesi) bakılmalıdır. Motil sperm

izlenmesi, ilişki tekniği ve sperm yaşam süresinin yeterli olduğunu gösterirken, motil sperm sayısı, sperm kalitesi (dansite ve motilitesi) ve fekundabilitiyi göstermektedir.

Negatif testin en sık nedeni zamanlamanın uygunsuzluğudur. Ovulasyondan hemen önce uygulanmazsa, mukus yeteri kadar östrojen etkisinde kalmamış olacaktır. Ovulasyon sonrası yapılır ise mukus özellikleri yine kötü bulunacaktır.

Test gününün idrarda siklus ortası LH artışına göre veya transvajinal ultrasonografi ile preovulatar foliküllerin durumuna göre ayarlanması doğru zamanlama veya sonuçların doğru değerlendirilmesi açısından önemlidir. Diğer kötü mukus sonuçlarıyla ilişkili durumlar, servisit, daha önceden endoservikal glandların, servikal intraepitelyal neoplazi tedavisi sırasında hasarı ve antiöstrojenlerle tedavidir. İyi kalite mukusun içerisinde motil sperm izlenmemesi, ilişkinin yetersiz olması, ejakülasyonun olmaması, kötü semen kalitesini ve spermisidal içeren lubrikanların kullanılması sonrası oluşabilir. Bozulmuş, hareketsiz veya pıhtılaşmış spermlerin izlenmesi, her iki partnerde de oluşabilecek antisperm antikorlarının saptanması için ileri inceleme yapılması gerektiğini göstermektedir. Servikal faktör tanısının konulması için ikinci bir postkoital testin tekrarı uygun olabilir çünkü, normal fertil kişilerde de anormal sonuç görülebilmektedir (36).

### **2.1.2.5 Semen Analizi**

Semen incelemesi, erkekte fertilitte durumunu değerlendiren temel testtir. Bu test için, erkeğin iki ile üç gün süresince ejakülasyondan kaçınması istenir ve örnek, masturbasyon ile steril bir kabin içerisinde toplanır. Masturbasyon istenmezse, bu durumda çift kayganlaştırıcı içermeyen özel olarak tasarlanmış silikon kondomlar kullanılabilir. Optimal analiz için ejakulasyondan sonra bir saat içinde örneğin laboratuara ulaştırılması önemlidir.

Prostat bezinin sıvı katkısı sonucu oluşan enzimatik aktivite nedeniyle örnek sıvılaşmaya ve seminal sıvı incelmeye başlar. Bu süreç, 5 -20 dakika sürer ve seminal sıvıdaki sperm içeriğinin daha doğru değerlendirilmesini sağlar. İdeal olarak, bir ay ara ile en az iki semen örneği incelenmelidir. Pratikte, parametreler normale sıklıkla yalnızca tek örnek incelenir.

Klinisyen bu testle ilgili birkaç önemli durumu anımsamalıdır. Birincisi, semen özellikleri, aynı kişide zaman içinde değişecektir. İkincisi, semen inceleme sonuçları, özellikle morfolojik yorumlar, laboratuvarlar arasında farklı olacaktır. Bu

nedenle, laboratuvarların kullanmakta olduğu referans değerleri bilinmelidir. “Referans” aralığı kavramının “normal” aralıktan daha uygun olacağına dikkat edin. Toplam hareketli sperm sayısı fertilitte ile ilişkili olsa da, “normal” semen parametreleri olan tım erkekler normal fertilitte gostermez (39). Aslında oositi fertilize etme yeteneği olan sperm fonksiyonu hakkında bilgi sağlayamadığı gerçeği nedeniyle, bu testin kesin belirleyici değerinin olmama olasılığı vardır.

Bildirilen semen incelemelerinin çoğu semen hacmini, pH ve fruktozun varlığını ya da yokluğunu gösterecektir. Semen hacminin yaklaşık %80’i seminal vezikılden gelir. Seminal sıvı alkalidir ve spermi, prostat salgısı ve vajinadaki asiditeden koruduğu düşünılmektedir. Seminal sıvı, sperm için enerji kaynağı olan fruktozdan sağlanmaktadır. Asidik bir pH ya da fruktozun olmaması, seminal kanal veya ejakulasyon kanal problemini düşündürür.

**Tablo 1:** Dünya Sağlık Örgütü semen inceleme değelendirmesi

SEMEN İNCELEMESİ	
HACİM	>1,5 ml
SAYI	>20 milyon / ml
HARAKET	>%50
MORFOLOJİ	>%30 >%14 (kruger)
LÖKOSİT	<1 milyon /ml
YUVARLAK HÜCRELER	<5 milyon/ml

Düşük semen hacmi çoğunlukla basitçe örneğin yetersiz toplanması veya cinsel ilişkiden sakınma süresinin kısa olması nedeniyledir. Parsiyel veya komplet vaz deferens obstrüksiyonu, enfeksiyon, tümör, geçirilmiş testiküler veya inguinal cerrahi ile travma sebebi ile oluşabilir.

Erkeklerde, sperm sayısı normal, oligospermi (düşük sayı) veya azospermi (sperm olmaması) olabilir. Oligospermi, mililitreden 20.000.000’den az sperm bulunması olarak tanımlanmıştır ve mililitrede 5.000.000’den az spermin bulunması ise şiddetli olarak değerlendirilmiştir.

Azalmış sperm motilitesi, astenospermi olarak adlandırılır. Bazı laboratuvar; hareketleri, hızlı (grade 3-4), yavaş (grade 2) ve hareketsiz (grade 0-1) olarak

ayırmaktadır. Toplam progresif motilite, ileriye doğru hareket ettiği (grade 2-4) görülen sperm yüzdesidir. Astenospermi, cinsel ilişkiden uzun kaçınma süresine, antisperm antikollarının varlığına, genital yollarının enfeksiyonun varlığına veya varikosele bağlanmıştır. Hipoozmotik şişme testi, ölü ve hareketsiz spermleri ayırmada yardımcı olabilir. Canlı spermler ölü spermlerden farklı olarak osmotik gradienti sürdürebilirler. Bu nedenle, hipoosmotik çözelti ile karıştırıldığında, normal membran fonksiyonu olan hareketsiz sperm sıvıyı içine çektiğinde şişer ve halka şeklinde kıvrılır. Saptandıktan sonra bu canlı spermler, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu için kullanılabilirler.

Anormal sperm morfolojisi teratospermi olarak adlandırılmıştır. Yakın zamanda Kruger ve arkadaşları (1988), normal morfolojinin tanımlanması için daha kesin kriterler geliştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmalarda, IVF siklusları sırasında fertilizasyon oranları ile daha iyi ilişki gösteren, normal sperm morfolojisinin daha ayrıntılı bir nitelendirilmesini tanımladılar. Koydukları kriterlerde, sperm başının şekil ve büyüklüğü, göreceli akrozom büyüklüğünün başa oranı ile uzunluk, kıvrılma veya iki kuyruk varlığı dahil kuyruk özelliklerinin dikkatli incelenmesi gerektirir.

Antisperm antikollar erkeklerin %10 kadarında saptanabilse de semedeki antisperm antikollarının (ASA) fertilite üzerindeki etkisi hakkında tartışmalar devam etmektedir. Bu antikollar, özellikle vazektomi, testis torsiyonu, testis biyopsisi sonrasında veya kan-testis bariyerinin bozulduğu diğer klinik durumlarda yaygın olabilir (40). Günümüzde yalnızca sperm başına ya da orta kısmına bağlanan Ig G veya Ig A antikollarının fertilizasyon yeteneğinin azalmasında kritik role sahip olduğu düşünülmektedir (1).

### **2.1.3 Kadın İnfertilitesinin Tedavisi**

İnfertilite, ciddi medikal, psiko-sosyal ve ekonomik yönleri olan kompleks bir rahatsızlıktır. Yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) gelişmesi ile infertilite tedavisinde büyük atılımlar yapılmıştır.

Öncelikle infertilitenin nedeni belirlenmeli; tedavide geri döndürülebilir etyopatolojinin düzeltilmesi amaçlanmalı, geri döndürülmesi mümkün olmayan etkenler için başka tedavi alternatifleri ile infertilitenin üstesinden gelinmeye çalışılmalıdır. Ayrıca çiftlere, fertiliteyi artırıcı yaşam önerilerinde bulunulmalıdır.

Örneğin; tütün tüketiminin bırakılması, aşırı alkol ve kafein tüketiminin azaltılması, uygun koital aktivite sıklığının belirlenmesi (beklenen ovulasyon zamanında iki günde bir) gibi.

Hasta, infertilite tedavisi seçeneklerine dahil edilmelidir. Bu seçenekler 4 ana faktörü içerir.

- Etkinlik (Örn: canlı doğum oranı)
- Tedavini getirdiği sorumluluklar (Enjeksiyon ve visite sıklığı)
- Güvenlik (Örn: çoğul gebelik, ovarian hiperstimulasyon sendromu)
- Maliyet

### **2.1.3.1 Ovulatuvar Disfonksiyon**

Dünya sağlık örgütü (WHO), ovulatuvar disfonksiyonu 3 grup altında sınıflamaktadır.

- WHO sınıf 1: Hipogonadotropik hipogonadal anovulasyon en az sıklıkta bulunan gruptur. Tüm vakaların %5-%10'unda görülür. Aşırı egzersiz yapan veya düşük vücut ağılığına sahip kadınlarda olduğu gibi fonksiyonel etyoloji nedeniyle hipotalamik amenorede olan kadınlar bu gruba örnek gösterilebilir.
- WHO sınıf 2: Normogonadotropik normoöstrojenik anovulasyon en sık bulunan gruptur. Tüm vakaların %70-%85'inde görülür. PCOS bu grup içerisinde değerlendirilir.
- WHO sınıf 3: Hipergonadotropik hipoöstrojenik anovulasyon %10-%30 oranında da görülür. Primer ovaryen yetmezlik, gonadal disgenezi bu gruba örnek gösterilebilir.

Hiperprolaktinematik anovulasyon ayrı bir kategoridir. Gonadotropin konsantrasyonları bu durumda normal ya da azalmıştır.

Ovulatuvar disfonksiyon ile ilişkili olmayan oligoovulasyon genellikle ovulasyon indüksiyonu ile başarılı bir şekilde tedavi edilir. Bu hastalarda fekundabilite tedavi ile normal çiftlerdeki seviyeye getirilebilir. Bir menstrüel siklusta başarılı bir gebelik elde edilme ihtimali %15-%25 arasındadır. Yine de normal fekundabilite oranı, artmış multiple gebelik ihtimalini de yanında getirir (41).

Ovulasyon indüksiyon yöntemi seçenekleri, ovulatuar disfonksiyonun altta yatan nedeni, yöntemin etkinliği, maliyeti, riskler ve potansiyel komplikasyonlar göz önünde bulundurularak seçilmelidir.

Ovulasyon indüksiyonu seçenekleri:

- Vücut ağırlığının düzenlenmesi
- Klomifen sitrat ya da seçici östrojen receptör modulatorü (SERMs)
- Metformin ya da diğer insülin-sensite edici ajanlar
- Gonadotropin terapisi
- Aromataz inhibitörleri,
- Laparoskopik overyan cerrahi
- Bromokriptin ya da diğer dopamin agonistleri (sadece hiperprolaktinemi ve anovulasyon vakalarında)
- Yardımcı üreme teknikleri (YÜT)

Bu indüksiyon seçeneklerinin büyük çoğunluğu WHO sınıf 2 hastalarda etkindir. WHO sınıf 1 hastalar yaşam tarzı modifikasyonlarına ya da gonadotropinlere iyi cevap verirler. Bazı WHO sınıf 3 hastalar gonadotropin terapisine ve IVF tedavisine cevap verebilirler. Bu tedavilerden fayda görmeyen hastalara oosit donasyonu gerekir.

**Vücut ağırlığının düzenlenmesi:** İdeal kilosunun üzerinde veya altında olan kadınlarda ovulatuar disfonksiyona ve subfertiliteye eğilim vardır. Vücut ağırlığının düzenlenmesi fertilite ihtimalini arttırmaktadır.

**Yüksek vücut ağırlığı:** Anovulasyon nedeniyle infertil, VKİ > 27 kg/m<sup>2</sup> olan, artmış vücut ağırlığına sahip kadınlara kilo vermesi önerilir. PCOS'u bulunan obez kadınlarda, vücut ağırlığının %5-%10 oranına kaybı ovulasyonu altı ay içerisinde %55-%100 oranında geri getirmektedir (42,43,44). Obez (VKİ > 29 kg/m<sup>2</sup>) ve infertil kadınları kapsayan multisentrik 24 aylık bir çalışmada, infertilite tedavisi öncesi 6 ay yaşam değişikliği terapisi uygulanan ve direk infertilite tedavisi uygulanan kadınlar arasında tekil vajinal doğum oranları arasında bir fark bulunmazken, %26'ya %16'lık bir oranlar 6 aylık yaşam değişikliği terapisi alan kadınların spontan gebe kalmasında bir üstünlük saptanmıştır (45).

**Düşük vücut ağırlığı:** Yeme bozukluğu bulunan, yorucu egzersiz rejimleri uygulayan VKİ < 17 kg/m<sup>2</sup> olan anovulasyonu mevcut kadınlarda hipodonodotropik

hipogonadizm veya hipotalamik amenore (WHO sınıf 1) gelişebilir (46). Psikojenik stres, gonadotropin releasing hormon (GnRH) sekresyonunu bozarak, azalmış pituiter sekresyon ile azalmış ovaryen fonksiyona neden olabilir (47,48,49). Yoğun egzersiz yapan veya yeme bozukluğu olan, davranışsal terapiye cevap vermeyen hipogonadotropik hipogonadizimli hastalar GnRH terapileri ile gebe kalabilir.

#### **Ovulasyon indüksiyon ajanları:**

**Klomifen:** Klomifen sitrat, gonadotropin salınımını arttıran, agonist ve antagonistik estrojenik etkiye sahip seçici östrojen reseptör modülatörüdür (SERM). WHO sınıf 2 normogonadotropik normoöstrojenik ovulatuvar disfonksiyonu bulunan kadınlarda fertilitiyi arttıran, etkili bir ovulasyon indüksiyon yöntemidir.

**Aromataz inhibitörleri:** Klomifen sitrat tedavisi ile cevap alınamamış vakalarda, WHO sınıf 2 hastalar için aromataz inhibitörleri kullanılarak daha iyi sonuçlar alınabilir. Bu ajanların klomifen sitrata olan üstünlükleri;

- Daha az folikül gelişimi ve daha düşük östrodiol seviyeleri ile çoğul gebelik ihtimalini azaltır.
- Yarılanma ömrü klomifen sitrat a göre daha kısadır (50 saate karşın 5 gün), böylece servikal mukus ve endometriyum üzerine daha az antiöstrojenik etkiye sahiptir.

Çift kör multisentrik bir çalışmada gösterilmiştir ki, PCOS'lu kadınlarda canlı doğum oranları göz önüne alındığında letrozole, klomifen sitrata göre üstündür (50).

**Gonadotropin terapi:** Klomifen sitrat ile kıyaslandığında, gonadotropin tedavisi daha fazla çoğul gebelik riski taşır ve yakın hormonal ve sonografik değerlendirme gerektirdiğinden maliyeti daha yüksektir. Gonadotropin tedavisi, insülin-sensite edici ajanlar veya klomifen sitrat ile gebe kalamamış ovulasyonu olmayan WHO sınıf 2 normogonadotropik hastalarda, hipopituitarizmi olan amenoreik WHO sınıf 1 hastalarda ve ikincil tedavi gerektiren hipotalamik amenoreli hastalarda kullanılır.

**Metformin:** İnsülin direnci PCOS'lu hastalarda çok yaygın olarak izlenir. Metformin ile hiperinsülineminin düzeltilmesi, spontan gebelik oranlarını artırması ve menstrüal siklusları arttırması nedeniyle amoneroik PCOS'lu hastalarda fayda sağlar. Yine de klomifen sitrat ile kıyaslandığında metformin kullanımının canlı doğum oranları klomifen sitrat kadar yüksek değildir. Klinisyenlerin bir kısmı da glukoz intoleransı bulunan kadınların, ovulasyon indüksiyonunda rutin metformin kullanımına karşı çıkmaktadır (51).

**Tamoksifen:** Tamoksifen sitrat, hormonal cevaplı meme kanserinin ikincil medikal korunmasında ve PCOS'lu hastaların ovulasyon indüksiyonunda yaygın olarak kullanılan bir SERM dir. Tamoksifen, klomifen sitrata göre endometriyum ve serviks üzerinde daha az antiöstrojenik etkiye sahiptir. Yine de 4 randomize çalışmanın kullanıldığı metaanalizde bu iki medikasyon kıyaslandığında, gebelik oranlarında ve ovulasyon indüksiyonlarında eşit etkinlik tespit edilmiştir (52).

Tamoksifen, meme kanseri bulunan hastaların IVF tedavisinde, azaltılmış östrojen seviyesi avantajı sağlayarak, gonadotropinler ile birlikte ovaryen stimülasyonu için kullanılabilir (53,54).

**Laparoskopik cerrahi:** Laparoskopik ovarian drilling, PCOS'lu anovulasyonu olan hastalarda, ovulasyon indüksiyonu için kullanılan cerrahi bir tedavi yöntemidir. PCOS'lu anovulasyonu bulunan subfertil kadınları değerlendiren 6 adet randomize çalışmayı değerlendiren bir cochrane, laparoskopik ovaryen cerrahi ile 3-6 sikluluk gonodotropin ovulasyon indüksiyon tedavisinin benzer gebelik oranlarına sahip olduğu bulunmuştur (55). Laparoskopik ovaryen cerrahi uygulanmış hastalarda, çoğul gebelik oranları daha düşük saptanmıştır.

**Dopamin agonistleri:** Dopamin agonistleri (örn: bromocriptin), hiperrolaktinemi bulunan anovulasyonlu kadınlarda tedavi seçeneği olarak kullanılır.

**Yardımcı üreme teknikleri:** Diğer tedavi rejimlerinden fayda görmemiş, oligoovulasyonu bulunan hastalarda tedavi rejimi olarak yardımcı üreme teknikleri değerlendirilebilir.

WHO sınıf 3 hastalarda veya prematüre ovaryen yetmezliği bulunan hastalarda oosit donasyonu gerekebilir.

### 2.1.3.2 Tubal Faktör ve Adhezyonlar

IVF tedavisine ulaşma imkanı olmayan, bilateral distal veya proksimal tubal oklüzyonu olan hastalara cerrahi rekonstrüksiyon önerilir. Ciddi tubal hastalıkları olan (bilateral tubal hidrosalpinx, proksimal ve distal tubal oklüzyon birlikteliği, dens adezyonlar) hastalara ve ileri yaş kadınlara, tubal cerrahi tedavinin başarı şansının düşük olması nedeniyle ilk basamak tedavi olarak IVF tedavisi önerilir.

Ünilateral proksimal tubal oklüzyon başlangıç tedavisi olarak, kontrollü ovaryen hiperstimülasyon ile medikal olarak tedavi edilebilir. Retrospektif bir vaka-



kontrol çalışması göstermiştir ki, tek taraflı tubal oklüzyonu bulunan ve kontrollü ovaryen hiperstimulasyon tedavisi uygulanarak intra uterin inseminasyon (IUI) yapılmış olan hastaların gebelik oranları istatistiksel olarak, nedeni açıklanamayan infertil hastalara benzerlik göstermektedir. (%31'e karşın %43), tek taraflı mid-distal ya da distal tubal oklüzyonu bulnan hastalarda ise daha düşük gebelik oranları tespit edilmiştir (%19'a karşın %43) (56).

**Distal obstrüksiyon:** Cerrahi tedavinin en yüksek başarıya sahip olduğu tubal faktörlü infertilite tedavisi bu grup içerisinde yer almaktadır. Fimbrioplasti, fimbrial tubal adezyolizis, fimbrial striktürün dilatasyonu, neosalpingostomy, laparoskopik veya laparatomik olarak gerçekleştirilebilir.

**Proksimal obstrüksiyon:** Proksimal tubal obtriksiyon, histeroskopik veya floroskopik tubal kateterizasyon ile tedavi edilebilir. Buna ek olarak laparotomik tubokornual anastomoz da cerrahi tedavi seçeneklerinden biridir. (Laparoskopik girişimde mümkündür fakat önemli derecede tecrübe gerektirir.) Rekonstruktif proksimal tubal oklüzyon cerrahisinin etkinliği düşük olup ektopik gebelik riski oldukça yüksektir (57).

**IVF:** Tubal rekonstrüksiyon cerrahisi ile avantaj ve dezavantajları kıyaslandığında tubal faktör nedenli infertilitede önerilen bir yöntemdir.

**Tablo 2:** IVF tedavisinin tubal rekonstrüksiyon cerrahisine göre avantaj ve dezavantajları (58)

<b>IVF TEDAVİSİNİN TUBAL REKONTRÜKSİYON CERRAHİSİNE GÖRE AVANTAJ VE DEZAVANTAJLARI</b>	
<b>AVANTAJLAR</b>	<b>DEZAVANTAJLAR</b>
1-Siklus başına, infertilite tedavilerine oranla daha yüksek başarı	1-Siklus başına daha yüksek maliyet ve tekrarlayan sikluslarda tedavi gerekliliği
2-Tubal cerrahi rekonstrüksiyona göre daha az invaziv olması	2-İstenen her gebelik için IVF yapılması gerekliliği
3-Eşlik edebilecek infertilite nedenlerinin de üstesinden gelmesi (male faktör, servikal faktör, azalmış ovaryen rezerv)	3-Tekrarlayan injeksiyon ve takip gerekliliği
4-Başarısının tubal hasarın yerinden ve ciddiyetinden bağımsız olması	4-Artmış çoğul gebelik riski
	5-Artmış OHSS riski

**Hidrosalpink için salpenjektomi:** Cerrahi tedavi görmeden IVF tedavisi almış olan hidrosalpinkse sahip hastalara göre laparoskopik salpenjektomi yapılmış ve sonrasında IVF tedavisi uygulanmış hidrosalpinkli hastalarda daha yüksek başarı elde edildiğini gösteren randomize çalışmalar bulunmaktadır (59).

Hidrosalpinksin IVF tedavisi üzerinde negatif etkilerinin sebepleri:

- Embriyotoksik olması
- Endometrial reseptivitenin azalması
- Tubal sıvının mekanik olarak embriyoyu uterustan atmasıdır.

Bu hasta grubunda tubal rekonstruktif cerrahinin başarı şansı azdır. Seçilmiş hasta grubunda 35 yaş altı hastalarda, başka infertilite sebebi yoksa, hafif bir hidrosalpink varsa ve hasta kesinlikle YÜT kabul etmiyorsa denenebilir (60).

Hidrosalpink canlı doğum oranlarında %50 ye varan oranda azalmaya neden olmaktadır. Hidrosalpink ne kadar büyük ve vajinal usg ile ne kadar belirgin ise başarı o kadar azalmaktadır (61). Salpenjektomi çoğunlukla tubal ektopik gebelikler sonrasında ya da hidrosalpinksi tedavi etmek amacıyla yapılmaktadır. Ektopik gebelik tedavisinde yapıldığında tekrarlama oranını düşürmektedir. IVF den önce yapılan salpenjektomi, doğum oranlarında 2,4 kat artmaya neden olmaktadır (62). Salpenjektominin fallop tüpü ile over dokusu arasındaki kanlanmayı bozduğu için over rezervini azaltabileceği ve gonadotropinlere verilen yanıtı dolayısıyla IVF tedavisinde başarıyı azaltabileceğine dair görüşler vardır. Ancak ektopik gebelik ya da hidrosalpink sonrası yapıldığı için bu görüş tam olarak ispatlanamamıştır (63).

### **2.1.3.3 Endometriozis**

Endometrioziste embriyo kalitesi ve implantasyon oranları düşmektedir. Bazı çalışmalarda endometriosiz ile açıklanamayan infertil hastaların IVF sonuçları karşılaştırıldığında benzer bulunmuştur. Ancak bir meta-analizde ise endometriosiz ile tubal faktör karşılaştırıldığında endometriosizde fertilizasyon ve implantasyon oranları düşük bulunmuştur (64). IVF sonrası gebelik elde edilen 1026 çiftten oluşan bir kohort çalışmasında, açıklanamayan infertilite grubunda abort oranları daha düşük, daha yüksek canlı doğum, daha çok çoğul gebelik görülmüştür. Tubal faktöre ya da endometirozise göre açıklanamayan infertilitede daha iyi bir endometriyal ortam olduğu düşünülmüştür (65). Eğer multiple infertilite faktörü varsa (male faktör,

azalmış ovaryen rezerv, pelvik faktörler) endometriozisli olgularda konservatif tedavinin başarı şansının düşük olması nedeniyle IVF tedavisi önerilir.

#### 2.1.3.4 Uterin Faktör Nedenli İnfertilite

Uterin anomalilerin her zaman azalmış reprotükdif performans ile ilişkili olmamasından dolayı, uterin anomaliler her zaman cerrahi müdahale gerektirmez (66). Yine de, gebe kalmada başarısızlık ve tekrarlayan gebelik kayıplarında submüköz bir fibrom, endometrial polip, septat uterus veya intrauterin sineşi saptandığında, olası ilişkiden dolayı cerrahi müdahale gerçekleştirilmektedir.

**Leiomyom:** Leiomyom ile infertilite arasındaki ilişki tartışmalıdır. Çiftlerin infertilite nedeni, leiomyoma bağlanmadan önce diğer nedenlerin varlığını tespit etmek amacı ile ayrıntılı bir tetkike tabi tutulmalıdır. Genel olarak, myomektomi için en iyi aday olabilecek hastalar, uterin kaviteyi deforme eden intramural myoma sahip ya da submukozal myoma sahip hastalardır.

**Sineşi, uterin septum, konjenital anomaliler:** Histeroskopik rezeksiyon ile düzeltilen, intrauterin sineşi ve septat uterus infertiliteye neden olabilmektedir. (özellikle tekrarlayan gebelik kayıplarına) Randomize kontrollü çalışma bulunmamasına rağmen, iki tane retrospektif seri göstermiştir ki intrauterin sineşilerin ve uterin septumun rezeksiyonu sonrası gebelik kayıpları azalmıştır (66,67). Ciddi uterin defektlere sahip hastalar için ise taşıyıcı anne gerekmektedir.

**Endometrial polipler:** Asemptomatik endometrial polipe sahip subfertil hastalarda, polipektomi fertilitiyi arttırabilir. Subfertil kadınların değerlendirildiği randomize kontrollü çalışma göstermiştir ki, IUI tedavisi öncesi polipektomi yapılmış hastaların gebelik oranları, polipektomi yapılmadan IUI yapılmış hastalara göre artmıştır (%63'e karşın %28) (68). Bu çalışma ve diğer gözlemsel çalışmalar göstermiştir ki anormal uterin kanamalara neden olmasa bile endometrial polipler infertil kadınlarda eksize edilmelidir.

**Luteal faz defekti:** American Society of Reproductive Medicine derneğinin 2015 yılındaki komite kararına göre; luteal faz defektinin infertilite nedeni olarak kendi başına değerlendirilmesi kanıtlanamamıştır. Luteal faz defektinin tanı olarak aydınlatılmış bir tanımının olmaması bunun en büyük nedenlerinden biridir. Fertilitiyi etkileyen, persiste luteal fonksiyon ve foliküler defektler oligomenore ile

birlikte semptom gösterir. Bu hastaların infertilite tedavisinde, progesteron tedavisinden ziyade, ovulasyon indüksiyonu ile oligomenore tedavisi yapılmalıdır.

### **2.1.3.5 Servikal Faktör Nedenli İnfertilite**

Servikal faktör nedeni infertilitenin düzeltilmesi için değişik seçenekler bulunmaktadır. Beklenen ovulasyon döneminden önce egzogen östrojen kullanımı (konjuge östrojenler 0,625mg - 5,0 mg veya mikronize östrodiol 2 mg /gün) mukus üretimini artıracaktır. Mukolitik ajanlar (guaifenesin) ve sodyum bikorbonat solusyonu ile vajinal duş da önerilmektedir. Bununla birlikte, bu yöntemlerden herhangi birinin etkinliği henüz kanıtlanamamıştır (69). Servikal faktörlü infertilitenin en iyi tedavi yöntemi IUI dir. IVF ise IUI tedavisinden fayda görmeyen hastalarda ikinci basamak tedavi olarak kullanılır. Servikal faktör nedeniyle yapılacak olan IUI tedavisinde ovulasyon indüksiyon ajanlarının kullanımının gerekliliğinin gösterecek kuvvetli kanıtlar bulunmamaktadır. Randomize ve kontrollü çalışmaların gözden geçirildiği cochrane göstermiştir ki zamanlaması yapılmış cinsel birliktelik ile IUI tedavisi arasında, servikal faktörlü infertilite tedavisinde, anlamlı bir fark bulunmamıştır (70).

### **2.1.3.6 Nedeni Açıklanamayan İnfertilite**

Nedeni açıklanamayan infertilitede kapsamlı bir araştırmanın ardından infertilite etyolojisinin tam olarak ortaya konulamamasından dolayı uygulanacak olan tedavi rejimleri ampiriktir. Klomifen sitrat ile indüksiyon tedavi başlangıç tedavisi olarak kullanılabilir; başarısızlık durumunda klomifen sitrat tedavisine IUI eklenebilir. Bu tedavilerin başarısızlığı durumunda gonadotropin enjeksiyonu ile IUI ve IVF tedavisi denenmelidir.

**Tablo 3:** Nedeni açıklanamayan infertilitedeki tedavi yöntemlerinin ortalama siklus fekundabilitesi (71).

ORTALAMA SIKLUS FEKUNDABİLİTESİ	
Tedavi uygulanmamış	%1,3 - 4,1
IUI	%3,8
Klomifen	%5,6
Klomifen & IUI	%8,3
Gonadotropinler	%7,7
Gonadotropinler & IUI	%17,1
IVF	%20,7

### 2.1.3.7 Kadın İnfertilitesinin Tedavisinin Kontraendikasyonları

İnfertilite tedavisinin tek mutlak kontraendikasyonu, gebelik veya fertilitiyi artıran medikasyonlara karşı olan kontraendikasyonlardır. Etik olarak infertilite tedavisinin sınırlandırıcı başka unsurları da bulunmaktadır ve bu unsurlar tartışmalıdır. Örn: ciddi obezite, ebeveynin çocuk yetiştirme yeteneği, tütün kullanımı, alkol tüketimi (72,73,74), çiftlerin medeni durumu, cinsel yönlendirme, Human Immunodeficiency Virus (HIV) taşıyıcılığı; çiftlerin tedavi edilmesinin reddi için geçerli bir neden olamaz (75,76).

### 2.2 Kullanılan Deney Hayvanı Hakkında Genel Bilgiler (77)

Deney hayvanları içerisinde en büyük yeri tutan hayvan grubu kemirgenlerdir (rodentia). Deney hayvanlarının yaklaşık %70 - %85'ini oluştururlar. Genellikle gece aktif olan bu hayvanlar; buldukları laboratuvar ortamına kolay uyum sağlamaları, bakımlarının kolay olması, kısa sürede çok sayıda üretilibilmeleri ve fiziki yapılarının küçük olması nedeniyle biyomedikal araştırmalarda en çok tercih edilen hayvan grubudur. Kemirgenler gibi tavşanlarda (lagomorpha) biyomedikal araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Kemirgen ve tavşanlar arasındaki en büyük fark; tavşanların daha büyük olması ve büyük üst kesici dişlerinin hemen

arkasında yerleşmiş bir çift küçük kesici dişlerinin daha bulunmasıdır (78). Deneysel araştırmalarda kullanılan sıçanlar, *Rattus norvegicus*'tan köken almışlardır. Bu amaçla üretilen ilk sıçan soyu A.B.D. Philedelphia'da bulunan Wistar Enstitüsü'nde üretilmiştir. Günümüzde araştırmalarda kullanılan inbred soyların büyük bölümü Wistar Albino soyundan köken almıştır. Sıçanlar; temel tıp, farmakoloji, gıda, davranış gibi alanlarda yapılan araştırmalarda kullanılmaktadır. Genetik olarak tanımlanmış yaklaşık 400 inbred ve 50 outbred soy bulunmaktadır. Günümüzde birçok sıçan soyu, bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır. Bunlar arasında Wistar Albino, Spargue Dawley, Fischer 344 ve Long Evans en sık kullanılan soylardır. Ratların vücut ağırlığı dişilerde 250-300 gr, erkeklerde 300- 500 gr dır. Ratların yaşam süresi 2-3 yıldır. Vücut sıcaklığı 37,5-38,5 santigrat derecedir (78). Ratların puberta başlangıcından yaşlılığa kadar siklik aktivite gösteren ve mevsimsel değişikliğe uğramayan polioöstrik menstrüel siklus düzenleri vardır.

### **2.2.1 Ratlarda Davranış**

Ratlar nokturnal hayvanlar olduklarından daha çok gece ve sabaha doğru aktivite gösterirler. Gün ışığı almayan odalarda barındırılan ratların ışık-karanlık döngüleri değiştirilerek hayvanların gündüz aktif olmaları ve böylelikle araştırmacılarla aynı zamanda uyanık kalmaları sağlanabilir. Bu değişimin gerçekleşebilmesi için iki haftalık bir uyum süresi gereklidir. Soylar arasında farklılık gösterse de, genelde saldırgan olmayan, meraklı ve eğitilebilir hayvanlardır. Sık sık ele alındıklarında ve dokunulduklarında saldırganlıkları azalır. Böylelikle yeni girdikleri çevreye ve deney koşullarına daha rahat uyum sağlarlar. Uygun bir şekilde tutulmamaları, beslenme yetersizliği ve ortamdaki diğer ratların seslerini duymaları istenmeyen davranışlar sergilemelerine neden olabilir. Erkek ratlar genelde dişilerden daha saldırgandırlar. Erkek ratlar, farelerden farklı olarak bir arada tutulduklarında birbirleriyle pek kavga etmezler. Yine farelerden farklı olarak barınaklarında yalnız kalmayı severler. Grup halinde barındırılan ratlar, bireysel olanlara göre yüksek plazma kortikosteroid düzeylerine sahiptir. Küçük, karanlık ve kapalı yerleri tercih ederler. Bu tür ortamlar davranış çalışmalarında onları ödüllendirmek amacıyla kullanılabilir (79). Yeni ortamlara uyum sağlama gücü yüksek bir türdür ancak yer değiştirme durumlarında yeni koşullara alışabilmesi için 3-7 günlük bir süre tanınması gerekir (80). İnsanlar 16 Hz - 20 kHz arasındaki

frekansa sahip ses dalgalarını duyarlar. Öte yandan ratlar 250 Hz – 80 kHz arasındaki ses dalgalarına duyarlıdırlar (81). Ultrasonik ses 20 kHz üzerindeki ses dalgalarıdır. Başparmağımızı işaret parmağımıza sürttüğümüzde oluşan ses ultrasonik bir sestir ve biz bunu duyamayız. Ancak ratlar ultrasonik seslere karşı duyarlı olduklarından bizim duyamadığımız birçok sesi duyarlar. Ratlar dikromatik görüşe sahiptirler ve retinalarında mavi ve yeşil renkleri algılayan kon reseptör bulunmaktadır (82). Albino ratların görme keskinlikleri azdır ve hareket eden cisimleri iyi algılayamazlar (83). Gelişmiş bir koku duyusuna sahiptirler. Beyinde koklama duyusundan sorumlu olan bölge büyük bir yer kaplar (84).

### 2.2.2 Çevre ve Vücut Isısı

Ratlar 10 °C ile 30 °C arasındaki çevre sıcaklıklarına adapte olabilirler ancak ratlar için optimal çevre sıcaklığı 20 °C ile 26 °C arasındadır. Erkek ratların yüksek çevre sıcaklıklarına (31,6 °C - 32,5 °C) maruz kalması geri dönüşümsüz testis harabiyetine, dişilerde ise laktasyonun normal seyrinin bozulmasına neden olabilmektedir. Çevre sıcaklığının değişmesi bağışıklık sistemini de etkilemektedir. Soğuk stresi antikor üretiminde azalmaya neden olurken, sıcak stresi kortikosteroid düzeyinin artmasına, fagositik indeksin artmasına, avidite indeksinin azalmasına ve antikor cevabının azalmasına neden olabilmektedir (85). Kendi kafeslerinde rahatsız edilmediklerinde iç vücut ısıları 35 °C'ye kadar düşebilir. Kafeslerinden dışarı alındıklarında ise 41 °C'ye kadar artabilir. Bu derecelerden düşük değerler hipotermi, yüksek değerler ise ateş olarak değerlendirilebilir (86). Ortalama vücut sıcaklığı ise 35,9-37,5 °C'dir.

### 2.2.3 Işık

Barınakta uygulanan ışık şiddetinin artırılması ratlarda retina hasarı şekillenmesine neden olabilir. Albino ratlar pigmentli soylara göre retina hasarına karşı daha duyarlıdırlar (87). Kronik stres retina hasarına duyarlılığı artırmaktadır (88). Uygulanan ışık süresinin östrus siklusunun uzunluğu üzerine önemli bir etkisi vardır. Aydınlik/karanlık süresi 12 saat/12 saat olan ratlarda östrus süresi 4 gün iken, 16 saat/8 saat olan hayvanlarda östrus 5 gündür. Hayvanlar gün içerisinde 22 saat süreyle ışığa maruz bırakıldıklarında ise östrus siklusunun düzensizleştiği ve hayvanların üreyemedikleri görülmüştür. Bu nedenle hayvanlar karanlık evrede iken

ışığın açılmamasına dikkat edilmelidir. Ratların kırmızı ışığı göremedikleri söylenmektedir ancak sürekli kırmızı ışık altında tutulan ratlarda östrusun uyarıldığı tespit edilmiştir. Aydınlık/karanlık evre süresi (fotoperiyod) redoks enzim aktivitesini ve dolayısıyla ilaç metabolizmasını ve toksisitesini etkilemektedir. Timusa bağımlı antijenlere karşı gösterilen humoral ve hücrel bağışıklık da sirkadiyen bir ritim göstermektedir. Fotoperiyodun değiştirilmesi timusa bağımlı antijenlere karşı gösterilen bağışıklık yanıtının azalmasına neden olmaktadır (89).

#### **2.2.4 Barınma**

Sıçanlarda fareler gibi sert, dayanıklı ve şeffaf plastik materyalden yapılmış kafeslerde barındırılırlar. Sıçanların barındırılmasında filtreli ve bireysel havalandırılan kafesler de kullanılabilir. Özel çalışmalarda, hava akımını önlemek veya patojen mikroorganizmalar ile bulaşmayı engellemek için filtreli kapaklara sahip kafesler de bulunmaktadır. Bu tip kafeslerin dışında, patojenlerle bulaşmayı engellemek için dış ortamdan tamamen bağımsız, otomatik olarak havalandırılan kapalı sistem kafesler de kullanılır (Bireysel havalandırılan kafes, individual ventilated cage, IVC) Rat kafeslerinin taban alanları, grup halinde barındırılan sıçanlarda birey başına 250 cm<sup>2</sup>, tek başına barındırılan sıçanlarda birey başına 350 cm<sup>2</sup> olmalıdır. Sıçanlar erkeklerde dahil olmak üzere rahatlıkla gruplar halinde barındırılabilirler. Yapılan çalışma için zorunlu değil ise yalnız barındırma tercih edilmez. Altlık olarak kullanılan materyal genellikle farelerde olduğu gibi ağaç talaşdır. Kafeslere konacak rat sayısında standartlara uyulmalıdır. Sıkışık kafeslerde aşırı sıcaklığa bağlı ani ölümler şekillenebilir. Ayrıca kalabalık kafeslerde yetersiz beslenmeye bağlı cannibalismus görülme sıklığı artar. Ratlar nokturnal (gece aktif) hayvanlardır. Bu nedenle doğal gece/gündüz döngüsü bu hayvanların normal fizyolojik davranışları için çok önemlidir. Ratlar; aydınlık/karanlık döngüsü olan, iyi havalandırılmış, %60 rölatif nem oranına ve 20-24 °C ortam sıcaklığına sahip odalarda barındırılmalıdır. Bu değerler dışındaki hallerde sıçanlar strese girerler ve hastalıklara karşı duyarlı hale gelirler. Ratlar, seslere karşı çok hassastırlar. Ani gürültülere karşı yoğun tepkiler verirler. Bu nedenle ratların barındırıldığı odaların gürültüden ve titreşim yaratacak cihazlardan uzak olması sağlanmalıdır (78,90).



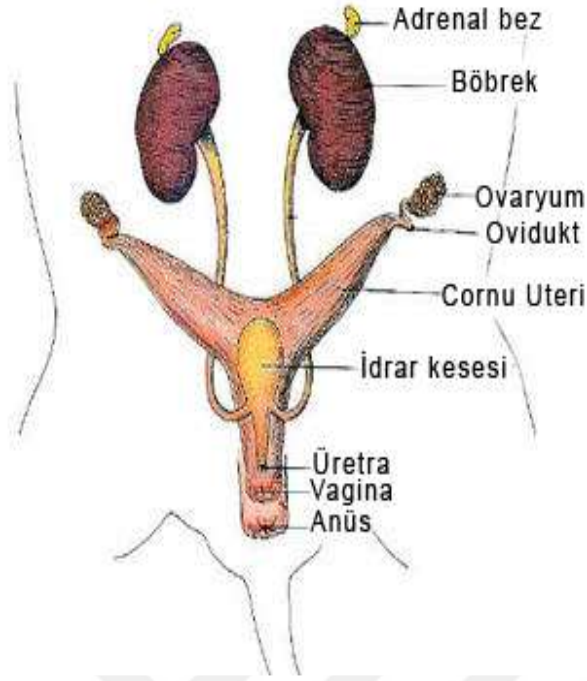
### 2.2.5 Beslenme

Ratlar, deneysel çalışmalarda farelerden sonra en çok kullanılan laboratuvar hayvanıdır. Beslenme şekilleri farelerle oldukça benzerlik gösterir. Ratlar günlük ortalama 15-25 g (100 g canlı ağırlık (CA) için 5-6 g) kadar yem yer ve 30-45 ml (100 g CA için 10-12 ml) kadar da su içerler. Farelerde olduğu gibi yem ve su ad libitum olarak sunulur. Hububat taneleri ve bazı bitki tohumlarının ezme ve kırmaları ile de beslenebilmelerine karşın genellikle ticari pelet (çapı 12-16 mm) yem en çok kullanılan yemlerdir. Ratların beslenmesinde kullanılan yemlerin %20 -22 ham protein ve 2600-2650 kcal/kg enerji, %4-5 ham yağ ve %5-7 düzeyinde ham selüloz içermesi gerekmektedir. Bazı spesifik çalışmalar için besin madde içeriği değiştirilmiş (yüksek kalorili, vitaminsiz, mineralsiz veya düşük proteinli vb.) özel yemler hazırlanıp ratlara verilebilmektedir (91,92,93,94).

### 2.2.6 Ratlarda Üreme (95)

Ratlar fusiform vücut yapısında, burun, dudaklar, kulaklar, ayakaltı ve avuç içleri hariç vücudu tipik memeli tüyleri ile kaplı rodentlerdir. Erkek ratlarda büyüme ve ossifikasyon 2 yaşına kadar devam edebilir. Dişi ratlar genellikle daha küçüktür ve hayatlarının ilk birkaç ayında olgun hale gelirler (96,97,98). Yetişkin ratlarda ovaryum foliküllerle dolu bir yapıdadır ve böbreklerin kranial kutbunda yer alırlar. Helezonik yapıdaki ovidukt, ovaryumu bikornual yapıdaki uterusu bağlar. Resim 1'de gösterilmiştir.

**Resim 1:** Dişi ratlarda ürogenital sistemin anatomisi (99)



#### **Ratlarda Reprodüktif Sistem (100)**

Genel Reprodüktif Parametreler Yavru sayısı: ortalama 10

Doğum ağırlığı: 6 g

Sütten kesme: 4 haftada

Pubertaya ulaşma: 8-10 hafta

Östrus siklus: 4-5 gün

Östrus süresi: 12-24 saat

Post partum östrus: doğumdan 24 saat sonra (fertil)

Gebelik süresi: 20-22 gün

**Tablo 4:** Ratlardaki kan sayımı normal değerleri (77)

	Minimum değer	Maksimum değer
Hemoglobin (g/dl)	11	18
Beyaz küre sayısı ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	3	17
Nötrofil (%)	9	34
Trombosit sayısı ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	500	1300

### 2.2.6.1 Cinsiyet Tayini

Ergin ratlarda cinsiyet, perineal bölgeye bakılarak kolaylıkla saptanabilir. Erkek ratlarda, anüs ile üretral açıklığın arasında belirgin olarak skrotum görülebilir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta erkek ratların testislerini abdomene çekebiliyor olmalarıdır. Bu nedenle anogenital açıklığa da bakılmalıdır. Anogenital açıklık erkek ratlarda dişilere göre daha fazladır (Resim 2).

**Resim 2:** Ratlarda cinsiyet tayini. 2 haftalık ratlarda cinsiyet tayini (Erkek-Sol, Dişi-Sağ)(A). 6 haftalık ratta cinsiyet tayini (Erkek-Sol, Dişi-Sağ)(B) (101)



### 2.2.6.2 Pubertas ve Gonadotropinler

Postnatal 6. gün itibariyle pulsatil GnRH salınımları ile birlikte LH konsantrasyonu da yavaş artışlarla yükselmekte ve en yüksek seviyeye juvenil dönemde erişmektedir (102). Pubertas başlangıcı ırklar arasında önemli farklılıklar göstermektedir. Örneğin fazla miktarda yiyecek bulunan ortamdaki ratlar ve aynı batında daha az kardeşe sahip olan ratlar daha erken pubertasa erişirler (103). İntaruterin pozisyonları iki erkek ratın arasında ters olan dişi ratlar önemli derecede geç pubertasa erişirler (104). Pubertas başlangıcını indükleyen faktör tam olarak saptanamamıştır. Erkek ratlarda pubertas descensus testis ve spermatogenesisin başlangıcı ile karakterizedir. Sperm ilk defa doğum sonrası 45. günden itibaren üretilir. Fakat optimum üretim 75. günden önce gerçekleşmez (105). GnRH hem LH hem de FSH salgılanmasını sağlayarak pubertasta testosteron hormonu üretimini artırır. LH leydig hücrelerini uyararak testosteron salınımını arttırmaktadır. Fakat erkekte FSH'nın rolü tam olarak saptanamamıştır. Pubertas öncesi yapılan

hipofizektomi, pubertal değişimleri önlemektedir. Destekleyecek şekilde hipofizektomi sonrası LH ve FSH uygulamaları spermatogenezisi uyarmaktadır (106). Dişı ratlarda pubertasın indikatörü vaginal açıklık ve ilk proöstrustur. Vaginal açıklık ilk defa 33-42. günlerde, vücut ağırlığı yaklaşık 100 gram iken meydana gelir (107). Düzenli östrus siklusları yaklaşık olarak vaginal açıklık başlangıcından itibaren bir hafta sonra meydana gelir. Gonadotropin seviyeleri ve morfolojik özelliklere göre prepubertal ovaryum gelişimi 4 döneme ayrılmıştır: Neonatal dönem (doğum-1. hafta), infantil dönem (1-3 hafta arası), jüvenil dönem (3-4.5 hafta arası) ve peripubertal dönem (jüvenil dönem sonrası 3 gün). Neonatal dönemde ovaryumlar FSH etkisi ile testosteronu östradiol-17 $\beta$ 'ya metabolize ederler. İnfantil dönemde, FSH ve LH etkinliği ile folliküler gelişim görülür (108). Jüvenil dönemde folliküller östrojen sekresyonuna başlarlar. Peripubertal dönem boyunca uterus sıvı ile doludur, folliküller büyük miktarlarda östrojen salgırlar ve gonadotropinlerdeki artış ilk ovulasyonlara neden olur. Ovaryum gelişimi gonadotropinlere, FSH, LH, GnRH, prolaktin ve büyüme hormonu (GH)'na bağlıdır. FSH seviyeleri doğumdan 12. güne kadar artar ve kademeli olarak düşer. GnRH salınımları esnasında LH konsantrasyonu yavaşça artarak yüksek seviyelere ulaşır. Hipotalamustaki GnRH doğumdan pubertasa kadar artar. Juvenil dönemde her 3 saatte bir prolaktin salınımı meydana gelir ve bu salınım ovaryumdan östradiol ve progesteron salınımını indükler (109). Büyüme hormonu, prolaktine paralel bir salınım grafiği çizer ve ovaryan steroidogenesis ile ilişkilidir.

### **2.2.6.3 Östrus Siklusu**

Rat östrus siklusu, ortalama 4-5 gün sürmektedir. Östrus siklusu laboratuvar kolonilerinde mevsimden bağımsız olarak yıl boyu sürmektedir (110). Siklus 4 dönemi kapsar. Proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus. Korpus luteum en yüksek büyüklüğüne erken diöstrus döneminde ulaşır ve en yüksek progesteron değerlerine de östrus siklusunun 2. gününde ulaşılır. Hormonal salınımlar, ön hipofizden salınan ve vaginal sitolojik değişimler şeklinde saptanabilen ovaryum ve folliküler değişimlere neden olan gonadotropinler tarafından düzenlenir. LH atımlı (pulsatile) olarak salınır ve en yüksek frekansa proöstruste, en düşüğe ise östrusta ulaşır. LH atımı (pulse) GnRH salınımının yüksekliğine bağlıdır. Proöstrus esnasında salınan LH dalgaları preovulatuvar folliküllerde (preovulatör follikül 0,9-1,0 mm çapında)

ovulasyonun meydana gelmesine ve corpora lutea şekillenmesine neden olur. İki adet preovulatuvar FSH dalgası küçük foliküllerin gelişimini stimüle eder (111,112). İlk dalga LH dalgası ile alakalı ve ikinci dalga ovulasyon sonrası inhibindeki azalma ile ilişkilidir (113,114). Rat folliküllerinde yapılan çalışmalar 17- $\alpha$ -Hidroksilaz ve aromataz mRNA düzeyinin preovulatuvar LH dalgasından önce artış gösterdiğini ortaya koymuştur (115,116). Metaöstrus boyunca, korpus luteumdan progesteron salınır. Progesteron seviyesi diöstrusta azalır ve artan östradiol-17 $\beta$ 'ya bağlı olarak folliküler gelişim tekrar başlar. Siklus, proöstrusta meydana gelen östrojen piklerinin ovulasyona neden olan gonadotropin salınımını indüklemesi ile tamamlanır. Prolaktinde luteotropik mekanizmaya katılmaktadır, şu var ki progesteron salınımını doğrudan Ratlarda 5 gün devam eden östrus siklusu, 4 günlük siklusa benzer fakat LH ve östrojen sekresyonu, luteolozis ve uterus değişiklikleri 24 saat gecikmeli olarak meydana gelir. Östrus senkronizasyonu fazla miktarda ve aynı dönemde gebe kalmış rat elde etmek için gerekli bir yöntemdir. Bu amaçla 1 litre içme suyu içerisine 200 ml. etanol ve 40 mg. Medroksiprogesteron eklenir. Bu solüsyon her gün taze olarak hazırlanıp 6 gün boyunca uygulanır. Bundan sonra 1 IU PMSG (Pregnant mare serum gonadotropin) intramüsküler olarak uygulanır ve östrus indüklenir (117).

#### **2.2.6.4 Östrus Siklusu Döneminin Saptanması**

Ratlarda reproduktif performansı arttırma amaçlı olarak östrus döneminin saptanması için birçok yöntem kullanılmaktadır. Önemli yöntemler arasında davranışsal değişimlerin gözlenmesi, vaginal sitolojik bakı, vaginanın elektrik iletkenliğinin ölçülmesi sayılabilir. Östrusun (östrus siklusunun östrus dönemi) süresi 9-15 saat sürmekte ve dişinin erkeği kabul ettiği dönem olarak tanımlanmaktadır. Bunun yanında östrustaki dişide hareket artışı, baş ve sırta vurulduğunda kulakların titretilmesi, pelvik stimülasyon sonrası lordozis hareketi (vertebral sütunda dorsifleksiyon hareketi) görülür (118). Östrus esnasında vaginal duvar kuru ve vulva ödemlidir (119). Vaginal sitolojik bakı östrus siklusu döneminin saptanmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Etkili bir saptama için vaginal sitolojik örneklerin gün boyunca aynı saatte alınması gerekmektedir. Çekirdekli süperfisiyal hücrelerle karakterize olan proöstrus dönemi yaklaşık olarak 12 saat sürmektedir (120). Proöstrus döneminde özellikle prepubertal ratlarda uterus sıvı ile doludur ve bu durum hidrometra ile karıştırılmamalıdır. Östrus döneminde; vaginal sitolojik

bakıda başlangıçta %75 çekirdekli süperfisiyal ve %25 keratinize süperfisiyal hücre saptanırken dönemin ortalarına doğru bu oran keratinize süperfisiyal hücreler lehinde değişir. Dönemin sonlarına doğru bu keratinize (kornifiye) hücreler dejenere olur ve epiteliyal bir yığıntı halini alır. Metaöstrus dönemi, ovulasyondan sonra görülür ve yaklaşık 21 saat sürer. Dönemde alınan sitolojik örneklerde çekirdekli ve kornifiye hücreler etrafında çok miktarda lökosit saptanır (Resim 3). Diöstrus, en uzun dönemdir ve 57 saat kadar sürmektedir (121). Sitolojik bakıda dominant hücre tipi lökositlerdir. Vaginal mukustaki elektriksel direncin ölçülmesi yönteminde vaginaya prob yerleştirilir. Proöstrusta direnç pik yaparken, östrusta en düşük seviyeye geriler (122).

**Resim 3:** Ratlarda seksüel siklus dönemlerine göre vaginal sitolojik görünüm (123).



#### 2.2.6.5 Ratlarda Çiftleşme - Reprodüktif Davranış

Farelerde görülen 3 reprodüktif fenomen ratlarda görülmekle birlikte çok zayıf etkiye sahiptir. Bunlar:

**Bruce Etkisi:** Ortama yeni katılan bir erkekte kaynaktan feromonlar dolayısıyla embriyo implantasyonunun gecikmesi

**Whitten Etkisi:** Ortamda erkek fare bulunduğu dişi farelerin östruslarının senkronize olması

**Lee-Boot Etkisi:** Birlikte barındırılan dişi rat gruplarında anöstrus görülmesi. (120).

Lordozis önemli bir çiftleşme davranışıdır. Östrojen ve progesteron bu refleksin meydana gelmesinde birlikte görev almakla birlikte, östrojen tek başına da bu davranışı uyarabilmektedir (124). Erkek ratlarda çiftleşme davranışı ancak testosteron varlığında meydana gelir. Kastre edilmiş ratlarda çiftleşme davranışı görülmemektedir. Erkek çiftleşme davranışlarında feromonlar da çok önemlidir (125). İşitsel uyarım, hem erkek hem de dişide reprodüktif davranışlar açısından etkilidir. Dişi ve erkek çiftleşme esnasında 50-kHz'lik bir ses çıkarırlar. Bu çağrı sesi

erkek tarafından östrustaki dişileri fark ettiğinde ve dişi tarafından erkeğin dikkatini çekme amaçlı olarak da çıkartılır. Kopulasyon, daha çok gece sabaha karşı meydana gelir (126). Erkek rat çiftleşme başlangıcında östrustaki dişi ratın genital bölgesini koklar. Uygun dönemdeki dişi rat sıçrayarak ve kulak titretme ile karşılık verir. Erkek bunun sonucunda dişinin üzerine çıkar. Çeşitli intromisyon ve ejakülasyon kombinasyonları meydana gelir. İntromisyon olmadan üzerine çıkma, üzerine çıkma ve intromisyon olup ejakülasyon olmaması ve üzerine çıkma ile birlikte intromisyon olması ve ejakülasyon ile sonuçlanmasıdır. Bir intromisyon tipik olarak 2-9 pelvik itişten meydana gelir ve yaklaşık 0.3-0.6 saniye sürer. Ejakülasyon tipik olarak 3-44 intromisyon sonucu meydana gelir. Çiftleşme, aralıklı olarak 3 saate kadar sürer. Süre boyunca 3-10 ejakülasyon meydana gelir. Çiftleşme vaginal smearde sperm varlığı, vaginal tıkacın saptanması ya da direk olarak çiftleşme davranışının gözlenmesi ile doğrulanabilir. Vaginal tıkaç farede olduğu kadar güvenilir bir yöntem değildir. Çünkü ratlarda vaginal tıkaç uzun süre ortamda bulunmaz. Vaginal smear'da sperm saptanması ile gebelik arasında %90-94 korrelasyon saptanmıştır (119). Çiftleşme zamanının saptanması için pratikte en çok kullanılan yöntem koyu renk bir kağıdın çiftleşme kafesinin altına yerleştirilmesidir. Postcoital 12-24. saatlerde vaginal tıkacın atılmasına dair bulgular koyu renkli kağıt üzerinde saptanabilir.

#### **2.2.6.6 Doğum**

Dişi ratlarda yuva yapma davranışı doğumdan yaklaşık 2-3 gün önce başlar ve laktasyon boyunca sürer (127). Dişi gebeliğin son döneminde yavruları için pamuk, kağıt mendil, talaş ve kırılmış kağıttan yuva yapar. Özellikle yavruların içine gömülebildiği malzemeler tercih edilmelidir. Bu sayede anne yavrularını emzirirken çevresel strese maruz kalmaz. Oda sıcaklığı ve altlığın yavruları sıcak tutmak için uygun olmasına dikkat edilmelidir. Yavruların üşümesi, ortamda bulunan yüksek sesler ya da yavruların ele alınması annenin yavruları reddetmesine veya öldürmesine neden olabilir (117).

### **2.2.6.7 Ratlarda İnfertilite ve Genel İnfertilite Sorunları**

Dişi ratlar 20-30 haftalık yaşa geldiklerinde üreme verimleri düşmeye başlamaktadır. Ratların üreme verimini olumsuz etkileyen diğer faktörler; aşırı gürültü, kirli kafes ve kötü bakım şartları, yuva yapma materyalinin olmaması ya da azlığı, sivri-keskin kenarlı altlık kullanımı, agalactia, organofosfat zehirlenmesi ve beslenme yetersizlikleri ve ektoparazitlerdir (128). Yüksek ısı veya nem oranı veya ışık düzeninin hep aynı kalması (12 saat ışık/12 saat karanlık) maksimal reproduktif performans için gereklidir. Ayrıca Vitamin E eksikliğide infertiliteye neden olmaktadır. Buğday taneleri E vitamini bulundururlar ve yemine sıkça konulursa bu eksiklik önlenir. Düşük protein oranı da infertiliteye neden olmaktadır. Bu yüzden adult ratlarda protein oranı %14 olmakla birlikte fertilitiyi arttırmak amacıyla %24 oranına yükseltilebilir. Genital mycoplasma da infertilite nedenlerinden biridir (129).

### **2.2.6.8 Ovariohisterektomi (Kısırlaştırma)**

Operasyona hazırlık için hayvanın arka tarafı hafifçe yükseltilerek bağırsakların öne doğru yer değiştirmesi sağlanır. Daha sonra abdominal bölge traş edilir. Daha sonra operasyon bölgesi dezenfekte edilerek steril bir örtü ile kapatılır. Linea alba üzerinde, bistüri vasıtası ile 2 cm'lik suprapubik bir ensizyon açılır. Uterus kornuları ve ovaryumların explorasyonu ve dışarı alınması kolaydır. Daha sonra ovaryumlar ve uterus, kedi ve köpeklerde uygulanan prosedür ile ligatüre edilip kesilerek dışarı alınır. Peritoneal açıklık, 3-0 yada 4-0 emilebilir bir iplikler basit ayrı olarak dikilir. Deri altı aynı tür bir iplikle sürekli olarak dikilir. Deri için ise 3-0 yada 2-0 emilemeyen iplikler ile basit ayrı dikiş tekniği uygulanır (130).

### **2.3 Koloni Stimüle Edici Faktörler (131)**

1960'lı yıllarda araştırmacı grubu (Pluznik ve Sachs, Brdaley ve Metcalf) kemik iliği progenitor hücrelerini in vitro olarak, üretebilen yarı katı kültür sistemin geliştirmişlerdir (132). Bu sayede 1970'li yıllarda insan ve sıçan hücreleri ile yapılan çalışmalar sonucu koloni stimüle edici faktörlerin (CSF) saflaştırılması mümkün olmuştur. 1984-1987 yılları arasında rekombinant DNA teknolojisinin



uygulanmasıyla bakteri, maya ve çeşitli memeli hücreleri kullanılarak bol miktarda elde edilen CSF'ler 1980'li yılların sonuna doğru klinik denemelerde kullanılmaya başlanmıştır (133).

### 2.3.1 Koloni Stimüle Edici Faktörlerin Özellikleri

Günümüzde yapılan ve etki ettikleri hedefleri açısından birbirinden farklı dört çeşit CSF elde edilmiştir. Glikoprotein yapıdaki bu maddelerde üçü tek zincirli polipeptid ünitelerden meydana gelmiştir. M-CSF ise iki eş polipeptid alt ünitesinden oluşmuş dimerdir. Sistein-Sistein disülfid köprüleriyle oluşturulan üç boyutlu konfigürasyonları biyolojik aktivite için gereklidir.

Her CSF bir gen ile kodlanır, İnsanlarda GM-CSF, M-CSF, M-CSF reseptör geni, Multi-CSF ve IL-4, IL-5 genleri 5. Kromozomun proksimal uzun kolunda bir araya toplanmışlardır. G-CSF geni ise 17. Kromozoma yerleşmiştir.

Monosit ve makrofajlar, T-lenfositleri, endotel hücreleri ve fibroblastlar CSF'lerin başlıca hücre kaynaklarıdır. Fibroblast ve endotel hücreleri M-CSF'yi yapısal sentezlediklerinden normal insan serumunda M-CSF ölçülebilir miktarda mevcuttur (134). Bu mediyatörler inflamatuvar uyarılara yanıt olarak büyük oranlarda sentezlenmeye başlanırlar (135).

**Tablo 5:** CSF'ler ve çeşitleri

CSF'ler ve ÇEŞİTLERİ				
CSF	MW	GEN LOKUS	HÜCRESEL KAYNAK	OLGUN HEDEF HÜCRE
GM-CSF	14700	5 q	T hücresi Endotel Fibroblast Monosit	Granülosit Monosit Eozinofiller
G-CSF	18600	17 q	Endotel Monosit Fibroblast	Granulosit
M-CSF	2100 (dimer)	5 q	Monosit Fibroblast Endotel	Monosit
IL-3 (Multi-CSF)	15400	5 q	T hücresi	Eozinofil Monosit Granülosit Bazofiller

CSF'ler etkilerini spesifik membran reseptörleri yoluyla gösterirler. Bu reseptörlerin afinitesi ve biyolojik aktivitesi oldukça yüksektir. CSF'ler, etki ettikleri hücreler açısından hiyerarşik bir sıra izlerler. GM-CSF ve Multi-CSF erken myeloid progenetörlerin proliferasyonu ve diferansiasyonunda etkiliyken, hücre olgunlaşmasının zayıf indükleyicisidirler. G-CSF ve M-CSF ise daha geç dönemde etkilidir, özellikle hedef hücrelerin olgunlaşmasında rol oynarlar. CSF'lerin biyolojik etkileri iç içe geçmiş durumdadır (136).

### **2.3.2 Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör (G-CSF)**

Koloni stimülasyon faktörü 3 (CSF-3) olarak da bilinen G-CSF, granülosit ve kök hücre üreten kemik iliğinden köken alan glikoproteindir (137). Yirmibeş kilodalton molekül ağırlığında 174-177 aminoasit uzunluğunda iki formu olan ekstrasellüler reseptörüne bağlanarak etki gösteren bir faktördür. Rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmektedir (138). Onkolojik ve hematolojik hastalarda tedavi sürecinde nötrojeni tedavisi amacı ile kullanılmaktadır (139).

G-CSF temel olarak kemik iliği hücreleri üzerinde etkili bir molekül olsa da osteoblastlarda, düz kas hücrelerinde, endotelial ve epitelyal hücreler başta olmak üzere birçok hücrede de reseptörü, üretimi ve etkileri gösterilmiştir (140). Desidual hücrelerde ve plasentada da G-CSF varlığı bildirilmiştir (141). G-CSF-R hücre yüzeyinde bulunan reseptördür. Bu reseptör temel olarak kemik iliği öncü hücrelerinin üzerinde bulunmaktadır. G-CSF, reseptörüne bağlandığında nötrofilik granülositler ve makrofajlarda proliferasyon ve farklılaşma başlatır (142). Luteinize granuloza hücrelerinde G-CSF ekspresyonu mevcuttur ve follikül sıvısında da G-CSF miktarını yüksek bulunmuştur (143). Follikül sıvısındaki G-CSF yüksekliğinin ovulasyonda ve sonrasında gebeliğin devamlılığında önemli olduğunu belirtilmektedir (144). G-CSF'in trofoblast büyümesinde ve plasenta metabolizması üzerinde etkileri olup, trofoblast hücre yüzeylerinde G-CSF-R saptanmıştır. Bu tespit neticesinde G-CSF'in trofoblast ve plasenta gelişiminde ve embriyo implantasyonunda etkisi olduğu düşünülmektedir (145). Erken hafta abortuslarda trofoblastlar değerlendirildiğinde G-CSF ekspresyon yetersizliği bulunmuştur (146). Gebelik semi-allogreft bir durumdur; bu nedenle gebelerde greft toleransı sağlanması önemlidir. G-CSF Th2 (T-helper2) cevabını artırır, NK hücrelerini ve mononükleer hücreleri inhibe ederek T hücre toleransını artırarak greft toleransını sağlamaktadır (147).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Hayvan Deneyi Protokolü

Çalışmamız için literatür taraması tamamlanarak, Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK) etik kurulu kararı ile onay alındıktan sonra, Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen 50 adet 250 gr – 280 gr aralığında ağırlığa sahip dişi Wistar albino ratlar deneyimize dahil edilmiştir. Deneye dahil edilen tüm hayvanlara Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda 14 saat aydınlık/ 10 saat karanlık döngüsünde, ticari pelet (çapı 12-16 mm) ve su ad libitum şeklinde verilmiştir. Deney hayvanları randomize şekilde 5 gruba ayrılmıştır. 5 grup halinde ayrılan deney hayvanlarının menstrüel siklus düzenlerinin tayin edilmesi için günlük takipleri yapıldı ve serviks uterilerinin hücresel değişiklikleri servikal sürüntü alınarak mikroskop altında incelendi. Papanicolaou boyama yöntemi kullanılarak baskın olan hücre tipi (intermediyer, bazal, superfisial, kornifiye epitelyum hücreleri v.b.), göreceli lökosit varlığı, süperfisiyel hücrelerin diğer epitelyum hücrelerine oranı, eozinofilik sitoplazma ve nükleus büzüşmesi menstrüel siklusun döneminin belirlenmesinde göz önünde bulunduruldu.

5 gruba ayrılan deney hayvanlarının grup isimlendirmesi aşağıdaki gibidir;

- **Deney grubu 1:** (Alkol+GCSF) intraruterin alkol tatbiki ile inceltilmiş endometriyuma sahip ve s.c. G-CSF tedavisi uygulanmış grup
- **Deney grubu 2:** (Alkol+ SF) intrauterin alkol tatbiki ile inceltilmiş endometriyuma sahip ve s.c. serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapılan grup
- **Deney grubu 3:** (GCSF) sadece s.c. G-CSF enjeksiyonu tatbik edilmiş grup
- **Deney grubu 4:** (SF) sadece s.c. SF enjeksiyonu tatbik edilen grup
- **Deney grubu 5:** (Kontrol) hiç bir cerrahi ve medikal işleme tabi tutulmayan kontrol grubu

### **3.1.1 Deney Grubu 1** (İntaruterin alkol tatbiki ile inceltilmiş endometriyuma sahip ve s.c. G-CSF tedavisi uygulanmış grup)

Bu grupta 10 adet 250 – 280 gram ağırlığa sahip Wistar albino ratın, menstrüel siklus fazlarının tayinine göre zamanlaması yapılarak, östrus döneminde, Ketamin 80-100 mg /kg dozunda intraperitoneal anestezi uygulanıp uygun traşlama ve batikon ile saha temizliğini takiben ventral alt segment 2 cm'lik kesi ile batınlarına girildi. Uterin hornlar batın dışarısına traksiyone edilerek, overlere en yakın yerden ipek ile bağlandı. Servikal seviyeden, uterus, ezmez klemp ile klemlenerek, hornial dolum izlenerek her iki horna 0.1 ml'lik %95 etil alkol enjeksiyonu yapıldı. 3 dakika (dk) beklenildikten sonra 0.1 ml'lik enjeksiyon her iki horna tekrarlandı, 2 dk daha beklenildikten sonra servikal klemp açıldı. Uterin hornlar batın içerisine yerleştirilerek kas tabakası ve batın ön duvarı 2-0 yuvarlak vicryl ile cilt 2-0 keskin ipek ile suture edildi. Cerrahi prosedür sonrası ratlar 4-6 saat boyunca anesteziden uyanmaları için izlendi. İki siklus boyunca beklendi. Takip eden siklus içerisinde izlem yapılarak menstrüel siklus faz tayini yapıldı ve menstrüel siklusun ilk gününden itibaren 5 gün süre ile s.c. 40 µg/kg/g G-CSF enjeksiyonu uygulandı. G-CSF enjeksiyonu toplamda 4 siklus boyunca, menstrüel siklusun ilk 5 günü tatbik edilmek üzere devam etti. G-CSF tedavisi uygulanan sikluslar bittikten sonra 1 siklus beklenerek, takip eden siklusunun östrus fazında ratlara, histerektomi operasyonu yapıldı. Çıkarılan spesmen %10 formaldehit çözeltisi içinde muhafaza edilerek, histolojik ve patolojik incelemeye alındı.

### **3.1.2 Deney Grubu 2** (İntrauterin alkol tatbiki ile inceltilmiş endometriyuma sahip ve s.c. serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapılan grup)

Bu grupta 10 adet 250 – 280 gram ağırlığa sahip Wistar albino ratın, menstrüel siklus fazlarının tayinine göre zamanlaması yapılarak, östrus döneminde, Ketamin 80-100 mg /kg dozunda intraperitoneal anestezi uygulanıp uygun traşlama ve bation ile saha temizliğini takiben ventral alt segment 2 cm'lik kesi ile batınlarına girildi. Uterin hornlar batın dışarısına traksiyone edilerek, overlere en yakın yerden ipek ile bağlandı. Servikal seviyeden, uterus, ezmez klemp ile klemlenerek, hornial dolum izlenerek her iki horna 0.1 ml'lik %95 etil alkol enjeksiyonu yapıldı. 3 dakika (dk) beklenildikten sonra 0.1 ml'lik enjeksiyon her iki horna tekrarlandı 2 dk daha

beklenildikten sonra servikal klemp açıldı. Uterin hornlar batın içerisine yerleştirilerek kas tabakası ve batın ön duvarı 2-0 yuvarlak vicryl ile cilt 2-0 keskin ipek ile suture edildi. Cerrahi prosedür sonrası ratlar 4-6 saat boyunca anesteziden uyanması için izlendiler. İki siklus boyunca beklendi. Takip eden siklus içerisinde izlem yapılarak menstrüel siklus faz tayini yapıldı ve menstrüel siklusun ilk gününden itibaren 5 gün süre ile s.c. 40 µg/kg/g SF enjeksiyonu uygulandı. SF enjeksiyonu toplamda 4 siklus boyunca, menstrüel siklusun ilk 5 günü tatbik edilmek üzere devam etti. SF tatbiki uygulanan sikluslar bittikten sonra 1 siklus beklenerek takip eden siklusunun östrus fazında ratlara, histerektomi operasyonu yapıldı. Çıkarılan spesmen %10 formaldehit çözeltisi içinde muhafaza edilerek, histolojik ve patolojik incelemeye alındı.

### **3.1.3 Deney Grubu 3 (sadece s.c. G-CSF enjeksiyonu tatbik edilmiş grup)**

Bu grupta 10 adet 250 – 280 gram ağırlığa sahip Wistar albino ratın menstrüel siklus faz tayini yapıldıktan sonra menstrüel siklusun ilk gününden itibaren 5 gün süre ile s.c. 40 µg/kg/g G-CSF enjeksiyonu uygulandı. G-CSF enjeksiyonu toplamda 4 siklus boyunca, menstrüel siklusun ilk 5 günü tatbik edilmek üzere devam etti. G-CSF tedavisi uygulanan sikluslar bittikten sonra 1 siklus beklenerek takip eden siklusunun östrus fazında ratlara, histerektomi operasyonu yapıldı. Çıkarılan spesmen %10 formaldehit çözeltisi içinde muhafaza edilerek, histolojik ve patolojik incelemeye alındı.

### **3.1.4 Deney Grubu 4 (sadece s.c. SF enjeksiyonu tatbik edilen grup)**

Bu grupta 10 adet 250 – 280 gram ağırlığa sahip Wistar albino ratın menstrüel siklus faz tayini yapıldıktan sonra menstrüel siklusun ilk gününden itibaren 5 gün süre ile s.c. 40 µg/kg/g SF enjeksiyonu uygulandı. SF enjeksiyonu toplamda 4 siklus boyunca, menstrüel siklusun ilk 5 günü tatbik edilmek üzere devam etti. SF tatbiki uygulanan sikluslar bittikten sonra 1 siklus beklenerek takip eden siklusunun östrus fazında ratlara, histerektomi operasyonu yapıldı. Çıkarılan spesmen %10 formaldehit çözeltisi içinde muhafaza edilerek, histolojik ve patolojik incelemeye alındı.

### **3.1.5 Deney Grubu 5** (hiç bir cerrahi ve medikal işleme tabi tutulmayan kontrol grubu)

Bu grupta 10 adet 250 – 280 gram ağırlığa sahip Wistar albino rata, diğer deney gruplarındaki ratlar ile birlikte eşit süre takibe alınıp, eşit koşulların sağlanması gerçekleştirilerek, diğer gruptaki ratlar ile yakın zamanlı olarak menstrüel sikluslarının östrus fazında, histerektomi operasyonu yapıldı. Çıkarılan spesmen %10 formaldehit çözeltisi içinde muhafaza edilerek, histolojik ve patolojik incelemeye alındı.

### **3.2. Ratların Kan Değerlerinin Ölçülmesi Ve Vücut Ağırlıklarının Ölçümü**

Deney öncesi homojenize bir ağırlık dağılımına sahip, ağırlıkları 250-280 gr olan ratların histerektomi ve ekssanguinasyon yöntemi ile ötenazilerinden hemen önce anestezi altında ağırlıkları ölçüldü. Ekssanguinasyon ile toplanan kan örnekleri, Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkez'inde mikrobiyoloji laboratuvarında Beckman Coulter Unicel DXH 800 Slidemarker Stainer CA USA marka tam kan sayımı cihazı ile Coulter DxH Cell Lysey, Coulter DxH Diff Pack, Coulter DxH Retic Pack, Coulter DxH Cleaner solusyonları kullanılarak hemoglobin, beyaz küre, trombosit, nötrofil sayısal değerlendirmesi açısından tetkik edildi.

### **3.3 Histopatolojik İnceleme**

Çalışma gruplarına ait uterus materyalleri %10 luk formalin solüsyonunda fikse edilerek rutin doku takip işlemi uygulandı. Histopatolojik inceleme için dokular parafine gömüldü ve bu parafin bloklardan hematoksilin-eosin (H&E) kesitler elde edildi. Uterus için hazırlanan H&E kesitler, ışık mikroskopisi (Optical microscope systems Leica DM2500, Germany) ile gruplar bilinmeksizin tarafsız patolog tarafından değerlendirildi. Her çalışma grubu için mikroskopik görüntüler (İmaging sistem, Zeiss Microscope Axio Imager.A2m, U.S) elde edildi. Endometriyum yüzey epitel kalınlığı, endometriyum kalınlığı ve total uterus kalınlığı semikantitatif olarak dijital ölçüldü. Tüm grupların endometriyum ve total uterus kalınlığı, epitel girintilerinin en düşük seviyede olduğu bölgeler dikkate alınarak her preparattan 6 alan belirlendi ve bu alanlardan ölçüm yapılarak ortalamaları saptandı.

### 3.4 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Dunn testi ile yapıldı. İki sayısal değişken arasındaki doğrusal ilişki Spearman korelasyon analizi ile incelendi ve tüm değerlendirmeler için  $p<0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Yapılan ölçümler neticesinde tüm değerler gözden geçirilmiş ve “6” numaralı rat, histopatolojik incelemede apse formasyonu ile uyumlu bulgular sahip olması ve spesmenin makroskopik görüntüsünün konglomere bir yapıda olup net bir uterus formasyonu ve histopatolojik değerlendirme sağlanamaması nedeniyle istatistiksel değerlendirmeye dahil edilmemiştir. Ratların kan değerlerinin değerlendirmesinde “43” numaralı rattan elde edilen kanın pıhtılaşması sonucunda ölçümlerin hatalı olması nedeniyle sadece kan değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi yapılırken çalışma haricinde tutulmuştur. “36” ve “41” numaralı ratların kan değerlendirmesi sırasından nötrofil değerlerinin ölçülememesi nedeniyle, gruplar arası farkın nötrofil sayısı bakımından değerlendirmesinde, istatistiksel değerlendirme dışında tutuldu.

### 4.1 Endometrium Yüzey Epitel Kalınlığı Bulguları

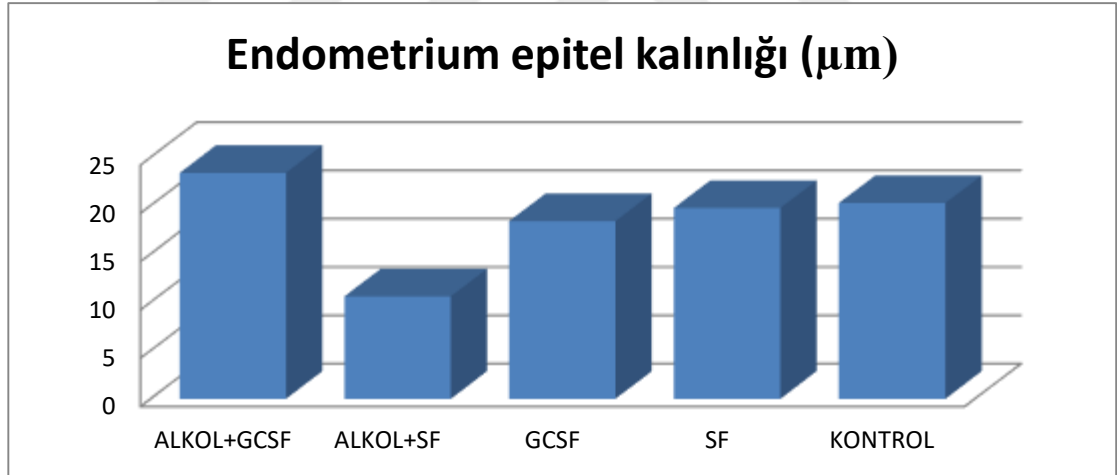
Endometriyum yüzey epitelyum kalınlığı bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Gruplara müdahil ratların endometriyum yüzey epitel kalınlıklarının aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 6’da sunulmuştur ve aritmetik ortalamalarının grafiksel değerlendirmesi Grafik 4’te gösterilmiştir. Yapılan ölçümlere ilişkin patolojik görüntüler Resim 4’te sunulmuştur.



**Tablo 6:** Endometriyum yüzey epitelyum kalınlıkları aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (mikrometre)

Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
ALKOL+GCSF	10	23,392	7,560	24,638	11,560	32,561
ALKOL+SF	9	10,602	3,237	9,058	7,586	15,635
GCSF	10	18,397	3,054	17,410	15,313	23,400
SF	10	19,748	2,946	19,239	15,610	24,876
KONTROL	10	20,267	3,618	20,065	15,750	26,053
TOTAL	49	18,642	5,994	18,741	7,586	32,561

**Grafik 4:** Gruplara göre endometriyum yüzey epitel kalınlığı aritmetik ortalamaları

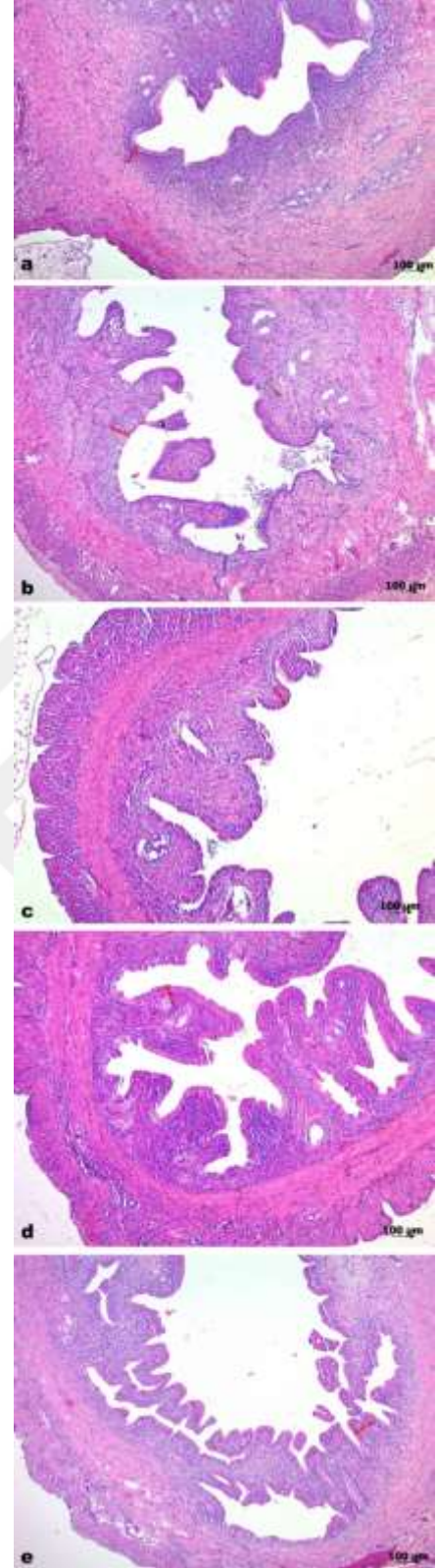


Gruplar arası ikili değerlendirme sonuçları Tablo 7’de gösterilmiştir. Grupların kendi arasındaki ikili değerlendirilmesinde "Alkol+SF" grubu ile "SF" grubu, "Kontrol" ve "GCSF" grupları karşılaştırıldığında "Alkol+SF" grubunun daha düşük bir endometriyum yüzey epitelyum kalınlık ortalamasına sahip olduğu görüldü ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olması nedeniyle ( $p<0,001$ ), uygulanan cerrahi işlem ile endometriyum yüzey epitelyum kalınlığının alkol ile inceltirmesinin başarılı olduğu tespit edildi.

"SF" grubu ile "Kontrol" grubu arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmaması nedeniyle, günlük enjeksiyon yapılması ile oluşabilecek rat üzerindeki stresin endometrium yüzey epitel kalınlığı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı görüldü ( $p=0,684$ ).

"GCSF" ve "SF" grubu kıyaslanmasında, günlük enjeksiyonun rat üzerinde oluşturabileceği stress faktörü de göz önünde bulundurularak yapılan değerlendirmede anlamlı fark bulunmaması ( $p=0,315$ ) normal endometriyum (iatrojenik olarak inceltilmemiş) üzerinde G-CSF’nin anlamlı bir fark yaratmadığını gösterdi.

"GCSF" ve "Kontrol" grubunun karşılaştırılmasında, anlamlı bir fark bulunmayarak ( $p=0,190$ ) G-CSF nin normal endometriyum (iatrojenik olarak inceltilmemiş) üzerinde anlamlı bir fark yaratmadığı görüldü.



**Resim 4:** Çalışma gruplarında kalınlığı ölçülen endometrial yüzey epiteline ait histopatolojik görünüm (H&E)  
a) Alkol+GCSF grubu, b) Alkol+SF grubu, c) GCSF grubu, d) SF grubu e) Kontrol grubu

"Alkol+GCSF" ile "SF", "Kontrol" ve "GCSF" gruplarının ikili değerlendirmesinde; istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmayarak, iatrojenik olarak inceltiymiş endometriyum yüzey epiteli üzerindeki G-CSF'nin etkinliği ve inceltiymiş endometriyum yüzey epitelini normal değerlere kadar kalınlaştırdığı gösterildi.

"Alkol+GCSF" ve "Alkol+SF" grubu arasında, "Alkol+GCSF" grubunun daha kalın endometriyum yüzey epitelyum kalınlığına sahip olduğunu kanıtlayan fark bulundu. ( $p=0,001$ ) G-CSF'nin inceltiymiş endometriyum yüzey epitelyum kalınlığını saptandı.

**Tablo 7:** Rat gruplarının, endometriyum yüzey epitelyum kalınlıklarına göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten "p" değerleri

	ALKOL+GCSF	ALKOL+SF	GCSF	SF	KONTROL
ALKOL+GCSF		0,001	0,75	0,105	0,393
ALKOL+SF	0,001		0,001*	<0,001*	<0,001*
GCSF	0,75	<0,001*		0,315	0,190
SF	0,105	<0,001*	0,315		0,684
KONTROL	0,393	<0,001*	<0,190	0,684	

(\* ile işaretli değerler istatistiki anlamlı değerlerdir.

#### 4.2 Endometrium Kalınlığı Bulguları

Endometriyum kalınlığı bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0,803$ ). Gruplara müdahil ratların endometriyum kalınlıklarının aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 8'de gösterilmiş ve yapılan ölçümlere ilişkin patolojik görüntüler Resim 5'te sunulmuştur.

**Tablo 8:** Endometriyum kalınlıklarının aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (mikrometre)

Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
Alkol+GCSF	10	569,691	287,239	591,622	238,493	855,420
Alkol+SF	9	711,218	157,863	765,233	490,152	878,335
GCSF	10	730,505	245,423	601,178	526,430	1118,320
SF	10	689,592	130,776	692,145	539,852	868,650
Kontrol	10	667,483	73,182	670,120	542,118	746,028
Total	49	672,932	195,903	691,648	238,493	1118,320

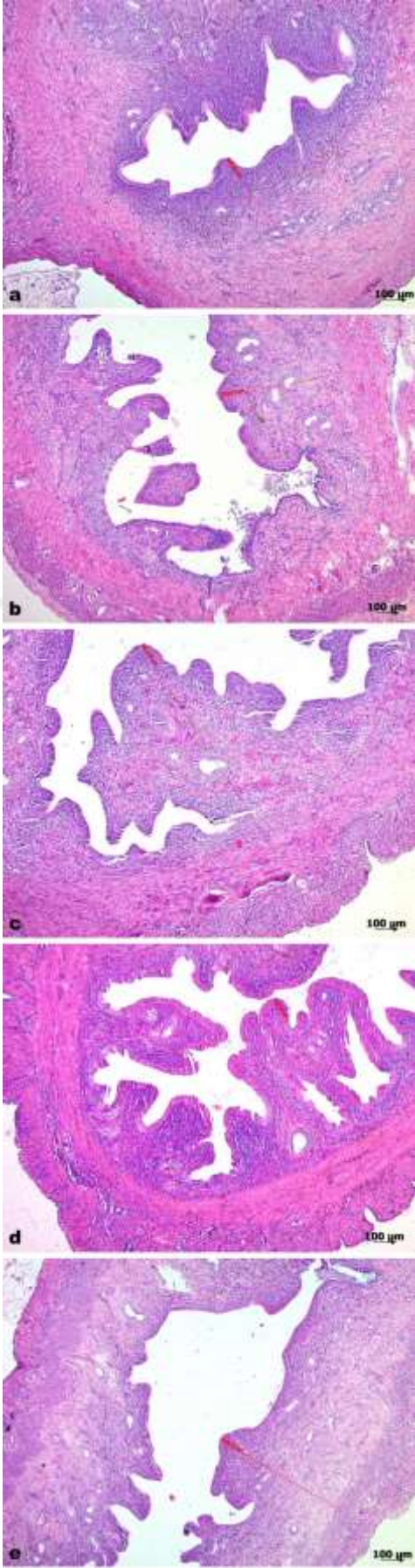
### 4.3 Uterus Kalınlığı Bulguları

Uterus kalınlığı bakımından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. ( $p=0,751$ ) Gruplara müdahil ratların uterus kalınlıklarının aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 9’da gösterilmiştir. Yapılan ölçümlere ilişkin patolojik görüntüler Resim 6’da sunulmuştur.

**Tablo 9:** Uterus kalınlıklarının aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (mikrometre)

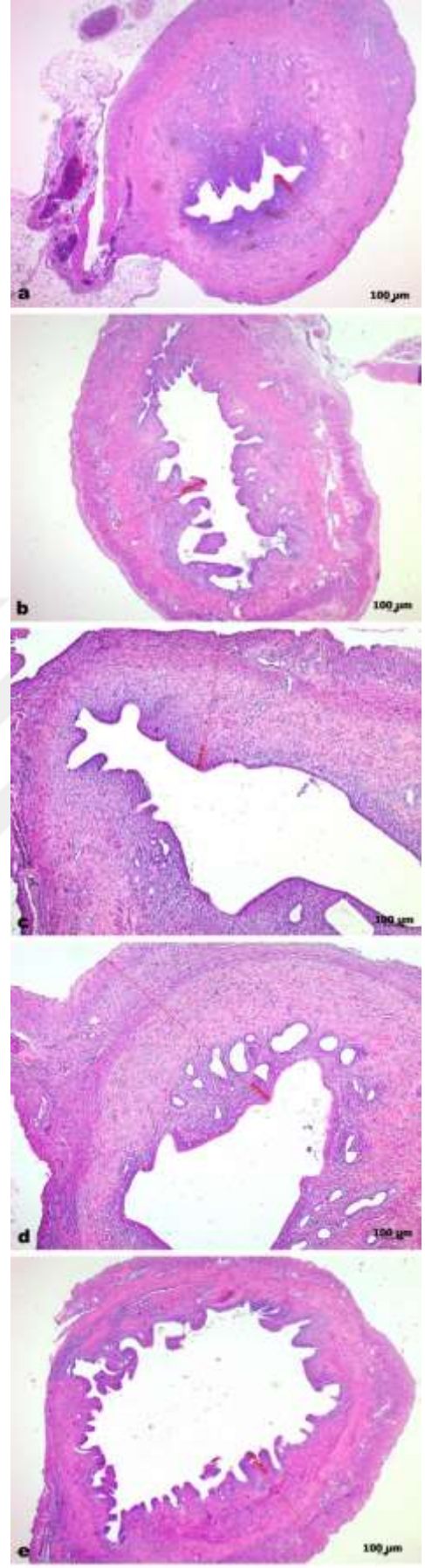
Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
Alkol+GCSF	10	986,890	200,563	977,560	773,298	1228,060
Alkol+Sf	9	1087,671	270,355	1067,715	782,082	1412,478
GCSF	10	1067,854	300,786	1087,504	739,535	1471,743
SF	10	1104,844	168,918	1165,132	850,625	1316,257
Kontrol	10	1020,761	135,897	1046,173	796,540	1196,785
Total	49	1052,909	217,851	1061,472	739,535	1471,743





**Resim 5:** Çalışma gruplarının endometriumuna ait histopatolojik görünüm ve kalınlıkları (H&E)

- a) Alkol+GCSF grubu b) Alkol+SF grubu  
c) GCSF grubu d) SF grubu e) Kontrol grubu



**Resim 6:** Çalışma gruplarının total uterus kalınlıkları (H&E)

- a) Alkol+GCSF grubu b) Alkol+SF grubu  
c) GCSF grubu d) SF grubu e) Kontrol grubu

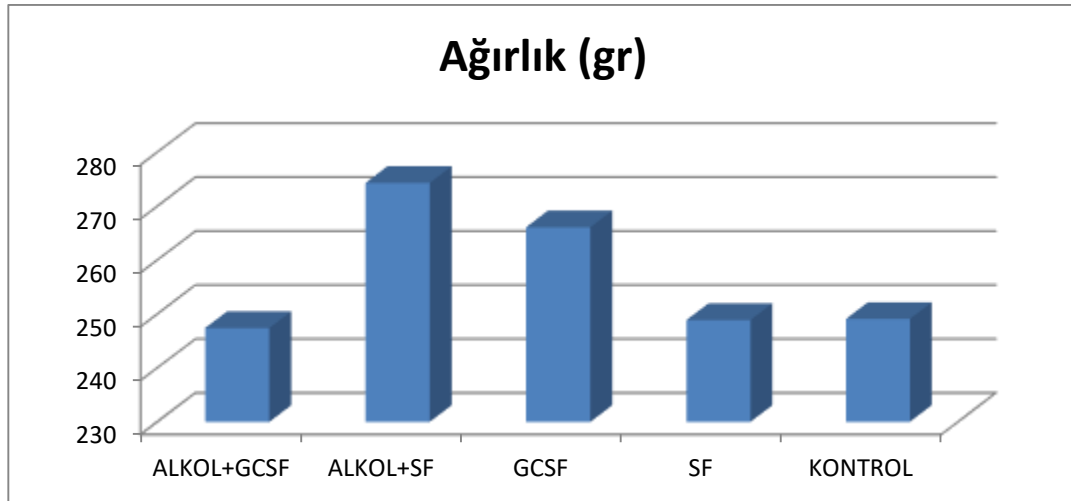
#### 4.4 Deney Bitiminde Ratların Vücut Ağırlığı Bulguları

Ratların histerektomi ve ekssanguinasyon yöntemi ile ötenazilerinden hemen önce anestezi altında vücut ağırlıkları ölçümünde gruplar arasında istatistikel anlamlı bir fark bulundu ( $p=0,002$ ). Gruplara müdahil ratların vücut ağırlıklarının aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 10’da sunulmuştur ve ve aritmetik ortalamalarının grafiksel değerlendirilmesi Grafik 5’te gösterilmiştir.

**Tablo 10:** Deney bitiminde ratların vücut ağırlıklarının aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (gram)

Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
Alkol+GCSF	10	247,40	24,391	249,00	210	280
Alkol+SF	9	274,33	9,138	274,00	263	286
GCSF	10	266,10	16,414	259,50	249	295
SF	10	248,90	14,602	248,00	249	274
Kontrol	10	249,10	11,435	247,50	231	269
Total	49	256,82	18,971	258,00	210	295

**Grafik 5:** Gruplara göre çalışma bitiminde gruptaki ratların ağırlık aritmetik ortalamaları



Gruplar arası ikili değerlendirme sonuçları Tablo 11’de gösterilmiştir. Grupların kendi arasındaki ikili değerlendirilmesinde “ sf” grubu ile “ kontrol” grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması nedeniyle ( $p=0,971$ ), günlük enjeksiyon uygulamasının ratlara yaratacağı stresin kilo kaybına yol açmadığı gösterildi.

"Alkol+GCSF" ve "Alkol+SF" gruplarının karşılaştırılmasında  $p= 0,006$  'lık değeri ile istatistiksel analiz bu iki grup arasında anlamlı bir fark olduğunu ortaya koymuştur. "Alkol+GCSF" grubundaki fareler, diğer gruptakilere kıyasla en düşük vücut ağırlığına sahiptir. Cerrahi işlem geçirmiş ratlarda, cerrahi işlemden bağımsız olarak G-CSF’ nin vücut ağırlığını azalttığı görülmüştür.

"Alkol+SF" grubu ile "Kontrol" ve "SF" grupları arasında anlamlı bir fark bulunmasına karşın ( $p=0,001$ ) "Alkol+SF" grubunun daha yüksek bir vücut ağırlık ortalamasına sahip olması, yapılan cerrahi işlemin ratların vücut ağırlığına negatif bir etki göstermediği gibi, kilo artışını veya daha az kilo kaybına neden olduğunu göstermektedir. Bu bulguyu "Alkol+GCSF" ile "GCSF" grupları arasında anlamlı bir fark olmaması da desteklemektedir ( $p=0,165$ ).

**Tablo 11:** Rat gruplarının, vücut ağırlıklarına göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri

	ALKOL+GCSF	ALKOL+SF	GCSF	SF	KONTROL
ALKOL+GCSF		0,006*	0,165	1,000	0,971
ALKOL+SF	0,006*		0,095	0,001*	0,001*
GCSF	0,165	0,095		0,019*	0,009*
SF	1,000	0,001*	0,019*		0,971
KONTROL	0,971	0,001*	0,009*	0,971	

(\*) ile işaretli değerler istatistiki anlamlı değerlerdir.

#### 4.5 Deney Bitiminde Ratların Hemoglobinin Değeri Bulguları

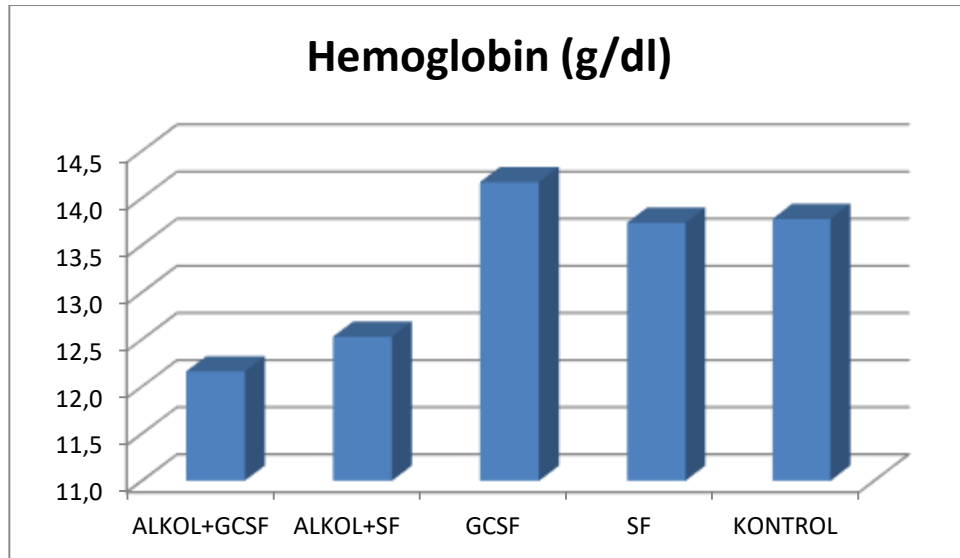
Ratların histerektomi ve ekssanguinasyon yöntemi ile ötenazilerinden hemen önce anestezi altında alınan kanlarının hemoglobinin değerlerinin ölçümünde, gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulundu ( $p=0,001$ ). Gruplara müdahil ratların

hemoglobin değerlerinin aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 12’de sunulmuştur ve aritmetik ortalamalarının grafiksel değerlendirmesi Grafik 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 12:** Deney bitiminde ratların hemoglobin değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri (g/dl)

Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
Alkol+GCSF	10	12,160	0, 529	12,000	11,500	13,000
Alkol+SF	9	12,533	1,442	12,300	10,900	14,400
GCSF	10	14,170	1,147	14,500	12,500	15,200
SF	10	13,740	1,314	13,600	12,200	15,900
Kontrol	9	13,788	0, 892	13,400	12,800	14,900
Total	48	13,283	1,327	12,900	10,900	15,900

**Grafik 6:** Deney bitiminde rat gruplarının hemoglobin değerlerinin aritmetik ortalaması





Gruplar arası ikili değerlendirme sonuçları Tablo 13'te gösterilmiştir. Günlük enjeksiyon stresinin hemogloblin değeri üzerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı "SF" ve "Kontrol" grupları arasındaki ikili karşılaştırmada görülmüştür (p=0,604). "GCSF" grubu ile "Kontrol" ve "SF" grubunun kıyaslanmasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiş olup, G-CSF'nin hemogloblin değeri üzerine bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (p=0,604; p=0,353). Cerrahi müdahale geçirmiş olan "Alkol+GCSF" grubu ile "Alkol+SF" grubu arasında anlamlı bir fark olmaması da bu durumu desteklemektedir (p=0,661).

Grup ortalaması en düşük olmakla birlikte "Alkol+GCSF" grubunun, "GCSF", "SF" ve "Kontrol" grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunması cerrahi işlemin hemogloblin değerini düşürmüş olabileceği belirtir ve "Alkol+SF" grubu ile "GCSF" ve "Kontrol" grubu arasındaki fark bu düşüncüyü desteklemektedir. ("p" değerleri Tablo 13'de sunulmuştur.)

**Tablo 13:** Rat gruplarının, hemogloblin değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten "p" değerleri

	ALKOL+GCSF	ALKOL+SF	GCSF	SF	KONTROL
ALKOL+GCSF		0,661	0,001*	0,002*	<0,001*
ALKOL+SF	0,661		0,002*	0,095	0,024*
GCSF	0,001*	0,002*		0,353	0,604
SF	0,002*	0,095	0,353		0,604
KONTROL	<0,001*	0,024*	0,604	0,604	

(\*) ile işaretli değerler istatistiki anlamlı değerlerdir.

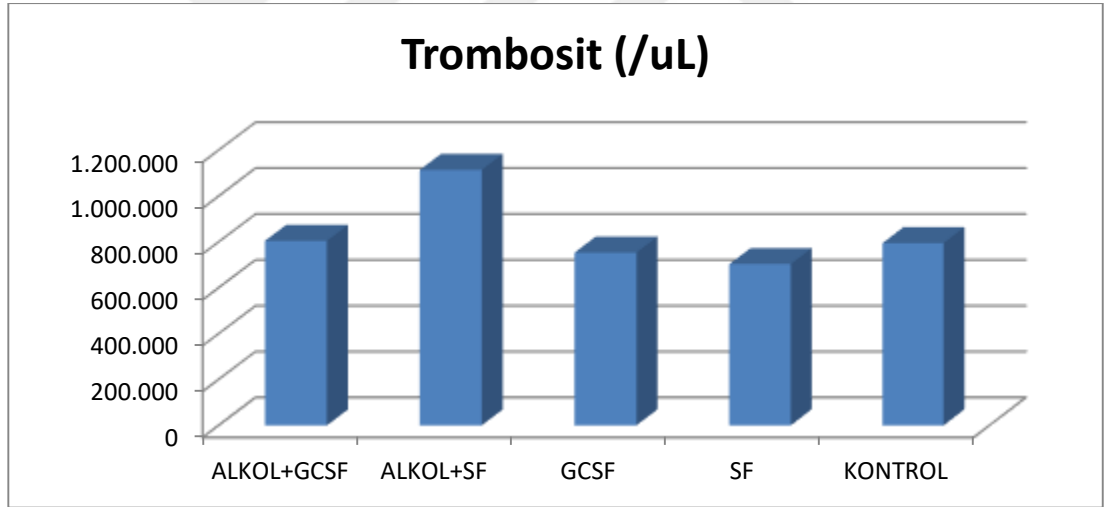
#### 4.6 Deney Bitiminde Ratların Trombosit Değeri Bulguları

Ratların histerektomi ve eksanguinasyon yöntemi ile ötenazilerinden hemen önce anestezi altında alınan kanlarının trombosit değerlerinin ölçümünde gruplar arasında istatistikel anlamlı bir fark bulundu. (p=0,001) Gruplara müdahil ratların trombosit değerlerinin aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 14'te sunulmuştur ve aritmetik ortalamalarının grafiksel değerlendirmesi Grafik 7'de gösterilmiştir.

**Tablo 14:** Deney bitiminde ratların trombosit değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri

Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
Alkol+GCSF	10	804400	326818,4	928000	343000	1107000
Alkol+SF	9	1114333,33	293160,792	1297000	708000	1327000
GCSF	10	753800	76352,69	703500	699000	870000
SF	10	703600	150513,344	719500	446000	892000
Kontrol	9	794666,67	44274,711	762000	753000	850000
Total	48	829145,83	247716,12	761000	343000	1327000

**Grafik 7:** Deney bitiminde rat gruplarının trombosit değerlerinin aritmetik ortalaması



Gruplar arası ikili değerlendirme sonuçları Tablo 15'te gösterilmiştir. "Alkol+SF" grubu ile "SF" grubu" arasında anlamlı bir fark bulunması cerrahi işlemin trombositoya neden olabileceğini gösterir ( $p=0,01$ ). Diğer ikili karşılaştırmalar anlamlı bulunmamıştır.

**Tablo 15:** Rat gruplarının, trombosit değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri

	ALKOL+GCSF	ALKOL+SF	GCSF	SF	KONTROL
ALKOL+GCSF		0,053	0,143	0,143	0,156
ALKOL+SF	0,053		0,001*	0,258	0,912
GCSF	0,143	0,001*		0,912	0,156
SF	0,143	0,258	0,912		0,053
KONTROL	0,156	0,912	0,156	0,053	

(\*) ile işaretli değerler istatistiki anlamlı değerlerdir.

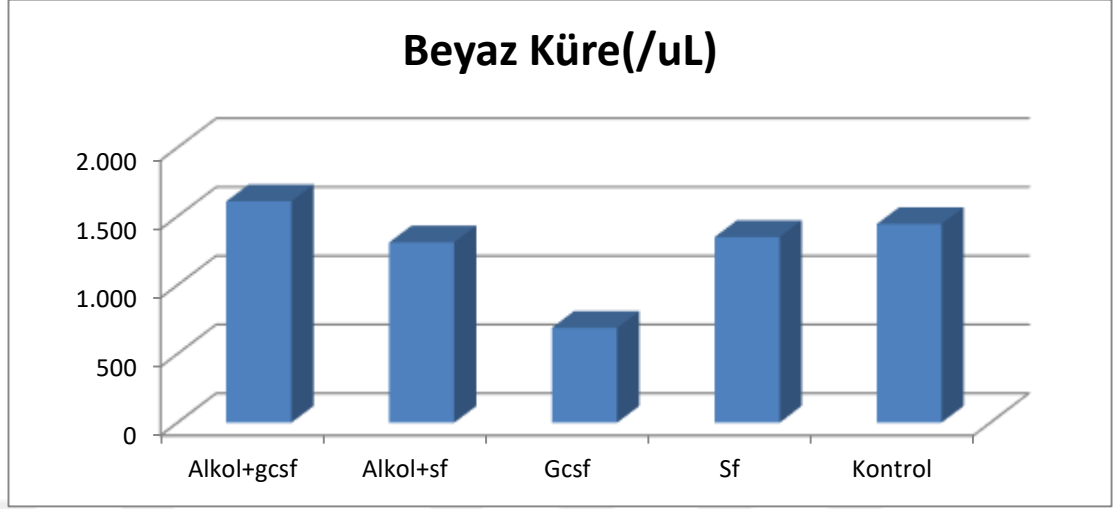
#### 4.7 Deney Bitiminde Ratların Beyaz Küre Değeri Bulguları

Ratların histerektomi ve ekssanguinasyon yöntemi ile ötenazilerinden hemen önce anestezi altında alınan kanlarının beyaz küre değerlerinin ölçümünde gruplar arasında istatistikel anlamlı bir fark bulundu ( $p < 0,001$ ). Gruplara müdahil ratların beyaz küre değerlerinin aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 16’da sunulmuştur ve aritmetik ortalamalarının grafiksel değerlendirmesi Grafik 8’de gösterilmiştir.

**Tablo 16:** Deney bitiminde ratların beyaz küre değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri

Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
Alkol+GCSF	10	1610,00	513,052	1700	900	2200
Alkol+SF	9	1311,11	325,747	1400	800	1700
GCSF	10	690,00	166,333	650	500	1000
SF	10	1350,00	414,327	1450	600	1800
Kontrol	9	1444,44	194,365	1400	1200	1800
Total	48	1277,08	465,508	1400	500	2200

**Grafik 8:** Deney bitiminde rat gruplarının beyaz küre değerlerinin aritmetik ortalaması



Gruplar arası ikili değerlendirme sonuçları Tablo 17’de gösterilmiştir. Günlük enjeksiyon stresinin, ratların beyaz küre miktarları üzerinde etkili olmadığı "SF" ile "Kontrol" gruplarının karşılaştırılması sonucunun anlamlı çıkmaması ile ortaya konmuştur ( $p=0,968$ ).

"Alkol+GCSF" grubu ile "GCSF" grubu kıyaslandığında opere edilmiş (endometriyumu dokusu iatrojenik olarak inceltilmiş) ratlarda cerrahi işlemin beyaz küre artışına neden olduğu veya beyaz küre miktarında düşüş olmasını engellediği görülmekte iken ( $p<0,001$ ); "GCSF" ile "Kontrol" ve "SF" grubu kıyaslandığında G-CSF’nin beyaz küre artışından ziyade beyaz küre miktarını düşürdüğü ortaya çıkmıştır ( $p<0,001$ ).

"Alkol+SF" grubu ile "SF" grubu arasında ve "Alkol+SF" grubu ile "Kontrol" grubu arasında anlamlı bir fark bulunmaması cerrahi işlemin beyaz küre artışına ya da beyaz küre miktarının azalmasına etkisinin olmadığını gösterir. Bu karşılaştırmalar neticesinde cerrahi işlemin, ratların beyaz küre değerleri üzerinde etkili olmadığı fakat G-CSF kullanımının beyaz küre miktarında beklenenin aksine düşüşe neden olduğu ortaya çıkmıştır.

"Alkol+GCSF" ile "SF" grubu arasında ve "Alkol+GCSF" ile "kontrol" gruplarının ikili karşılaştırmalarında birbiri ile olan ilişkisinin anlamsız olduğunu ortaya koyan "p" değerleri mevcut olup, G-CSF’nin cerrahi müdahale geçirmiş (endometriyumu dokusu iatrojenik olarak inceltilmiş) ratlarda beyaz küre düşüşüne neden olmadığı ortaya konmuştur.

Beyaz küre miktarının düşüşünün önüne geçen ana unsurun cerrahi müdahale olduğunu "Alkol+GCSF" ile "Alkol+SF" grubu arasında anlamlı bir fark bulunmaması ( $p=0,095$ ); "Alkol+SF" grubu ile "GCSF" grubu arasında "Alkol+SF" grubu lehine anlamlı bir fark bulunması destekler.

**Tablo 17:** Rat gruplarının, beyaz küre değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten “p” değerleri

	ALKOL+GCSF	ALKOL+SF	GCSF	SF	KONTROL
ALKOL+GCSF		0,095	<0,001*	0,190	0,315
ALKOL+SF	0,095		<0,001*	0,720	0,730
GCSF	<0,001*	<0,001*		0,002*	<0,001*
SF	0,190	0,720	0,002*		0,968
KONTROL	0,315	0,730	0,001*	0,968	

(\*) ile işaretli değerler istatistiki anlamlı değerlerdir.

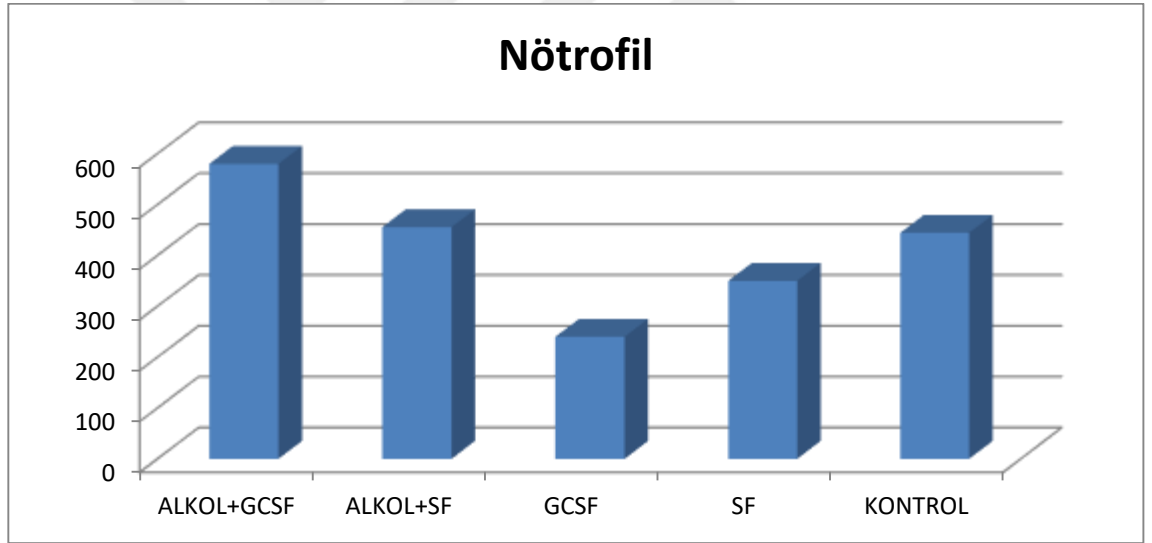
#### 4.7 Deney Bitiminde Ratların Nötrofil Değeri Bulguları

Ratların histerektomi ve eksanguinasyon yöntemi ile ötenazilerinden hemen önce anestezi altında alınan kanlarının nötrofil değerlerinin ölçümünde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulundu ( $p<0,001$ ). Gruplara müdahil ratların nötrofil değerlerinin aritmetik ortalaması, median ortalaması, standart sapması, minimum ve maksimum değerleri Tablo 18’de sunulmuştur ve aritmetik ortalamalarının grafiksel değerlendirmesi Grafik 9’da gösterilmiştir.

**Tablo 18:** Deney bitiminde ratların nötrofil değerlerinin aritmetik ve median ortalaması, minimum ve maksimum değerleri, standart sapma değerleri

Gruplar	Sayı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	Median ortalama	Minimum değer	Maksimum değer
Alkol+GCSF	10	580,00	248,551	700	200	800
Alkol+SF	9	455,56	52,705	500	400	500
GCSF	10	240,00	51,640	200	200	300
SF	8	350,00	119,523	350	200	500
Kontrol	9	444,44	52,705	400	400	500
Total	48	415,22	173,804	400	200	800

**Grafik 9:** Deney bitiminde rat gruplarının nötrofil değerlerinin aritmetik ortalaması



Gruplar arası ikili değerlendirme sonuçları Tablo 19’da gösterilmiştir. Günlük enjeksiyon stresinin, ratların nötrofil miktarları üzerinde etkili olmadığı "SF" ile "Kontrol" gruplarının karşılaştırılması sonucunun anlamlı çıkmaması ile ortaya konmuştur ( $p=0,114$ ).

"GCSF" grubu en düşük median ve aritmetik ortalamaya sahiptir ve "Kontrol" grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ). G-CSF’nin beyaz küredeki etkisine benzer şekilde beklenenin aksine nötrofil sayısında düşmeye neden olduğu görülmüştür. "GCSF" grubu ile "SF" grubu arasında anlamlı bir fark bulunmaz iken "p" değerinin 0,055 olması G-CSF’nin bu etkisine dikkat çekicidir.

"Alkol+SF" grubu ile "Kontrol" grubu arasında ve "Alkol+SF" grubu ile "SF" grubu arasında anlamlı bir istatistiksel fark bulunmaması, yapılan cerrahi müdahalenin nötrofil sayısı üzerine arttırıcı veya azaltıcı bir etkisinin olmadığını gösterir.

"Alkol+GCSF" grubu ile "SF" ve "Kontrol" gruplarının arasındaki farkın istatistiki olarak anlamlı değerlendirilmemesi G-CSF'nin nötrofiller üzerindeki azaltıcı etkisinin cerrahi müdahale ile nötralize edilmiş olabileceğini ortaya çıkarır. Bu durum beyaz küreler üzerindeki etkisine benzerdir. Bu kanaati " Alkol+GCSF" ile "Alkol+SF" grupları arasında anlamlı fark bulunmaması da destekler.

"GCSF" grubu ile "Alkol+GCSF" ve "Alkol+SF" gruplarının karşılaştırılmasındaki anlamlı fark G-CSF'nin beyaz küredeki etkisine benzer şekilde beklenenin aksine nötrofil sayısında düşmeye neden olduğu belirtir.

**Tablo 19:** Rat gruplarının, nötrofil değerlerine göre, ikili istatistiki değerlendirme sonrası aralarındaki farkın anlamlılığını belirten "p" değerleri

	ALKOL+GCSF	ALKOL+SF	GCSF	SF	KONTROL
ALKOL+GCSF		0,156	0,009*	0,068	0,156
ALKOL+SF	0,156		<0,001*	0,074	0,730
GCSF	0,009*	<0,001*		0,055	<0,001*
SF	0,068	0,074	0,055		0,114
KONTROL	0,156	0,730	<0,001*	0,114	

(\*) ile işaretli değerler istatistiki anlamlı değerlerdir.

#### 4.8 Korelasyon Analizi Bulguları

Rat gruplarının her biri için bakılan ve değerlendirilen parametreler arasında korelasyon varlığı sorgulandı. Bu değerlendirmelerin sonucu her bir rat grubu için ayrı ayrı ele alınmıştır.

#### 4.8.1 Grup 1- “Alkol+GCSF”- Korelasyon Değerlendirmesi

Cerrahi müdehale ile endometriyum dokusu iatrojenik olarak inceltiymiş olan rat grubundaki değerlendirmede bakılan parametreler arasından endometriyum kalınlığı ile uterus kalınlığı arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur ( $p=0,013$ ;  $r=0,745$ ). Diğer parametreler arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Parametreler arası “r” değerleri Tablo 20’de gösterilmiştir.

#### 4.8.2 Grup 2- “Alkol+SF”- Korelasyon Değerlendirmesi

Cerrahi müdehale ile iatrojenik olarak endometriyumu inceltiymiş olan ve SF enjeksiyonu yapılan rat grubunda, endometriyum yüzey epitel kalınlığı ile ratların ağırlıkları arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon olduğu görülmüş ( $p=0,001$ ;  $r:0,90$ ) olup yine aynı şekilde kuvvetli pozitif ilişki hemoglobin değerleri ile endometriyum kalınlığı ( $p=0,001$ ;  $r=0,90$ ) ve uterus kalınlığı ( $p<0,001$ ;  $r=0,983$ ) arasında tespit edilmiştir. Grup 1 korelasyon analizi ile aynı paralellikte endometriyum kalınlığı ile uterus kalınlığı arasında pozitif kuvvetli bir ilişki grlmştir ( $p=0,001$ ;  $r=0,917$ ). Parametreler arası “r” değerleri Tablo 21’de gösterilmiştir.

#### 4.8.3 Grup 3- “GCSF”- Korelasyon Değerlendirmesi

Cerrahi müdehale ile iatrojenik olarak endometriyumu inceltilmemiş olan ve G-CSF enjeksiyonu yapılan rat grubunda, Grup 1 ve Grup 2 korelasyon analizi ile aynı paralellikte; endometriyum kalınlığı ile uterus kalınlığı arasında pozitif kuvvetli bir ilişki grlmştir ( $p<0,001$ ;  $r=0,903$ ). Endometriyum epitel kalınlığı ile uterus kalınlığı arasında da pozitif yönde ilişki mevcuttur ( $p=0,025$ ;  $r=0,697$ ). Beyaz küre ile endometriyum epitel kalınlığı ( $p=0,006$ ;  $r=-0,796$ ) ve rat ağırlıkları ( $p=0,025$ ;  $r=-0,698$ ) arasında negatif bir ilişki saptanmıştır. Beklenildiği zere G-CSF uygulanan grupta beyaz küre ile nötrofiller arasında pozitif kuvvetli ilişki mevcuttur ( $p=0,018$ ;  $r=0,724$ ). Rat ağırlıkları ile nötrofiller arasında ise kuvvetli negatif ilişki tespit edilmiştir ( $p=0,021$ ;  $r=-0,711$ ). Parametreler arası “r” değerleri Tablo 22’de gösterilmiştir.



#### 4.8.4 Grup 4- “SF”- Korelasyon Değerlendirmesi

Cerrahi müdehale ile iatrojenik olarak endometriyumu inceltilmemiş olan ve SF enjeksiyonu yapılan rat grubunda, Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 korelasyon analizi ile aynı paralellikte endometriyum kalınlığı ile uterus kalınlığı arasında pozitif kuvvetli bir ilişki görülmüştür ( $p<0,001$ ;  $r=0,952$ ). Endometriyum epitel kalınlığı ile endometrium kalınlığı arasında da negatif yönde ilişki mevcuttur ( $p=0,038$ ;  $r=-0,661$ ). Beyaz küre ile endometriyum kalınlığı ( $p<0,001$ ;  $r=0,924$ ) ve uterus kalınlığı ( $p<0,001$ ;  $r=0,912$ ) arasında kuvvetli pozitif ilişki tespit edilmiştir. Parametreler arası “r” değerleri Tablo 23’de gösterilmiştir.

#### 4.8.5 Grup 5- “Kontrol”- Korelasyon Değerlendirmesi

Kontrol grubunda, sadece beyaz küre ile hemoglobin değeri arasında negatif bir ilişki tespit edilmiştir. Diğer parametreler arası korelasyon bulunmamaktadır ( $p=0,22$ ;  $r=-0,744$ ).



**Tablo 20:** Grup 1 için korelasyon analizi verileri

	Endometriyum epitel kalınlıkları	Endometriyum kalınlığı	Uterus kalınlığı	Ratlama ağırlıkları	Hg	PLT	WBC	NE
Endometriyum epitel kalınlıkları	r p N	0,527 0,117 10	-0,091 0,803 10	-0,555 0,096 10	0,231 0,521 10	-0,091 0,803 10	-0,147 0,686 10	-0,081 0,824 10
Endometriyum kalınlığı	r p N	0,527 0,117 10	<b>,745*</b> <b>,013</b> <b>10</b>	-0,128 0,724 10	0,225 0,532 10	0,406 0,244 10	0,165 0,648 10	0,405 0,245 10
Uterus kalınlığı	r p N	-0,091 0,803 10	<b>0,745*</b> <b>0,013</b> <b>10</b>	0,268 0,454 10	0,170 0,638 10	0,358 0,310 10	0,422 0,224 10	0,567 0,087 10
Ratlama ağırlıkları	r p N	-0,555 0,096 10	-0,128 0,724 10	0,268 0,454 10	0,278 0,436 10	-0,122 0,737 10	-0,129 0,722 10	-0,304 0,393 10
Hg	r p N	0,231 0,521 10	0,225 0,532 10	0,170 0,638 10	0,278 0,436 10	-0,456 0,185 10	0,433 0,212 10	-0,156 0,666 10
PLT	r p N	-0,091 0,803 10	0,406 0,244 10	0,358 0,310 10	-0,122 0,737 10	0,049 0,893 10	0,598 0,068 10	0,598 0,068 10
WBC	r p N	-0,147 0,686 10	0,165 0,648 10	0,422 0,224 10	0,433 0,212 10	0,049 0,893 10	0,604 0,064 10	0,604 0,064 10
NE	r p N	-0,081 0,824 10	0,405 0,245 10	0,567 0,087 10	-0,304 0,393 10	0,598 0,068 10	0,604 0,064 10	0,604 0,064 10

**Tablo 21:** Grup 2 için korelasyon analizi verileri

	Endometriyum epitel kalmıkları	Endometriyum kalmıglı	Uterus kalmıglı	Ratlarm ağırlıkları	Hg	PLT	WBC	NE
Endometriyum epitel kalmıkları	r p N	-0,533 0,139 9	-0,617 0,077 9	<b>0,900**</b> <b>0,001</b> 9	-0,583 0,099 9	0,033 0,932 9	-0,420 0,260 9	-0,346 0,361 9
Endometriyum kalmıglı	r p N	-0,533 0,139 9	<b>0,917**</b> <b>0,001</b> 9	-0,417 0,265 9	<b>0,900**</b> <b>0,001</b> 9	-0,117 0,765 9	-0,471 0,201 9	-0,087 0,825 9
Uterus kalmıglı	r p N	-0,617 0,077 9	<b>0,917**</b> <b>0,001</b> 9	-0,467 0,205 9	<b>0,983**</b> <b>0,000</b> 9	-0,283 0,460 9	-0,387 0,304 9	0,000 1,000 9
Ratlarm ağırlıkları	r p N	<b>0,900**</b> <b>0,001</b> 9	-0,417 0,265 9	-0,467 0,205 9	-0,483 0,187 9	-0,067 0,865 9	-0,445 0,230 9	-0,606 0,084 9
Hg	r p N	-0,583 0,099 9	<b>0,983**</b> <b>0,001</b> 9	-0,483 0,187 9	-0,200 0,606 9	-0,370 0,327 9	0,087 0,825 9	0,087 0,825 9
PLT	r p N	0,033 0,932 9	-0,117 0,765 9	-0,067 0,865 9	-0,200 0,606 9	-0,370 0,327 9	0,378 0,316 9	0,433 0,244 9
WBC	r p N	-0,420 0,260 9	-0,471 0,201 9	-0,445 0,230 9	-0,370 0,327 9	0,378 0,316 9	0,524 0,148 9	0,524 0,148 9
NE	r p N	-0,346 0,361 9	-0,087 0,825 9	-0,606 0,084 9	0,087 0,825 9	0,433 0,244 9	0,524 0,148 9	0,524 0,148 9

**Tablo 22:** Grup 3 için korelasyon analizi verileri

	Endometrium epitel kalmıkları	Endometrium kalmığı	Uterus kalmığı	Radların ağırlıkları	Hg	PLT	WBC	NE
Endometrium epitel kalmıkları	r	0,503	<b>0,697*</b>	0,576	-0,123	-0,139	<b>-0,796**</b>	-0,497
	p	,138	<b>0,025</b>	0,082	0,736	0,701	<b>0,006</b>	0,143
	N	10	<b>10</b>	10	10	10	<b>10</b>	10
endometriumkalmığı	r	0,503	<b>0,903**</b>	-0,285	0,356	-0,079	-0,148	0,213
	p	,138	<b>0,000</b>	0,425	0,313	0,829	0,683	0,554
	N	10	<b>10</b>	10	10	10	10	10
uteruskalmığı	r	<b>0,697*</b>	<b>0,903**</b>	-0,091	0,307	0,115	-0,210	0,071
	p	<b>0,025</b>	<b>0,000</b>	0,803	0,389	0,751	0,561	0,845
	N	<b>10</b>	<b>10</b>	10	10	10	10	10
radlarmıkları	r	0,576	-0,285	-0,091	-0,405	-0,224	<b>-0,698*</b>	<b>-0,711*</b>
	p	0,082	0,425	0,803	0,246	0,533	<b>0,025</b>	<b>0,021</b>
	N	10	10	10	10	10	<b>10</b>	<b>10</b>
Hg	r	-0,123	0,356	0,307	-0,405	-0,325	0,322	0,396
	p	0,736	0,313	0,389	0,246	0,559	0,364	0,258
	N	10	10	10	10	10	10	10
PLT	r	-0,139	-0,079	0,115	-0,224		0,469	0,071
	p	0,701	0,829	0,751	0,533		0,171	0,845
	N	10	10	10	10		10	10
WBC	r	<b>-0,796**</b>	-0,148	-0,210	<b>-0,698*</b>	0,322		<b>0,724*</b>
	p	<b>0,006</b>	0,683	0,561	<b>0,025</b>	0,364		<b>0,018</b>
	N	<b>10</b>	10	10	<b>10</b>	10		<b>10</b>
NE	r	-0,497	0,213	0,071	-0,711*	0,071	<b>0,724*</b>	
	p	0,143	0,554	0,845	<b>0,021</b>	0,845	<b>0,018</b>	
	N	10	10	10	<b>10</b>	10	<b>10</b>	

**Tablo 23:** Grup 4 için korelasyon analizi verileri

	Endometrium epitel kalınlıkları	Endometrium kalınlığı	Uterus kalınlığı	Ratların ağırlıkları	Hg	PLT	WBC	NE
Endometrium epitel kalınlıkları	r	<b>-0,661*</b>	-0,624	-0,310	-0,219	0,285	-0,578	-0,195
	p	<b>0,038</b>	0,054	0,383	0,544	0,425	0,080	0,643
	N	<b>10</b>	10	10	10	10	10	8
Endometrium kalınlığı	r	<b>-0,661*</b>	<b>0,952**</b>	0,061	0,511	-0,467	<b>0,924**</b>	0,683
	p	<b>0,038</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,132	0,174	<b>0,000</b>	0,062
	N	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	10	10	<b>10</b>	8
Uterus kalınlığı	r	-0,624	<b>0,952**</b>	0,006	0,413	-0,394	<b>0,912**</b>	0,586
	p	0,054	<b>0,000</b>	0,987	0,235	0,260	<b>0,000</b>	0,127
	N	10	<b>10</b>	10	10	10	<b>10</b>	8
Ratların ağırlıkları	r	-0,310	0,061	0,006	0,299	-0,249	-0,280	-0,368
	p	0,383	0,868	0,987	0,402	0,487	0,432	0,370
	N	10	10	10	10	10	10	8
Hg	r	-0,219	0,511	0,413	0,299	-0,103	0,262	-0,147
	p	0,544	0,132	0,235	0,402	0,776	0,464	0,728
	N	10	10	10	10	10	10	8
PLT	r	0,285	-0,467	-0,394	-0,103		-0,432	-0,098
	p	0,425	0,174	0,260	0,776		0,213	0,818
	N	10	10	10	10		10	8
WBC	r	-0,578	<b>0,924**</b>	<b>0,912**</b>	0,262	-0,432		0,683
	p	0,080	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,464	0,213		0,062
	N	10	<b>10</b>	<b>10</b>	10	10		8
NE	r	-0,195	0,683	0,586	-0,147	-0,098	0,683	
	p	0,643	0,062	0,127	0,728	0,818	0,062	
	N	8	8	8	8	8	8	8

**Tablo 24:** Grup 5 için korelasyon analizi verileri

	Endometrium epitel kalmıkları	Endometrium kalmığı	Uterus kalmığı	Radların ağırlıkları	Hg	PLT	WBC	NE
Endometrium epitel kalmıkları	r	-0,576	0,224	0,515	-0,276	0,033	0,366	0,087
	p	0,082	0,533	0,128	0,472	0,932	0,333	0,825
	N	10	10	10	9	9	9	9
Endometrium kalmığı	r	-0,576	0,127	0,236	0,636	0,283	-0,511	0,346
	p	0,082	0,726	0,511	0,066	0,460	0,160	0,361
	N	10	10	10	9	9	9	9
Uterus kalmığı	r	0,224	0,127	0,527	-0,218	0,483	-0,026	-0,260
	p	0,533	0,726	0,117	0,574	0,187	0,948	0,500
	N	10	10	10	9	9	9	9
Radların ağırlıkları	r	0,515	0,236	0,527	0,285	0,250	-0,323	0,173
	p	0,128	0,511	0,117	0,458	0,516	0,396	0,656
	N	10	10	10	9	9	9	9
Hg	r	-0,276	0,636	-0,218	0,285	0,502	-0,744*	0,565
	p	0,472	0,066	0,574	0,458	0,168	0,022	0,113
	N	9	9	9	9	9	9	9
PLT	r	0,033	0,283	0,483	0,502		-0,289	0,000
	p	0,932	0,460	0,187	0,168		0,450	1,000
	N	9	9	9	9		9	9
WBC	r	0,366	-0,511	-0,026	-0,744*	-0,289		-0,310
	p	0,333	0,160	0,948	0,022	0,450		0,417
	N	9	9	9	9	9		9
NE	r	0,087	0,346	-0,260	0,173	0,000	-0,310	
	p	0,825	0,361	0,500	0,656	1,000	0,417	
	N	9	9	9	9	9	9	

## 5. TARTIŞMA

Birçok çalışmanın ortak bulgusu, ince endometriyumun düşük implantasyon bulguları ile ilişkili olduğudur (148,149,150). İnce endometriyumun tedavi edilmesi ve implantasyon oranları ile birlikte gebelik oranlarının artırılmaya çalışılması zorlayıcı bir protokoldür. Türlü tedavi rejimleri denenmiş olup (düşük doz asetilsalisilik asit, östrojen replasmanı, E vitamini v.b.) bunlara yönelik çalışmalar literatüre kazandırılmıştır. Genel olarak ise ince endometriyum oluşmasının nedenine yönelik görüşler, endometrial büyümenin normal sürecinin kesintiye uğraması veya bu kaskat üzerinde bir patolojinin mevcut olmasına bağlı olduğudur. İnce endometriyuma sahip hastalarda endometrial büyümenin patolojik olmasına yönelik sınırlı bilgi bulunmaktadır. Türlü etyopatogenezler araştırılmış ve çalışmalarda ele alınmıştır. Bunlardan bir tanesi endometrial kan akımı ve anjiyogezisdir. Ichiro Miwa ve ark. yaptığı çalışma buna örnektir. Normal menstrüel sıklusa sahip (26-35 gün), 23-44 yaşları arasında 96 infertilite öyküsü bulunan kadın üzerinde yapılmış olan ve midluteal estrodiol (E<sub>2</sub>) – progesteron (P) değerleri, uterin arter direnç indeksi (RI) ve radial arter RI değeri ile endometrial biyopsilerini değerlendiren çalışmada, kadınlar endometrial kalınlıklarına göre 8mm ve üzeri, 8 mm' nin altında olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Midluteal fazdaki radial arter ve uterin arter direnci ince endometriyuma sahip grupta daha yüksek bulunmuştur. Yaş ise bu direnç değeri ile doğrusal ilişkili olarak tespit edilmiş, E<sub>2</sub> ve P değerleri ise her iki grup arasında belirgin farklılık göstermemiştir. Endometrial patolojik incelemede ise glandüler endometrial hücre bölgesi, normal endometriyum kalınlığına sahip gruba göre belirgin ince saptanmıştır. İnce endometriyuma sahip grupta kan damarı sayısı ise belirgin bir azlık göstermiştir. Bu sonuç gösterir ki, glandüler epitel hücre kalınlığı, epitel kalınlığı ile yakın ilişkili olup vasküler gelişim bozukluğu ince endometriyuma sahip grupta belirgindir. Bu bulgular, ince endometriyuma sahip gruptaki endometrial biyopsilerinde düşük miktarda VEGF bulunması ile desteklenmiştir (151). Chien LW ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada; endometrial kan akımı ile IVF sikluslarında gebelik oranlarının ilişkili olduğunu gösterir. Dört yüz yetmiş yedi vakanın subendometrial kan akımı tetkik edilen çalışmada gebelik oranları ve implantasyon oranları subendometrial kan akımının mevcut olduğu grupta istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde farklı ve yüksek bulunmuştur (152).

Yapmış olduğumuz hayvan deneyi modellen G-CSF'nin endometrial kalınlığa etkisini araştıran çalışmada; G-CSF'nin endometrial epitel kalınlığını arttırdığı görülmüş olup, endometrial toplam kalınlığı etkilemediği görülmüştür. Bir implantasyon ve gebelik modeli oluşturulmamış olan, fertilitte öyküsü bulunmayıp iatrojenik olarak ince endometriyum modeli oluşturulmuş olan çalışmamızda bu epitelyum kalınlığının G-CSF tarafından arttırılması G-CSF'nin vaskularizasyonu arttırmış olabileceği ve glandüler epitelyum kalınlığını arttırmış olabileceği ile ilişkilendirilebilir.

Endometrial kalınlığın, endometrial kan akımı ile ilişkisini araştıran bir diğer çalışma ise Takasaki ve ark. tarafından yapılan 56 adet herhangi başka bir hastalığı bulunmayan, tütün kullanımı, myoma uterisi, adenomyozisi ve ek ilaç kullanımı bulunmayan, normal menstrüel siklus düzenine sahip (26-35 gün), 23 ile 44 yaşları arasında, endometrial kalınlığı <8mm olan ve radial arter direnç indeksi (RA-RI  $\geq 0,81$ ) yüksek olan infertil kadın üzerinde E vitamini, sildenafil sitrat ve L-arginin tedavilerinin etkisini araştıran çalışmadır. Endometrial kalınlık, radial arter direnci ve endometrial biyopsiler bu çalışmada değerlendirilmiştir. 25 hastaya verilen günlük 600 mg E vitaminin önceki sikluslar ile karşılaştırıldığında endometrial kalınlığı arttırdığı ve RA-RI'yı düşürdüğü istatistiki olarak kanıtlanmıştır. Ayrıca E vitaminin endometrial biyopsi spesmenlerinde VEGF miktarının arttırdığı tespit edilmiştir. 12 hastaya verilen intravajinal sildenafil sitratın yine aynı paralellikte endometrial kalınlığı arttırdığı ve RA-RI indeksini düşürdüğü saptanmıştır. Dokuz hastaya uygulanan günlük 6 gramlık L-arginin tedavisi ise deneyin diğer ajanları ile aynı sonucu göstermiştir (153). Bu çalışmayı destekleyici ve aynı doğrultuda sonuçlar veren birçok çalışma vardır (154,155). Sildenafil sitratın vazodilatator etkisi, L-argininin antioksidan etkisi ve E vitamininin anjiyogenezisi arttıran etkisi ile elde edilen sonucun medikal farmakodinamiği sorgulanabilir. Bizim alışmamızda, uygulanan ajan G-CSF'nin bu farmakodinamiklerden birine veya bir kaçına hizmet ettiği ya da bambaşka bir yolak üzerinde etki göstererek endometriyum yüzey epitelyum kalınlığını arttırdığı söylenebilir. Uygulanan ilaçların farmakodinamik etkisinin nemi, Hsieh YY ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada düşük doz asetilsalisilik asit tedavisinin intrauterin inseminasyon veya oosit donasyon rejimlerinde gebelik oranlarını arttırmasına rağmen endometrial kalınlıkta belirgin bir değişiklik göstermemesi ile belirtilebilir (156). Yine asetilsalisilik asit temelli, ince endometriyuma sahip kadınlar üzerinde yapılan Weckstein ve ark.'nın



gerçekleştirdiği çalışmada düşük doz asetilsalisilik asit tedavisinin endometrial kalınlığı değiştirmediği, klinik gebelik ve implantasyon oranlarını arttırdiği fakat doğum oranları üzerinde etkisinin olmadiği gösterilmiştir (157).

Endometrial kalınlığı, reseptiviteyi etkileyen bir diğer etken endometrial kök hücrelerdir. İnsan endometriyumunu östrojen ve progesteron etkisi altında yıkılan ve rejenerasyona maruz kalan aşırı değişken ve aktif bir dokudur. Endometrial kalınlığı araştırırken, endometrium içerisindeki kök hücrelerin değerlendirilmesi yadsınamaz. Endometriozis teorilerinden biri olan retrograd menstürasyon ile endometrial kök hücrelerin uterus dışında endometrial doku oluşturmaları bu değerlendirmeyi gerekli kılmaktadır. Bu endometrial kök hücrelerin, ploripotent diferansiyasyon gösteren kök hücreler olduğu varsayılır ve bu kök hücrelerin glandüler, stromal, endotelyal, düz kas hücrelerine dnrebildiği görülmüştür. Kendi aralarında yüzey antijenleri, klonal verimliliği, in vitro kültür üreme tercihleri ve endometriyum içerisindeki lokalizasyonlarına göre sınıflandırılabilinecek olan bu kök hücrelerin toplamda kaç çeşit olduğu ve fonksiyonları bilinmemektedir (158). Miyazaki K ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada, Tomato (TdTom) isimli kırmızı refle veren florasan bir protein eksprese eden lentivirsler ile işaretlenmiş izole endometrial kök hücreler, işaretlenmemiş ve herhangi bir izolasyon işlemine maruz kalmamış endometrial hücreler ile karıştırılarak immün-defektif, ooferektomize farelerin böbrek kapsüllerinin altına ekilmiştir. Bu fareler 8 haftalık östrojen ve progesteron tedavisi altına alınarak, tedavi bitiminde böbrekleri eksize edilmiştir. Tüm spesmenlerde endometrial doku gelişmiş olup TdTom ile işaretlenmiş olan endometrial kök hücrelerden diferansiye olan stromal, glandüler, endotelyal hücrelerin miktarı işaretili olmayan hücrelerden fazla bulunmuştur (159). Bu çalışmaya benzer farklı çalışmalarda da endometriyumun farklı kısımlarının gelişme gösterdiği, transplante edilen endometrial kök hücrelerin farklı endometriyum subnitlerine farklı oranlarda farklılaştığı görülmüştür (160-161). Yapmış olduğumuz çalışmada endometriyum yüzey epitel kalınlığının G-CSF enjeksiyonları ile artması endometrial yüzey epitelyum prekrser olan endometrial kök hücrelerin G-CSF ile etkilendiğini ve proliferasyona uğradığını gösterir. Toplam uterus kalınlığı ve endometriyum total kalınlığı G-CSF ile etkilenmemiştir ve bu durum diğer kök hücre grupları ile G-CSF'nin etkileşime geçmediği ile ilişkilendirilebilir.

Temel olarak endometrial hasarlanmaya bağlı olarak (bazal line) gelişmiş olan intrauterin adezyonlar ve Asherman sendromu hasarlanan bölgelerde rejenerasyonu sağlanamaması ve endometrial kök hücre yokluğuna bağlıdır ve intrauterin adezyonlar infertil kadınlar arasında %2 - %22' lik bir orana sahiptir (162). Endometrial kök hücrelerin transplantasyonu, yetersiz endometriyuma sahip kadınlar için endometrial kalınlığı arttırmada, rejenerasyonda, ve implantasyonda fayda sağlayabilir. Uygun kök hücrelerin transplantasyonu sonrası uygulanacak östrojen ve progesteron tedavi rejimine G-CSF'nin eklenebilir bir ajan olmasına, çalışmamız endometriyum yüzey epitel kalınlığını artırdığını göstererek katkıda bulunmuştur.

Endometrial kök hücreler, çeşitli sınıflandırmalara uğratılarak anlaşılır kılınmaya çalışılmıştır. Bu ayrımlardan bir tanesi de epitelyal adezyon molekülü olan Epithelial Cell Adhesion Molecule (EPCAM) proteini üzerinden yapılmıştır. EPCAM<sup>+</sup> olan epitelyal kök hücreler ve EPCAM<sup>-</sup> stromal kök hücreler olarak sınıflandırılır (163). Boyut bakımından ayırım yapılması ise hücrelerin farklılaşma potansiyellerini de belirler. Geniş epitelyal endometrial kök hücreler; Matrigel hücre kültüründe sitokeratin<sup>+</sup> gland benzeri yapılarla farklılaşırken ve geniş stromal endometrial kök hücreler, düz kas hücrelerine, osteoblastlara, kondrositlere farklılaşabilirken; küçük endometrial hücreler sınırlı diferansiasyon yeteneğine sahiptir ve hangi yapıya farklılaştığı tam olarak aydınlatılamamıştır (164,165). G-CSF'nin muhtemel etkisi EPCAM<sup>+</sup> hücreler üzerindedir. Çalışmamızda saptanan total uterus kalınlığında anlamlı fark saptanamaması da çalışmada uygulana dozlarda G-CSF'nin geniş stroma kök hücreler üzerinde belirgin etkisinin olmadığına açıklık kazandırır.

İkoma T. ve ark.'nın yapmış olduğu çalışma, kemik iliği nakli ile aktarılmış olan kök hücrelerin endometrial kök hücreler olarak aktive olup endometriyum dokusunda rejenerasyon, proliferasyon ve diferansiasyonu sağlaması sadece sabit bir kök hücre havuzu olmayabileceğini akla getirir. Akut ve kronik myeloid lösemi nedeniyle erkek hastalardan alınan kemik iliği nakli planlanan, 12 Gray dozdan 4 gün radyoterapi, 2 gün 60 mg/kg siklofosfomid ve 4 gün 2 gr/m<sup>2</sup> ARA C terapisi uygulanan 3 kadın hastanın 6 aylık hormon replasman tedavisi (0,625 mg estrodiol/gün ve 5 mg medoksiprogesteron/gün) sonrası toplanan endometrial biyopsi örneklerinde floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile Y kromozomu tespit edilmesi ve bu 3 hastaya da periferel kandaki kök hücre stabilizasyonu için G-CSF verilmesi; hem G-CSF'nin endometrial kök hücreler üzerinde etkili olabilecek bir

ajan olduğunu yaptığımız çalışma ile aynı görüş paralelliğinde teyit eder, hem de endometrial kök hücre havuzunun kemik iliği kök hücre havuzu ile cinsiyetler farklı donörler arası transferde dahi yakın ilişkili olduğunu gösterir (166).

Çalışmamızda G-CSF medikasyonu ile endometrial toplam kalınlığın arttırılmadığı fakat endometriyum yüzey epitelyum kalınlığının arttırıldığı gösterilmesi Li Y ve arkadaşlarının yapmış olduğu, sildenafil, beta-blokör, östrodiol tedavi rejimlerinden fayda görmeyen, endometriyum kalınlığı <7mm olan infertil kadınların dahil edildiği çalışma ile paralellik gösterir. Human chorionic gonadotropin (HCG) uygulanması öncesi ve HCG uygulamasından 48 saat sonra G-CSF'nin yavaş intra-uterin infüzyonu, endometrial kalınlığı 7mm'in üzerine çıkarmamasına rağmen (endometrial kalınlık 2,9+2,0 mm artmış) gebelik oranlarını %19,1 artırmıştır (167).

Çalışmamıza benzer hayvan modeli deneyleri daha öncesinden oluşturulmuş ve çeşitli sonuçlar elde edilmiştir. Zhao J ve ark.'nın yapmış olduğu 40 tane Sprague-Dawley rat ile 5 günlük 40µg/kg/gün G-CSF'nin endometrial kalınlığa etkisini araştırmanın sonuçlarında G-CSF medikasyonunun endometrial kalınlığı, endometriyum yüzey epitel kalınlığını ve endometrial gland sayısını kontrol gruplarına göre arttırdığı tespit edilmiştir. Ratlar randomize olarak seçilmiş 10 rattan oluşmak üzere 4 gruba ayrılmış ve ilk gruba 40µg/kg/gün G-CSF medikasyonun 5 gün uygulanması sonrası histerektomi işlemi yapılmış, ikinci gruba 40µg/kg/gün SF medikasyonu sonrası histerektomi işlemi yapılmış, üçüncü ve dördüncü gruba aynı şekilde SF ve G-CSF medikasyonu uygulanarak örnekler medikasyon uygulamasından 12 gün sonra toplanmıştır (168). Zhao J ve arkadaşlarının çalışması ile bizim çalışmamız arasındaki belirgin farklılık ise G-CSF dozunun aynı olmasına rağmen, uygulama süresindeki farklılık ve örneklerin toplanma (histerektomi) zamanı ile medikasyon bitim zamanı arasındaki sürelerin farklı olmasıdır. Uzun dönem uygulanan G-CSF'nin endometriyum total kalınlığı üzerinde bir etkisinin olmadığı fakat endometriyum yüzey epitelini kalınlaştırdığı çalışmamızda gösterilmiştir. Zhao J ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadaki birinci ve üçüncü deney gruplarının kıyaslamasında G-CSF medikasyonundan 12 gün sonra histerektomi yapılan üçüncü deney grubunun endometrial kalınlık ortalamasının (487,78±19,48), birinci deney grubuna göre (569,37±37,01) belirgin az olması, çalışmamız ile Zhao J ve arkadaşlarının çalışması arasındaki farklılığın zamansal bir etkenden kaynaklandığını göstermektedir. Her iki çalışmada G-CSF uygulama süresi ve G-CSF'nin etkinlik

süresi hakkında bilgi vermekte olup çalışmamız G-CSF'nin pozolojisinin uygulanma süresine ve etkinlik süresine yönelik literatüre katkıda bulunmuştur.

G-CSF'nin endometriyum üzerine etkisini araştıran insan bazlı bir çalışma olan Xu B ve arkadaşlarının, endometriyum kalınlığı <7mm olan, 40 yaşından genç; submukozal myom, uterin malformasyon, belirgin uterin adezyon, endometrial polip ve ek hastalığı bulunmayan, G-CSF kullanımına karşı kontraendike bir sağlık sorunu bulunmayan 30 kadın üzerinde yapmış olduğu çalışmada, hastaları ovarian indiksiyon rejimleri ve embriyo transferi sürecinde intra-uterin G-CSF 300µg medikasyonuna tek seferlik tabi tutarak, G-CSF'nin endometriyum kalınlığı üzerine etkisi araştırmışlardır. Bir önceki siklus ile kıyaslanmasında ve aynı siklus içerisinde G-CSF indiksiyonunu takiben endometriyum kalınlığının artışı anlamlı bulunmuştur. Çalışmada G-CSF uygulaması sonrası daha yüksek implantasyon oranı tespit edilmiş ( $p<0,01$ ), canlı doğum oranlarını arttırmış fakat canlı doğum oranlarında kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir farklılık görülmemiştir (169). (%33,3'e karşın %17,3) G-CSF'nin endometrial kalınlığı artırması, implantasyon için anlamlı olurken canlı doğum oranında değişikliğe neden olmaması farklı kaskatlar üzerinden oluşan implantasyonun devamlılık sağladığını ve G-CSF'nin tek başına yeterli olmadığı gösterir. Ayrıca ciddi endometrial hasarlanmalarda G-CSF'nin başarısızlığı da aşıkardır. Ayrıca G-CSF'nin canlı doğum oranını arttırdığını gösteren çalışma olduğu gibi değiştirmedini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (170,171). İmplantasyon oranı ile endometrial kalınlığın arasında ilişki kurulamayacağını gösteren bir diğer çalışma Barad D H ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmadır. G-CSF'nin intra-uterin uygulanması endometrial kalınlığı artırmaya karşın, implantasyon oranları plasebo grubunda daha yüksektir (172). Buna karşılık olarak Gleicher ve ark.' yayınladığı 4 hastayı kapsayan vaka sunumunda; subcutan G-CSF enjeksiyonu ile ince endometriyuma sahip 4 kadının hepsinde gebelik oluştuğu gösterilmiş (173). Yine Gleicher ve ark.'nın yapmış olduğu bir diğer çalışmada; intra uterin G-CSF uygulaması ile ince endometriyuma sahip kadınlarda endometrial kalınlığın arttırıldığı gösterilmiş fakat gebe kalan ve gebe kalmayan deneklerde endometrial kalınlığa dair bir farklılık bulunmamıştır. Ayrıca çalışmada G-CSF uygulanma sıklığına dair tatmin edici bir datanın olmadığı belirtilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklı sonuçların tespiti ince endometriyuma neden olan etyopatogenezin farklı olabileceği ve çeşitli yollar üzerinde etkilenebileceğini gösterir. Çalışmamızdaki zamanlama ve G-CSF uygulama süresindeki farklılığın G-CSF etkisi ile

endometriyumun kalınlaştığını ve bu kalınlık artışının implantasyon oranına artış sağlayacağı düşüncesini sorgulatmaktadır.

G-CSF, endometriyum üzerinde etki gösterdiği gibi overler üzerinde de etkilidir (174). Salmasi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; 82 hastanın foliküler sıvısı HCG enjeksiyonundan 36 saat sonra toplanmış ve foliküler sıvıdaki G-CSF'nin kan serum seviyesine oranla yüksek olduğu bulunmuştur. G-CSF'nin foliküler sıvıda fazla olması, G-CSF'nin over tarafından da üretildiğini ve kendi mikro çevresinde parakrin ve otokrin etki göstereceğine işaret eder. Çalışmamız da uzun süreli G-CSF medikasyonu ile toplam endometrial kalınlığın artmaması nedeniyle; over ve endometriyum ilişkisinde G-CSF'nin uzun süreli veya yüksek konsantrasyonda mevcudiyetinin ya da kan serumu ile foliküler sıvı arasındaki G-CSF konsantrasyonu uyumsuzluğunun, endometriyum kalınlığı üzerine etki gösterebileceği yönünde görüş bildirilebilir. G-CSF'nin overler tarafından ekprese edildiğini gösteren çalışmaya ek olarak G-CSF benzeri bir mediyatör olan granulosit makrofaj koloni stimüle edici faktor (GM-CSF)'ün insan endometriyumu içerisinde bulunması, GM-CSF, GM-CSF reseptör mRNA ve protein ekspresyonun endometriyumda yapılabilir olduğunu kanıtlayan Zhao Y ve Chegini N'nin çalışması bu parakrin/otokrin veya over endometriyum ilişkisinde koloni stimüle edici faktörlerin rolü olduğuna destekler niteliktedir (175).

IVF tedavisi gören hastalarda endometrial kalınlık ile gebelik oranlarının ilişkisini değerlendiren Kasius A ve ark.'nın oluşturduğu meta-analizde, gebelik oluşması ile endometrial kalınlığın prediktif bir değer olarak kullanılmasının yeterli olmadığı belirtilmiştir. Ayırıcı endometrial kalınlık değeri endometriyum kalınlığının çok ince değerlerinde anlam kazanırken gebelik oluşmasına yönelik kesin bir cut-off değeri belirtmemektedir (176).

Aynı bulguları Kovacs ve arkadaşlarının yapmış olduğu ve toplam 1382 IVF ve intrasoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) siklusunu içeren, gebelik başarı oranları ile endometrial kalınlık arasındaki ilişkiyi anlamlandırabilecek endometrial kalınlık cut-off değeri bulmayı amaçlayan çalışma dectelemekte; kesin bir endometriyum kalınlık sınırı tespit edilememektedir. En yüksek gebelik oranları, endometriyumun 10-14 mm'lik kalınlığa sahip olduğu aralıkta bulunmuştur (177).

Endometriyum kalınlığı ile kötü gebelik sonuçlarının ve IVF/ICSI sonuçlarının ilişkisi net değildir. Ne yazık ki ince endometiruma sahip kadınların endometrial histopatolojisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. İnce

endometriyuma sahip hastaların endometrial bazal tabakasında oksijen seviyesinin arttığına ve bu artmış olan yüksek oksijen seviyesinin embriyo implantasyonuna engel olduğuna dair görüşler bulunmaktadır (178). İndüklenmiş veya indüklenmemiş sıklularda, farklı gen ve protein ekspresyonlarının endometrial reseptivite üzerinde kritik role sahip olduğu düşünülmektedir (179). Gebeliğin başlangıcını ilgilendiren bu implantasyon ve endometriyum arasındaki kaskatın sadece gebeliğin başlangıcında değil, gebeliğin ilerleyen döneminde de etkili olabileceği gündeme gelebilir. İntarauterin gelişme geriliğinin (180,181), preeklampsinin (181,182), gestasyonel trofoblastik hastalıkların (183,184) ve koryoanjyogenezin (185) oksidatif stres, anjiyogenezis ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar ile ileride gebeliğin erken ve geç dönemdeki komplikasyonlarına ilişkin implantasyon zamanından veya gebeliğe hazırlanma zamanından başlanmak üzere tedavi rejimleri oluşturulabilir.

Çalışmamızda ratların endometriyum kalınlıkları üzerinde G-CSF'nin etkisi araştırılırken; ratların vücut ağırlığındaki değişiklik, hemoglobin, trombosit, beyaz küre ve nötrofil değerlerindeki değişiklikler göz önünde bulundurulmuş olup G-CSF'nin muhtemel yan etki potansiyeline dair görüş elde edilmeye çalışılmıştır. Endometriyum kalınlığına ilişkin yapılan hayvan deneyi modelli bir çalışmada yan etki potansiyeline ilişkin bir literatürel kaynak bulunamamış olup, bu hali ile çalışmamız literatüre katkı sağlayacaktır. Bu ölçümler yapılırken deney öncesi değerler ele alınmayıp grup homojenizasyonu, çalışmanın asıl amacı olan endometriyum kalınlığının değerlendirilmesinin etkilenmemesi için, yapılamamıştır. Çalışma öncesinde endometriyum kalınlığı ile vücut ağırlığı, hemoglobin, trombosit, beyaz küre ve nötrofil değerleri arasında bir kolerasyonun bulunup bulunmadığının bilinmemesi nedeniyle random olarak gruplara dağıtılmış ratların grup homojenizasyonunun olduğu kabul edilmiş ve deney bitimindeki ölçümler değerlendirmeye katılarak yan etki potansiyeline ilişkin fikir edinilmeye çalışılmıştır. Bu şartlar altında yapılan ölçümler bazında "Alkol+GCSF" ve "Alkol+SF" gruplarının karşılaştırılmasında G-CSF'nin kullanıldığı grubun deney bitiminde daha düşük vücut ağırlık ortalamasına sahip olması geçirilen cerrahi operasyondan bağımsız olarak G-CSF'nin vücut ağırlığının azalttığını ve kilo kaybına neden olduğunu gösterebilir. Diğer rat gruplarının diğer ikili karşılaştırılmalarından bu durumu destekler nitelikte sonuçların mevcut olmaması kilo kaybında başka bir etkenin olduğunu düşündürür.

Deney bitiminde ötenazi öncesi ratlardan alınan kanların sayımında tüm rat gruplarının hemoglobin ve trombosit değerleri açısından Tablo 4'te gösterilen ratlar için normal kan sayımı değerleri göz önünde bulundurulduğunda aritmetik ve median ortalamaları ile normal aralıkta bulunduğu görülmektedir. Cerrahi müdahale geçirmiş olan rat gruplarında hemoglobin değerlerinde düşme olduğu görülmüş ve yine cerrahi müdahale geçirmiş olan ratların trombositoya eğilim gösterdiği saptanmıştır. Sadece G-CSF uygulanmış olan gruptaki ratların en düşük trombosit değerleri ve ortalamaları ile G-CSF'nin trombosit değerleri üzerinde baskılayıcı bir etkisinin olduğu gündeme gelebilir. Beyaz küre ve nötrofil sayıları bakımından değerlendirildiğinde ise şaşırtıcı bir şekilde ortalamalarından ziyade, her bir ratın beyaz küre ve nötrofil sayısının minimum değerinin altında olduğu görülmektedir ve en düşük beyaz küre ve nötrofil sayısına sahip grup sadece G-CSF uygulanmış olan gruptur. Uygulanan doz aralığında ve medikasyon süresince G-CSF'nin beklenenin aksi bir etki gösterdiği saptanmıştır.

Hayvan veya insan modelli diğer çalışmalarda gösterilmiş olan G-CSF'nin toplam endometriyum kalınlığını arttırıcı etkisinin bu çalışmada gösterilmemesi ile birlikte G-CSF'nin beklenen lökositöz ve nötrofilik etkisinin gözlenmemiş olması, ayrıca lökopeniye ve trombositopeniye neden olması, uygulanacak dozun ve süresinin beklenenin aksi bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Uzun süreli G-CSF uygulanması ratların üzerinde tehdit edici bir unsur oluşturmaktadır. Cerrahi işlemin ise G-CSF'nin kullanım süresinden doğan bu negatif etkini nötralize ettiği anlaşılmış olup, cerrahi işlemin beyaz küre artışına ihtiyaç duyulacak kaskatları aktive etmesi gerekliliği göz önünde bulundurularak, mevcut ihtiyacın fazlası süresinde G-CSF maruziyetinin negatif etkisini bu çalışma ile ortaya koymuş bulunmaktayız. Bu bulgumuz cerrahi işleme maruz kalmış ratlarda G-CSF'nin negatif etkisinin istatistiksel olarak "Kontrol" grubu ve "SF" grubu ile farklılık göstermemesi ile desteklenmektedir. Cerrahi müdahalenin nötrofil sayıları üzerinde de benzer etkisi bulunmaktadır ve beyaz küre sayılarında göstermiş olduğu bulgularımız nötrofil sayıları için de geçerlidir. Tüm bu bilgiler ışığında kan sayımı içerisinde kırmızı kan hücrelerine nazaran daha kısa ömüre sahip ve yapım yıkım döngüsü daha hızlı olan trombositler, beyaz küreler ve nötrofiller üzerinde uzun süreli G-CSF tedavisinin negatif bir etkisi olduğunu görülmektedir. Hayvan modelli çalışmamız, ileride

uygulanması muhtemel olan ince endometriyum üzerinde etkili G-CSF'nin tedavi süresinde kısıtlayıcı bir zaman aralığı olduğunu göstermektedir.

Korelasyon analizlerinin mantıksal ve bütüncül değerlendirmesinde görülen, beyaz küre ve nötrofil değerlerinin G-CSF uygulanan grupta negatif korelasyon göstermesi ve beklenildiği üzere çoğu grupta endometriyum kalınlığı veya endometriyum yüzey epitel kalınlığı ile uterus kalınlığının birbiri ile olan pozitif korelasyonudur. Diğer korelasyon analizi sonuçlarının değerlendirilmesi ve mevcut parametrelerin birbiri ile olan ilişkisinin ortaya konabilmesi için oluşturulacak hipotezlere dair, değişken ve etken miktarının azaltıldığı daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Endometrial kalınlığın artırılmasına yönelik uygulanabilecek G-CSF tedavisine ışık tutmak amacı ile düzenlenmiş olan hayvan deneyi modeli çalışmamız, ilaç doz, uygulama yöntemi ve zaman ilişkisi içerisinde G-CSF'nin etkileri, diğer çalışmalar ile farklılık göstermektedir. Aynı konu üzerinde yapılmış olan birçok çalışma ve genel olarak endometriyum ile implantasyon, gebelik oranları, canlı doğum oranları arasında ilişkiye dair yapılan çalışmalar, bu kaskat üzerinde bir çok farklı etkenin olduğunu ortaya koyar. Bu kaskat içerisindeki her hangi bir yerde mevcut olan patoloji, uygun endometriyum elde edilmesinden, embriyonun implantasyonuna ve hatta canlı doğum oranlarına kadar etki göstermektedir. Bu kaskatın endometriyum kalınlığı yönünü araştıran çalışmamız ile birlikte literatüre katkı sağlanması amaçlanmış olup, uygulanabilecek G-CSF tedavisinin muhtemel etkisi, ilaç pozolojisi, kullanım süresi ve yan etki potansiyellerine dair görüşler ortaya konulmaktadır.



## 6. KAYNAKLAR

- (1) Hoffman BL, Schorge JO, SchaferJI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG, Wiliams Jinekoloji, İkinci Baskı ISBN: 987-171672-7(Çev. Ed: Yıldırım G.), p: 506-581,2015
- (2) WHO Teknik Rapor Serisi. Recent Advances in Medically Assisted Conception Number 820, pp 1-111, 1992
- (3) Baker TG. Radiosensitivity of mammalian oocytes with particular reference to the human female. Am J Obstet Gynecol. 110:746, 1971.
- (4) Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. J Clin Endocrinol Metab. 65:1231, 1987.
- (5) Faddy MJ, Gosden RG. A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary. Hum Reprod. 10:770, 1995.
- (6) Jick H, Porter J. Relation between smoking and age of natural menopause. Report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program, Boston University Medical Center. Lancet. 1:1354, 1977.
- (7) Cramer DW, Barbieri RL, Xu H, Reichardt JK. Determinants of basal follicle-stimulating hormone levels in premenopausal women. J Clin Endocrinol Metab. 79:1105, 1994.
- (8) Westhoff C, Murphy P, Heller D. Predictors of ovarian follicle number. Fertil Steril. 74:624, 2000
- (9) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Committee opinion: Role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology. Fertil Steril. 97:539, 2012.
- (10) Pritts EA. Fibroids and infertility: a systematic review of the evidence. Obstet Gynecol Surv. 56:483, 2001.
- (11) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. Fertil Steril. 103:e27, 2015.
- (12) Steinvil A, Raz R, Berliner S, Steinberg DM, Zeltser D, Levran D, Shimron O, Sella T, Chodick G, Shalev V, Salomon O. Association of common thrombophilias and antiphospholipid antibodies with success rate of in vitro fertilisation. Thromb Haemost. 108:1192, 2012

- (13) Kallen CB, Arici A. Immune testing in fertility practice: truth or deception? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 15:225, 2003.
- (14) Tersigni C, Castellani R, de Waure C, Fattorossi A, De Spirito M, Gasbarrini A, Scambia G, Di Simone N. Celiac disease and reproductive disorders: meta-analysis of epidemiologic associations and potential pathogenic mechanisms. *Hum Reprod Update.* 20:582, 2014
- (15) Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P, Tiboni GM. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod,* 20:437, 2005.
- (16) Guermandi E, Vegetti W, Bianchi MM, Uglietti A, Ragni G, Crosignani P. Reliability of ovulation tests in infertile women. *Obstet Gynecol* 97:92, 2001.
- (17) Hull MG, Savage PE, Bromham DR, Ismail AA, Morris AF. The value of a single serum progesterone measurement in the midluteal phase: criterion of potentially fertile cycle ("ovulation") derived from treated and untreated conception cycles. *Fertil Steril* 37(3) : 355, 1982.
- (18) Luciano AA, Peluso J, Koch EI, Maier D, Kuslis S, Davison E. Temporal relationship and reliability of the clinical, hormonal and ultrasonographic indices of ovulation in infertile women. *Obstet Gynecol* 75(3 Pt 1) : 412, 1990
- (19) Miller P, Soules M. The usefulness of urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. *Obstet Gynecol* 87:13, 1996
- (20) Grinsted J, Jacobsen JD, Grinsted L, Schantz A, Stenfoss HH, Nielsen SP. Prediction of ovulation. *Fertil Steril* 52:388, 1989.
- (21) Guermandi E, Vegetti W, Bianchi MM, Uglietti A, Ragni G, Crosignani P. Reliability of ovulation test in infertile women. *Obstet Gynecol* 97:92, 2001.
- (22) Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril.* 55:784, 1991.
- (23) Muasher SJ, Oehninger S, Simonetti S, Matta J, Ellis LM, Liu HC, Jones GS, Rosenwaks Z. The value of basal and/or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 50:298, 1988.
- (24) Scott RT Jr, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 63:1, 1995.

- (25) Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 68:272, 1997.
- (26) Licciardi FL, Liu HC, Rozenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 64:991, 1990.
- (27) La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS; ESHRE Special Interest Group for Reproductive Endocrinology--AMH Round Table. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod* 24(9):2264, 2009.
- (28) Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril* 95(1):170, 2011.
- (29) Navot D, Rozenmarks Z, Margulies EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet* 2:645, 1987.
- (30) Frattarelli JL, Lauria-Costab DF, Miller BT, Bergh PA, Scott RT. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 74(3):512-7, 2000.
- (31) Maseelall PB, Hernandez-Rey AE, Oh C, et al: Antral follicle count is a significant predictor of livebirth in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 91(4): 1595, 2009.
- (32) Maseelall PB, Hernandez-Rey AE, Oh C, Maagdenberg T, McCulloh DH, McGovern PG. Antral follicle count is a significant predictor of livebirth in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 91(4):1595, 2009.
- (33) Noyes RW, Herting A, Rock J: Dating the endometrial biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 122(2):262-3, 1975.
- (34) Carson DD, Lagow E, Thathiah A, Al-Shami R, Farach-Carson MC, Vernon M, Yuan L, Fritz MA, Lessey B. Changes in gene expression during the early to mid-luteal (receptive phase) transition in human endometrium detected by high-density microarray screening. *Mol Hum Reprod* 8(9):871, 2002.

- (35) Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 144(7):2870-81, 2003.
- (36) Speroff L, Fritz MA. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Ed: Seigafuse S, 8th Edition, p:1137-1191, Philadelphia, USA, 2011.
- (37) Randolph JF Jr, Ying YK, Maier DB, Schmidt CL, Riddick DH. Comparison of real-time ultrasonography, hysterosalpingography, and laparoscopy/hysteroscopy in the evaluation of uterine abnormalities and tubal patency. *Fertil Steril* 46(5):828-32, 1986.
- (38) Soares SR, Barbosa Dos Reis MM, Camargos AF. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertil Steril* 73(2):406-11, 2000.
- (39) Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, Cisneros P, Steinkampf MP, Hill JA, Xu D, Vogel DL; National Cooperative Reproductive Medicine Network. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 345(19):138-93, 2001.
- (40) Turek PJ, Lipshultz LI. Immunologic infertility. *Urol Clin North Am* 21(3):447-68, 1994.
- (41) Collins JA, Wrixon W, Janes LB, Wilson EH. Treatment-independent pregnancy among infertile couples. *N Engl J Med*. 309(20):1201-6, 1983.
- (42) Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Bush A, Short F, Anyaoku V, Reed MJ, Franks S. Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* ; 36(1):105-11,1992.
- (43) Guzick DS, Wing R, Smith D, Berga SL, Winters SJ. Endocrine consequences of weight loss in obese, hyperandrogenic, anovulatory women. *Fertil Steril*; 6(4)1:598-604,1994.
- (44) Clark AM, Ledger W, Galletly C, Tomlinson L, Blaney F, Wang X, Norman RJ. Weight loss results in significant improvement in pregnancy and ovulation rates in anovulatory obese women. *Hum Reprod*; 10(10):2705-12, 1995.
- (45) Mutsaerts MA. Randomized trial of a lifestyle program in obese infertile women. *Ned Tijdschr Geneesk*;160(0):D916, 2016.

- (46) Snow RC, Barbieri RL, Frisch RE. Estrogen 2-hydroxylase oxidation and menstrual function among elite oarswomen. *J Clin Endocrinol Metab*; 69(2):36976, 1989.
- (47) Berga SL, Marcus MD, Loucks TL, Hlastala S, Ringham R, Krohn MA. Recovery of ovarian activity in women with functional hypothalamic amenorrhea who were treated with cognitive behavior therapy. *Fertil Steril*; 80(4):976-81, 2003.
- (48) REIFENSTEIN EC Jr. Psychogenic or hypothalamic amenorrhea. *Med Clin North Am*. 30:1103-14, 1946.
- (49) Crowley WF Jr, Filicori M, Spratt DI, Santoro NF. The physiology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in men and women. *Recent Prog Horm Res*. 41:473-531, 1985.
- (50) Legro RS, Zhang H; Eunice Kennedy Shriver NICHD Reproductive Medicine Network. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 9;371(15):1463-4, 2014.
- (51) Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 23(3):462-77, 2008.
- (52) Steiner AZ, Terplan M, Paulson RJ. Comparison of tamoxifen and clomiphene citrate for ovulation induction: a meta-analysis. *Hum Reprod*; 20:1511, 2005.
- (53) Oktay K, Buyuk E, Davis O, Yermakova I, Veeck L, Rosenwaks Z. Fertility preservation in breast cancer patients: IVF and embryo cryopreservation after ovarian stimulation with tamoxifen. *Hum Reprod*; 18(1):90-5, 2003.
- (54) Oktay K, Buyuk E, Davis O, Veeck L, Rosenwaks Z. A prospective comparison of tamoxifen alone and tamoxifen-FSH combined protocol for IVF and fertility preservation in breast cancer patients. *Fertil Steril*; 80(3):p:63-64, 2003.
- (55) Farquhar C, Lilford RJ, Marjoribanks J, Vandekerckhove P. Laparoscopic "drilling" by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 18(3):CD001122, 2007.

- (56) Farhi J, Ben-Haroush A, Lande Y, Fisch B. Role of treatment with ovarian stimulation and intrauterine insemination in women with unilateral tubal occlusion diagnosed by hysterosalpingography. *Fertil Steril* ; 88(2):396-400, 2007.
- (57) Honoré GM, Holden AE, Schenken RS. Pathophysiology and management of proximal tubal blockage. *Fertil Steril*; 71(5):785-95, 1999.
- (58) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Committee opinion: role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology. *Fertil Steril*; 97(3):539-45, 2012.
- (59) Johnson NP, Mak W, Sowter MC. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*; (3):CD002125, 2004.
- (60) Mukherjee T, Copperman AB, McCaffrey C, Cook CA, Bustillo M, Obasaju MF. Hydrosalpinx fluid has embryotoxic effects on murine embryogenesis: a case for prophylactic salpingectomy. *Fertility and Sterility* 66(5):851–3, 1996.
- (61) Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertility and Sterility* 70(3):492–9, 1998.
- (62) Xi W, Gong F, Tang Y, Zhang H, Lu G. Ovarian response to gonadotropins after laparoscopic salpingectomy for ectopic pregnancy. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics* 116(2):93–6, 2012.
- (63) Lin YJ, Ou YC, Huang FJ, Lin PY, Kung FC, Lan KC. Ovarian Response to Gonadotropins in Patients With Tubal Factor Infertility: Salpingectomy Versus Nonsalpingectomy. *Journal of Minimally Invasive Gynecology* 20(5):637–41, 2013.
- (64) Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 77(6):1148–55, 2002.
- (65) Omland AK, Abyholm T, Fedorcsák P, Ertzeid G, Oldereid NB, Bjercke S, Tanbo T. Pregnancy outcome after IVF and ICSI in unexplained, endometriosis-associated and tubal factor infertility. *Human Reproduction* 20(3):722–7, 2005.
- (66) Heinonen PK, Saarikoski S, Pystynen P. Reproductive performance of women with uterine anomalies. An evaluation of 182 cases. *Acta Obstet Gynecol Scand*; 61(2):157-62, 1982.

- (67) March CM, Israel R. Gestational outcome following hysteroscopic lysis of adhesions. *Fertil Steril*; 36(4):455-9, 1981.
- (68) Pérez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, Redondo T, Sanfrutos L, Alvarez P, Engels V. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod*; 20(6):1632-5, 2005.
- (69) Sperrof L, Fritz MA. Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite (Çev. Ed: Erk A, Günalp S.) p:1013-1069, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, 2007.
- (70) Helmerhorst FM, Van Vliet HA, Gornas T, Finken MJ, Grimes DA. Intra-uterine insemination versus timed intercourse for cervical hostility in subfertile couples. *Cochrane Database Syst Rev*. 19;(4):CD002809,2005.
- (71) Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, Steinkampf MP, Efficacy of treatment for unexplained infertility, *Fertil Steril*, 70(2):207-13,1998.
- (72) ESHRE Task Force on Ethics and Law, including, Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, Tarlatzis B, Barri P. Lifestyle-related factors and access to medically assisted reproduction. *Hum Reprod*; 25(3):578-83, 2010.
- (73) Ethics Committee of American Society for Reproductive Medicine. Child-rearing ability and the provision of fertility services: a committee opinion. *Fertil Steril*; 100(1):50-3, 2013.
- (74) Pandey S, Maheshwari A, Bhattacharya S. Should access to fertility treatment be determined by female body mass index? *Hum Reprod*; 25(4):815-20, 2010.
- (75) Ethics Committee of American Society for Reproductive Medicine. Access to fertility treatment by gays, lesbians, and unmarried persons: a committee opinion. *Fertil Steril*; 100(6):1524-7, 2013.
- (76) Ethics Committee of American Society for Reproductive Medicine. Human immunodeficiency virus (HIV) and infertility treatment: a committee opinion. *Fertil Steril* ; 104(1):e1-8, 2015.
- (77) Soylu SM. Rat Fizyolojisi, *Journal of Clinical and Analytical Medicine*; <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-431.pdf>
- (78) Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. Chap 10, Hayvan Modelleri. In: Translation ed. Ide T, Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri Türkçe Çeviri, Ankara: Medipres Yayınları-Ozkan Matbaacılık, 2003.

- (79) Sharp PE, La Regina MC, Suckow MA. The laboratory rat. CRC Pres.p.16, 1998.
- (80) Poyraz Ö. Laboratuvar hayvanları bilimi. Ankara:Kardelen Ofset. p.210-11, 2000.
- (81) Kelly JB, Masterton B. Auditory sensitivity of the albino rat. J Comp Physiol Psychol; 91(4):930-6, 1977.
- (82) Jacobs GH, Fenwick JA, Williams GA. Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights. J Exper Biol; 204(Pt14);2439-46, 2001.
- (83) Prusky GT, Harker KT, Douglas RM, Whishaw IQ. Variation in visual acuity within pigmented, and between pigmented and albino rat strains. Behav Brain Res;136(2);339-48, 2002.
- (84) Poyraz Ö. Laboratuvar hayvanları bilimi. Ankara:Kardelen Ofset; p.210-11, 2000.
- (85) Faith RE, Hessler JR. Housing and environment. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. The laboratory rat. Academic Press .p.314-15, 2006.
- (86) Whishaw IQ, Bergdall V, Kolb B. Analysis of behaviour in laboratory rats. In: Suc-kow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. The laboratory rat. Academic Press.p.197, 2006.
- (87) Werner K. Noell WK, Virgil S. Walker VS, Kang BS, Berman S. Retinal Damage by Light in Rats. Invest. Ophth. Vis. Sci. 5;450-473, 1966.
- (88) O'Steen WK, Sweatt1 AJ, Brodish A. Effects of acute and chronic stress on the neural retina of young, mid-age, and aged Fischer-344 rats. Brain Res. 426(1);37-46, 1987.
- (89) Faith RE, Hessler JR. Housing and environment. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. The laboratory rat. Academic Press; p.314-15, 2006.
- (90) Cantürk, N. Z., Sayek, İ. Cerrahi Araştırma, Araştırma Planlama, Değerlendirme ve Sunum, Deney Hayvanları, Özgül Deneysel Modeller, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2005.
- (91) Beynen, A.C. Laboratory animal nutrition and experimental results. Scand J Lab Anim Sci 14: 89-97,1987.
- (92) National Research Council. Nutrient requirements of laboratory animals. National Academy Pres. Washington(DC),1995
- (93) Baker HJ, Lindsey RJ, Weisbroth SH. The laboratory rat. Vol. 1-2. Academic Press Inc. New York, 1979.



- (94) ILAC Committee on Laboratory Animal Diets. Control of Diets in Laboratory Animal Experimentation. National Academy of Sciences. Washington. (DC), 1978.
- (95) Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S: Ratlarda üreme, Journal of Clinical and Analytical Medicine, <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-585.pdf>.
- (96) Bennett, JP, Vickery BH. Rats and Mice. In: Hafez ESE, editor. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals, Philadelphia, Lea and Febiger. p: 299–315, 1970.
- (97) Lohmiller JJ, Swing SP. Reproduction and Breeding. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. The Laboratory Rat. Burlington: p: 148-159. Elsevier Academic Press; 2006.
- (98) Fox RR, Laird CW. Sexual cycles. In: Hafez ESE, editor. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals, p: 107-122, Philadelphia: Lea & Febiger; 1970.
- (99) [www.biologycorner.com](http://www.biologycorner.com) Homepage.. Rat Urogenital System. Access Date : 10.11.2010. Available from: [http://www.biologycorner.com/worksheets/rat\\_uro-genital.html](http://www.biologycorner.com/worksheets/rat_uro-genital.html), (Mülazımoğlu ve ark., 2012)
- (100) Richardson V. Diseases of Small Domestic Rodents. UK Second Edition, p. 221-226. Blackwell Publishing, 2003.
- (101) Lohmiller JJ, Swing SP. Reproduction and Breeding. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. The Laboratory Rat. Burlington: p: 148. Elsevier Academic Press; 2006.
- (102) Advis JP, Ojeda SR. Hyperprolactinemia-induced precocious puberty in the female rat: ovarian site of action. Endocrinology, 103: 924-935, 1978.
- (103) Bennett, JP, Vickery BH. Rats and Mice. In: Hafez ESE, editor. Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals, Philadelphia, Lea and Febiger. p: 299–315, 1970.
- (104) Vandenberg JG. Prenatal hormone exposure and sexual variation. Amer. Sci.; 91:218–225, 2003.
- (105) Russell LD. Normal development of the testis. In: Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, editors. Pathobiology in the Aging Rat, Volume 1: ILSI Press; p. 395–405, Washington (DC), 1992.

- (106) Setchell BP. Spermatogenesis and spermatozoa. In: Austin CR, Short RV, editors. *Reproduction in Mammals, Volume 1*, p: 63–101: Cambridge University Press; New York ,1982.
- (107) Maeda KI, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of reproduction. In: Krinke GJ, editor. *The Laboratory Rat*, p. 145–176: Academic Press; New York ,2000.
- (108) Ojeda SR, Urbanski HF, Ahmed CE. The onset of female puberty: studies in the rat. *Recent Prog. Horm. Res.*; 42:385–441, 1986.
- (109) Advis JP, Ojeda SR. Acute and delayed effects of anterior pituitary transplants in inducing precocious puberty in female rat. *Biol. Reprod.*; 20(4):879–887, 1979.
- (110) Kohn DF, Clifford CB. Biology and diseases of rats. In: Anderson LC, Leow FM, Quimby FW, editors. *Laboratory Animal Medicine*, p. 121–165: Academic Press; San Diego, 2002.
- (111) Peluso JJ. Morphologic and physiologic features of the ovary. In: Mohr U, Dung-worth DL, Capen CC, editors. *Pathobiology in the Aging Rat, Volume 1*, Washington D.C.: ILSI Press. p. 337–349, 1992.
- (112) Fortune JE. Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals. *Biology of Reproduction.*; 50(2):225-32, 1994 .
- (113) Ackland JF, D’Agostino J, Ringstrom SJ, Hostetler JP, Mann BG, Scwartz NB. Circulating radioimmunoassayable inhibin during periods of transient follicle-stimulating hormone rise: secondary surge and unilateral ovariectomy. *Biol. Rep-rod.*; 43(2):347–52, 1990.
- (114) Haisenleder DJ, Ortolano GA, Jolly D, Dalkin AC, Landefeld TD, Vale WW, Mars-hall JC. Inhibin secretion during the rat estrous cycle: Relationships to FSH secre-tion and FSH beta subunit mRNA concentrations. *Life Sci.*; 47(19):1769–73, 1990.
- (115) Richards JS, Jahnsen T, Hedin L, Lifka J, Ratoosh S, Durica JM, Goldring NB. Ovarian follicular development: from physiology to molecular biology. *Recent Prog Horm Res.*; 43:231-76, 1987.
- (116) Findlay JK. An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod*; 48(1):15-23,1993.
- (117) Freeman ME. The ovarian ocycle in the rat. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*, p: 1983: Raven Press; New York,1988.
- (118) Pfaff DW. *Estrogens and Brain Function.*, Springer; New York, 1980.

- (119) Baker DEJ. Reproduction and breeding. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH editors. *The Laboratory Rat*, Volume 1 p:153-168, Academic Press; New York, 1979.
- (120) Sharp PE, LaRegina MC. *The Laboratory Rat*. p: 15–19., CRC Press; New York 1998.
- (121) Oba G, Aslan S, Kaymaz M. Gebelik ve siklus dönemlerinin belirlenmesi amacıyla ratlarda vajinal sitolojinin kullanılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*; 48:51- 57, Ankara, 2001.
- (122) Ramos SD, Lee JM, Peuler JD. An inexpensive meter to measure differences in electrical resistance in the rat vagina during the ovarian cycle. *J Appl Physiol* (1985).;91(2):667-70, 2001.
- (123) <http://oslovet.veths.no/> Homepage.. Examination of vaginal smears in the rat. Accessed: 09.09.2010. Available from: <http://oslovet.veths.no/teaching/rat/oest-rus/>..
- (124) Maeda KI, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of reproduction. In: Krinke GJ, editor. *The Laboratory Rat*, p. 145–176: Academic Press; New York, 2000.
- (125) Nelson RJ. *An Introduction to Behavioral Endocrinology*, 3th Edition, Sinauer Associates; Sunderland MA, 1995.
- (126) Mercier O, Perraud J, Stadler JA. Method for routine observation of sexual behaviour in rats. *Lab. Anim.*; 21(2):125–130, 1987.
- (127) Richardson V. *Diseases of Small Domestic Rodents*. p. 221-226. Second Edition, Blackwell Publishing; UK, 2003.
- (128) Fox RR, Laird CW. Sexual cycles. In: Hafez ESE, editor. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. p. 107–122 Philadelphia: Lea & Febiger; 1970.
- (129) Vijnbergen A. Ratten. In: Gabrisch K, Zwart P, editors. *Krankheiten der Heimtiere*, 5.Edition. p: 125-151 Hannoner: Schlütersche; 2001.
- (130) LEONARD EP. *Fundamentals of small animal surgery*. p. 215-248, WB Saunders; Philadelphia; 1968.
- (131) Akan ÖA: Koloni Stimüle Edici Faktörler, *Mikrobiyoloji Bült*, 25: 285-293, 1991
- (132) Pluznik DH, Sachs L: The cloning of normal “mast” cells in tissue culture. *J Cell Comp Physiol*, 66(3): 319-24, 1965
- (133) Metcaff D: The colony stimulating factors. *Cancer*, 65(10): 2185-2195, 1990

- (134) Hanamura T, Motoyoshi K, Yoshida K, Saito M, Miura Y, Kawashima T, Nishida M, Takaku F. Quantitation and identification of human monocytic colony-stimulating factor in human serum by enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood*, 72(3): 886-92, 1988
- (135) Cheers C, Haigh AM, Kelso A, et al: Production of colony-stimulating factors (CSFs) during infection: separate determinations of Macrophage-, Granulocyte-Macrophage-, and Multi-CSFs. *Infect Immun*, 56(1): 247-51, 1988.
- (136) Sieff CA. Hematopoietic growth factors. *J Clin Invest*, 79: 1549-1557, 1987
- (137) Metcalf, D. The granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Science*. 229(4708) p: 16-22, 1985
- (138) Nagata, S., Et al, Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor. *Nature*. 319(6052): p. 415-8, 1986
- (139) Metcalf, D. The granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Science*,. 229(4708): p. 16-22, 1985
- (140) Thomas, J, Liu F, Link DC. Mechanisms of mobilization of hematopoietic progenitors with granulocyte colony-stimulating factor. *Curr Opin Hematol*, 9(3):183-9, 2002.
- (141) McCracken S, Layton JE, Shorter SC, Starkey PM, Barlow DH, Mardon HJ. Expression of granulocyte-colony stimulating factor and its receptor is regulated during the development of the human placenta. *J Endocrinol*, 149(2): 249-58, 1996.
- (142) Gómez Raposo C, Pinto Marín A, González Barón M. Colony-stimulating factors: clinical evidence for treatment and prophylaxis of chemotherapy-induced febrile neutropenia. *Clin Transl Oncol*. 8(10):729-34, 2006.
- (143) Salmassi A, Schmutzler AG, Huang L, Hedderich J, Jonat W, Mettler L. Detection of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in human follicular luteinized granulosa cells. *Fertil Steril*. 81 Suppl 1:786-9, 2004.
- (144) Yanagi K, Makinoda S, Fujii R, Miyazaki S, Fujita S, Tomizawa H, Yoshida K, Iura T, Takegami T, Nojima T. Cyclic changes of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) mRNA in the human follicle during the normal menstrual cycle and immunolocalization of G-CSF protein. *Hum Reprod*. 17(12):3046-52, 2002

- (145) McCracken SA, Grant KE, MacKenzie IZ, Redman CW, Mardon HJ. Gestational regulation of granulocyte-colony stimulating factor receptor expression in the human placenta. *Biol Reprod.* 60(4): 790-6, 1999.
- (146) Litwin S, Lagadari M, Barrientos G, Roux ME, Margni R, Miranda S. Comparative immunohistochemical study of M-CSF and G-CSF in fetomaternal interface in a multiparity mouse model. *Am J Reprod Immunol*,54(5): 311-20, 2005.
- (147) Morris ES, MacDonald KP, Rowe V, Johnson DH, Banovic T, Clouston AD, Hill GR. Donor treatment with pegylated G-CSF augments the generation of IL-10-producing regulatory T cells and promotes transplantation tolerance. *Blood*, 103(9):3573-81, 2004
- (148) Gonen Y, Casper RF, Jacobson W, Blankier J. Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: a possible predictor of implantation in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 52(3):446–50, 1989.
- (149) Alam V, Bernardini L, Gonzales J, Asch RH, Balmaceda JP. A prospective study of echographic endometrial characteristics and pregnancy rates during hormonal replacement cycles. *J Assist Reprod Genet.*10(3):215–9, 1993.
- (150) Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril.* 87(1):53–9, 2007.
- (151) Miwa I, Tamura H, Takasaki A, Yamagata Y, Shimamura K, Sugino N. Pathophysiologic features of "thin" endometrium. *Fertil Steril.* 91(4):998-1004, 2009.
- (152) Chien LW, Au HK, Chen PL, Xiao J, Tzeng CR. Assessment of uterine receptivity by the endometrial– subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization–embryo transfer. *Fertil Steril* 78(2):245-51, 2002.
- (153) Takasaki A, Tamura H, Miwa I, Taketani T, Shimamura K, Sugino N. Endometrial growth and uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. *Fertil Steril.* 93(6):1851-8, 2010.

- (154) Lédée-Bataille N, Olivennes F, Lefaix JL, Chaouat G, Frydman R, Delanian S. Combined treatment by pentoxifylline and tocopherol for recipient women with a thin endometrium enrolled in an oocyte donation programme. *Hum Reprod.* 17(5):1249–53, 2002.
- (155) Sher G, Fisch JD. Vaginal sildenafil (Viagra): a preliminary report of a novel method to improve uterine artery blood flow and endometrial development in patients undergoing IVF. *Hum Reprod.* 15(4):806–9, 2000.
- (156) Hsieh YY, Tsai HD, Chang CC, Lo HY, Chen CL. Low-dose aspirin for infertile women with thin endometrium receiving intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *J Assist Reprod Genet.* 17(3): 174–7, 2000.
- (157) Weckstein LN, Jacobson A, Galen D, Hampton K, Hammel J. Low-dose aspirin for oocyte donation recipients with a thin endometrium: prospective, randomized study. *Fertil Steril.* 68(5):927-30, 1997.
- (158) Maruyama T, Miyazaki K, Masuda M, Ono M, Uchida H, Yoshimura Y. Review: Human uterine stem/progenitor cells: Implications for uterine physiology and pathology. *Plasenta* 34,SupplS68-S72, 2013.
- (159) Miyazaki K, Maruyama T, Masuda H, Yamasaki A, Uchida S, Oda H, Uchida H, Yoshimura Y. Stem cell-like differentiation potential of endometrial side population cell as revealed by a newly developed in vivo endometrial stem cell assay. *PLoS One.* 7(12):e50749, 2012.
- (160) Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T, Kajitani T, Arase T, Oda H, Uchida H, Asada H, Ito M, Yoshimura Y, Maruyama T, Okano H. Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. *PLoS One* 28;5(4):e10387, 2010.
- (161) Cervelló I, Mas A, Gil-Sanchis C, Peris L, Faus A, Saunders PT, Critchley HO, Simón C. Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines. *Plos One.* 6(6):e21221, 2011.
- (162) Panayiotides I, Weyers S, Bosteels J, Van Herendael B. Intrauterine adhesions (IUA): has there been progress in understanding and treatment over the last 20 years? *Gynecol Surg.* 6(3):197–211, 2009.
- (163) Schwab KE, Chan RW, Gargett CE. Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle. *Fertil Steril.* 84(2):1124–30, 2005.

- (164) Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop Dj, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 8(4):315–7, 2006.
- (165) Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell*. 88(3):287–98, 1997.
- (166) Mattar CN, Biswas A, Choolani M, Chan JK .The case for intrauterine stem cell transplantation, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 26 (5) 683–95, 2012.
- (167) Li Y, Pan P, Chen X, Li L, Li Y, Yang D. Granulocyte Colony-Stimulating Factor administration for infertile women with thin endometrium in frozen embryo transfer program. *Reprod Sci*. 21(3):381–5, 2014.
- (168) Zhao J, Tian T, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Use of Granulocyte Colony-Stimulating Factor for the Treatment of Thin Endometriyum in Experimental Rats. *PLOS ONE*, 8(12):e82375, 2013.
- (169) Xu B, Zhang Q, Hao J, Xu D, Li Y. Two protocols to treat thin endometriyum with granulocyte colony-stimulating factor during frozen embryo transfer cycles. *Reprod Biomed Online*. 30(4): 349-58, 2015.
- (170) Kunicki M, Łukaszuk K, Woclawek-Potocka I, Liss J, Kulwikowska P, Szczyptańska J. Evaluation of granulocyte colonystimulating factor effects on treatment-resistant thin endometrium in women undergoing in vitro fertilization. *Biomed Res. Int*. 2014: 913235, 2014.
- (171) Gleicher N, Kim A, Michaeli T, Lee HJ, Shohat-Tal A, Lazzaroni E, Barad DH. A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometriyum resistant to standard therapies. *Hum. Reprod*. 28(1):172–7, 2013.
- (172) Barad DH, Yu Y, Kushnir VA, Shohat-Tal A, Lazzaroni E, Lee HJ, Gleicher N. A randomized clinical trial of endometrial perfusion with granulocyte colony-stimulating factor in in vitro fertilization cycles: impact on endometrial thickness and clinical pregnancy rates. *Fertil Steril*. 101(3):710-5, 2014.
- (173) Gleicher, N., A. Vidali, Barad DH. Successful treatment of unresponsive thin endometrium. *Fertil Steril*. 95(6):2123 e13-7, 2011.

- (174) Salmassi A, Schmutzler AG, Huang L, Hedderich J, Jonat W, Mettler L. Detection of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in human follicular luteinized granulosa cells. *Fertil Steril.* 81 Suppl 1: 786-91, 2004.
- (175) Zhao Y, Chegini N. The expression of granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) and receptors in human endometrium. *Am J Reprod Immunol.* 42(5):303-11, 1999.
- (176) Kasius A, Smit JG, Torrance HL, Eijkemans MJ, Mol BW, Opmeer BC, Broekmans FJ. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 20(4):530-41, 2014.
- (177) Kovacs P, Matyas S, Boda K, Kaali SG. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod.* 18(11):2337-41, 2003.
- (178) Casper RF. It's time to pay attention to the endometrium. *Fertil Steril.* 3:519-21, 2011.
- (179) Haouzi D, Dechaud H, Assou S, De Vos J, Hamamah S. Insights into human endometrial receptivity from transcriptomic and proteomic data. *Reprod Biomed Online.* 24(1):23-34, 2012.
- (180) Barut F, Barut A, Dogan Gun B, Kandemir NO, Aktunc E, Harma M, Harma MI, Ozdamar SO. Expression of heat shock protein 70 and endothelial nitric oxide synthase in placental tissue of preeclamptic and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Pathol Res Pract.* 206(9):651-6, 2010.
- (181) Barut F, Barut A, Gun BD, Kandemir NO, Harma MI, Harma M, Aktunc E, Ozdamar SO. Intrauterine growth restriction and placental angiogenesis; *Diagn Pathol.* 22,5:24, 2010.
- (182) Harma M, Harma M. Defective placentation and resultant oxidative stress play similar role in complete hydatidiform mole to that in preeclampsia and early pregnancy loss; *Medical Hypotheses.* 66, 100-2, 2006.
- (183) Barut A, Harma M, Arıkan I, Harma MI, Barut F. Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression in Gestational Trophoblastic Diseases; *Int J Gynecol Cancer.* 20(3):337-40, 2010.
- (184) Harma M, Harma M, Kocyiğit A, Comparison of protein carbonyl and total plasma thiol concentration in patients with complete hydatidiform mole with those in healthy pregnant women; *Acta Obstet Gynecol Scand.* 83(9): 857-60, 2004.



(185) Barut A, Barut F, Kandemir NO, Aktunc E, Arikani I, Harma M, Harma MI, Gun BD. Placental chorangiosis: the Association with oxidative stress and angiogenesis; *Gynecol Obstet Invest.* 73(2):141-51, 2012.



## 7.EKLER

### Ek 1: Etik Kurulu Onayı



T.C.  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 01.07.2015  
**TOPLANTI NO** : 2015/05

- 4- B.E.Ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2015-16-01/07 Protokol no'lu "Wistar Albino Sıçanlarda Granulosit Koloni Stimule Edici Faktörün Endometriyum Kalınlığına Etkisinin Araştırılması" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

### ASLI GİBİDİR

**Prof. Dr. K. Varım NUMANOĞLU**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı**