



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**ANTİ MÜLLERİAN HORMON'UN SIÇANLARDA
FOLLİKÜL GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN IŞIK VE
ELEKTRON MİKROSKOBİK DÜZEYDE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. YURDUN KUYUCU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ÖZGÜL TAP**

ADANA-2011



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**ANTİ MÜLLERİAN HORMON'UN SIÇANLARDA
FOLLİKÜL GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN IŞIK VE
ELEKTRON MİKROSKOBİK DÜZEYDE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. YURDUN KUYUCU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ÖZGÜL TAP**

**Bu tez TF2009LTP57 nolu proje ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

ADANA-2011

TEŞEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji uzmanlığı eğitimim süresince hiçbir alanda destek ve katkılarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Sait Polat'a, tezimin hazırlanmasında kıymetli öneri ve yapıcı eleştirileri ile beni destekleyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Özgül Tap'a, uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Anabilim Dalı'ndaki diğer öğretim üyeleri; Prof. Dr. Mehmet Kaya'ya, Prof. Dr. Suna Solmaz'a, Prof. Dr. Ufuk Özgü Mete'ye ve Yard. Doç. Dr. Hülya Özgür'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte uzunca bir süreyi beraber paylaştığımız araştırma görevlisi ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı teknisyen ve personeli arkadaşlarıma, ilaç dozu ayarlanmasında yardımcı olan Farmakoloji Anabilim Dalı Öğr. Gör. Dr. Eda Kumcu'ya, deneylerim sırasında yardımlarını esirgemeyen TIBDAM sorumlusu veteriner Dr. Kenan Dağlıoğlu ve personeline, biyokimyasal kan değerlerinin ölçümlerinin yapılmasında katkıları olan Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvar'ı sorumlusu Prof. Dr. Akgün Yaman ve personeline, istatistiksel çalışmalar kısmındaki desteklerinden dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr. Gör. Uzm. Dr. Yaşar Sertdemir'e teşekkürlerimi sunarım.

Yetişmemde ve yaşamımın her alanında bana sonsuz destek olan aileme, hayatta ve asistanlık eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, yardımını ve özverisini esirgemeyen sevgili eşim Op. Dr. Faruk Kuyucu'ya ve varlıklarıyla hayatımı anlamlı, kendimi de şanslı hissettiren çocuklarım İpek ve Mert'e teşekkürlerimi sunarım.

Arş. Gör. Dr. Yurdun Kuyucu

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMA LİSTESİ	VI
ÖZET ve ANAHTAR SÖZCÜKLER	VII
ABSTRACT - KEYWORDS	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Over Histolojisi	3
2.1.1. Ovarian Folliküller	4
2.1.1.1. Primordial Folliküller	4
2.1.1.2. Gelişen Folliküler (Büyüyen Folliküler)	4
2.1.1.3. Olgun Follikül (Graaf Follikülü)	6
2.1.1.4. Ovulasyon	6
2.1.1.5. Oogenez	6
2.1.1.6. Follikülogenez	7
2.1.1.7. Korpus Luteum	8
2.1.1.8. Atretik Folliküller	9
2.1.2. İnterstisyel Hücreler	10
2.1.3. Ovarian Stroma	10
2.2. Over Embriyolojisi	10
2.3. Anti Müllarian Hormon	12
3. GEREÇ ve YÖNTEM	14
3.1. Kullanılan Deneysel Hayvanları ve Hayvan Bakımı	14
3.2. Deneysel Yapılışı	14
3.3. Işık Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemleri	15
3.4. Elektron Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemleri	15
3.5. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri	17
3.6. İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR	18
4.1. Ağırlık Ölçümleri	18
4.2. Biyokimyasal Kan Analizleri	18
4.3. Işık Mikroskopik Bulgular	19
4.3.1. Kontrol Grubu	22
4.3.2. Grup 2 Bulguları	22
4.3.3. Grup 3 Bulguları	23
4.3.4. Grup 4 Bulguları	23
4.4. Transmisyon Elektron Mikroskopik Bulgular	28
4.4.1. Kontrol Grubu	28
4.4.2. Grup 2 Bulguları	30
4.4.3. Grup 3 Bulguları	31
4.4.4. Grup 4 Bulguları	33

5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	68

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo no</u>	<u>Sayfa no</u>
Tablo 1. Işık mikroskopik doku takip işlemi.	15
Tablo 2. Elektron mikroskopik doku takip işleminde dehidratasyon işlemi.	16
Tablo 3. Sıçanların ağırlık ortalamaları.	18
Tablo 4. FSH, LH, östrojen ve progesteron ortalama değerleri.	18
Tablo 5. Follikül sayım sonuçları.	19

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil no</u>	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1. Primordiyal follükül sayıları.	20
Şekil 2. Primer follükül sayıları.	20
Şekil 3. Sekonder follükül sayıları.	20
Şekil 4. Tersiyer follükül ve kistik follükül sayıları.	21
Şekil 5. Atretik follükül sayıları.	21
Şekil 6. Korpus luteum sayıları.	21
Şekil 7. Kontrol grubu.	24
Şekil 8. 2. grup.	25
Şekil 9. 3. grup.	26
Şekil 10. 4. grup.	27
Şekil 11. Kontrol grubu. Over yüzey epiteli.	34
Şekil 12. Kontrol grubu. Primordiyal follükül.	35
Şekil 13. Kontrol grubu. Gelişim sürecine girmiş follükül.	36
Şekil 14. Kontrol grubu. Gelişim sürecine girmiş follükül.	37
Şekil 15. Kontrol grubu. Korpus luteum.	38
Şekil 16. 2. grup. Primer follükül.	39
Şekil 17. 2. grup. Primer follükülde silyum.	40
Şekil 18. 2. grup. Antral follükül.	41
Şekil 19. 2. grup. Kistik hal alan antral follükül.	42
Şekil 20. 2. grup. Korpus luteum.	43
Şekil 21. 2. grup. Ovarian stroma.	44
Şekil 22. 3. grup. Over yüzey epiteli.	45
Şekil 23. 3. grup. Primordiyal follükül.	46
Şekil 24. 3. grup. Primer follükül.	47
Şekil 25. 3. grup. Gelişen follükül.	48
Şekil 26. 3. grup. Antral follükül.	49
Şekil 27. 3. grup. Kistik hal alan antral follükül.	50
Şekil 28. 3. grup. Antral follükülde erken luteinizasyon.	51
Şekil 29. 3. grup. Korpus luteum.	52
Şekil 30. 3. grup. Ovarian stroma.	53
Şekil 31. 4. grup. Over yüzey epiteli.	54
Şekil 32. 4. grup. Primer follükül.	55
Şekil 33. 4. grup. Primer follükül.	56
Şekil 34. 4. grup. Kistik hal alan antral follükül.	57
Şekil 35. 4. grup. Ovarian stroma.	58

KISALTMA LİSTESİ

AMH	: Anti Müllerian Hormon
bFGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
BMP2	: Kemik morfogenetik protein 2
BMP4	: Kemik morfogenetik protein 4
BMP5	: Kemik morfogenetik protein 5
BMP6	: Kemik morfogenetik protein 6
BMP7	: Kemik morfogenetik protein 7
BMP15	: Kemik morfogenetik protein 15
EGF	: Epitelyal büyüme faktörü
FSH	: Follikül stimulan hormon
GDF9	: Büyüme diferansiyasyon faktörü 9
GER	: Granüler endoplazmik retikülüm
hCG	: İnsan koryonik gonadotropin
IU	: İnternasyonal ünite
IVF	: <i>In vitro</i> fertilizasyon
kd	: Kilo dalton
LH	: Luteinizan hormon
MIS	: Müllerian inhibe edici madde
PMSG	: Gebe kısrak serum gonadotropin
PCOS	: Polikistik over sendromu
rhMIS	: Rekombinant insan Müllerian inhibe edici madde
SER	: Agranüler endoplazmik retikülüm
TEM	: Transmisyon elektron mikroskobu
TGF- β	: Transforme edici büyüme faktörü β
TIBDAM	: Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi

ÖZET

Anti Müllerian Hormon'un Sıçanlarda Follikül Gelişimi Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde Değerlendirilmesi

Amaç: Overlerde otokrin ve parakrin büyüme faktörleri arasında, inhibitör rolü olduğu bilinen AMH'nun follikül gelişimi ve oosit kalitesi üzerine olan muhtemel etkilerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada kullanılan 20 erişkin dişi sıçan 4 gruba ayrıldı. Tüm sıçanlara deneyin 1. günü saat 08⁰⁰de 10 IU PMSG intraperitoneal yolla uygulandı ve bu uygulamadan 48 saat sonra 10 IU hCG intraperitoneal yolla verilerek sıçanların östrus sikluslarının senkronizasyonu sağlandı. Kontrol grubuna deneyin 1. günü PMSG enjeksiyonundan sonra 0,5 ml serum fizyolojik intraperitoneal yolla uygulanırken 2., 3. ve 4. gruplara sırasıyla 1 µgr, 2 µgr ve 5 µgr recombinant human MIS/CF intraperitoneal olarak enjekte edildi. 3. gün, hCG enjeksiyonundan 8 saat sonra, tüm sıçanlara ketamin ve ksilazin intramüsküler verilerek anestezi sağlandı. Anestezi altındaki sıçanlardan biyokimyasal analizler için intrakardiyak kan alınarak, serum FSH, LH, östrojen ve progesteron analizleri yapıldı. Her bir sıçanın bir overi elektron mikroskopik, diğeri ışık mikroskopik inceleme için doku hazırlama yöntemlerine uygun olarak hazırlandı ve Jeol 1400 TEM ve Nikon ışık mikroskoplarında değerlendirilerek, mikrografları elde edildi. Işık mikroskopik incelemeler sırasında seri kesitler alınarak primordiyal folliküller, gelişen folliküller, kistik folliküller, atretik folliküller sayılarak gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal Wallis testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Işık ve elektron mikroskopik bulgular değerlendirildiğinde; Sekonder folliküllerin sayılarının AMH doz artışına paralel olarak azaldığı, atretik folliküllerin sayılarının ise arttığı, atrezinin granüloza hücreleri arasında apoptotik cisimler ile karakterize apoptozis ve granüloza hücre sitoplazmaları içerisinde vakuol artışı, granüler endoplazmik retikülüm sisternalarında ve perinükleer sisternalarda genişlemeler ile karakterize parapitozis aracılığı ile geliştiği saptandı. Bazı folliküllerde ise ovulasyon oluşmadan, granüloza hücre sitoplazması içerisine lipid damlacığı artışı, tübüler kristal mitokondriyonların ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının gözlenmesi ile karakterize erken luteinizasyonun olduğu görüldü. AMH uygulanan deney gruplarında, geniş antrumu ve incelmış granüloza tabakası ve yassılaştırmış granüloza hücreleri ile kistik görümlü folliküller izlendi. Korpus luteum ve stroma yapısı tüm gruplarda benzer özelliklerde izlendi.

Sonuç: Artan dozlarda AMH uygulanması, özellikle gelişme sürecine girmiş follikülleri etkileyerek bunların apoptozis veya parapitozis yolu ile atreziye gitmelerine, bazı folliküllerde erken luteinizasyon gelişimine, ileri gelişme dönemindeki tersiyer folliküllerin ise kistik hal almasına neden olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Anti Müllerian Hormon, Follikülogenez, Oosit, Over.

ABSTRACT

The Effects of the Anti Müllerian Hormone on Folliculogenesis in Rats: Light and Electron Microscopic Evaluation

Introduction: Evaluation of the probable light and electron microscopic effects of anti-Müllerian hormone that is an autocrine and paracrine growth factor of the ovary that plays an inhibitory role on follicular development was aimed.

Materials and Methods: Twenty adult female rats used in the research were divided into 4 groups. On the first experimental day all rats in all groups were injected with 10 IU PMSG intraperitoneally at 08⁰⁰ o'clock and after 48 hours 10 IU hCG was injected intraperitoneally for estrus cycle synchronisation. Control group was injected with only 0,5 ml saline, 2nd, 3rd and 4th groups were injected intraperitoneally with 1 µgr, 2 µgr ve 5 µgr recombinant human MIS/CF respectively after PMSG injection on the first day. On the third day, after the hCG injection anesthesia was performed with intramuscular ketamine ve xylasine injection. The intracardiac blood samples were taken from the rats under anesthesia for measurements of the serum FSH, LH, estrogen and progesteron levels. Ovarian samples were obtained for light and electron microscopic evaluations and micrographs were prepared by Jeol 1400 TEM and Nikon light microscopy. Morphometric analyses were made from serial sections for primordial follicles, developing follicles, cystic follicles, atretic follicles. Statistical analyses were performed by using Kruskal Wallis tests.

Results: When light and electron microscopic findings were evaluated; parallel with an increased dose of AMH, while secondary follicles decreased in number, atretic follicles increased. Atresia of granulosa cells developed by apoptosis of granulosa cells characterized by apoptotic bodies and paraptosis characterised by the vacuole formation in the cytoplasm, expansion of granular endoplasmic reticulum cisternae and perinuclear cisternae were seen. Premature luteinisation of the granulosa cells characterized by widespread lipid droplets, agranüler endoplasmic reticulum cisternae and mitochondria with tubular type cristae in some follicles which had not ovulated occurred. Cystic follicles characterised with a large antrum, attenuated stratum granulosum layer and flattened granulosa cells that faced with the antral cavity were observed in the AMH injected experimental groups. Structure of corpus luteum and stroma were similar in all groups.

Conclusion: It is concluded that increasing doses of AMH caused atresia via apoptosis or paraptosis, premature luteinisation of granulosa cells in the developing follicles and cystic follicle formation in the tertiary follicles.

Key words: Anti Müllerian Hormone, Folliculogenesis, Oocyte, Ovary.

1. GİRİŞ

Overde doğumdan sonra, sadece primordial folliküller bulunmaktadır. Bu folliküller puberteye kadar gelişmeden kalırlar. Puberteden sonra her menstruel siklusta belli sayıda primordial follikül gelişmeye başlar ve ancak bir veya nadiren birden fazla follikül follikülogenezin son aşamasına kadar ilerleyerek gelişimini tamamlar ve ovulasyon gerçekleşir.¹⁻⁵

Follikül gelişiminde hipofizden salgılanan gonadotropinler (FSH ve LH) ve overden salgılanan lokal büyüme faktörleri rol oynamaktadır. Overden salgılanan parakrin etkili, lokal büyüme faktörleri oosit kaynaklı veya granüloza hücresi kaynaklı olabilir. Bunlar büyüme diferansiyasyon faktörü 9 (GDF9), kemik morfogenetik protein 6 (BMP6), kemik morfogenetik protein 7 (BMP7), kemik morfogenetik protein 15 (BMP15), c-Kit, anti Müllerian hormon (AMH), epitelyal büyüme faktörü (EGF), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) olup, follikülogenezde rol alan başlıca büyüme faktörleridir.⁵

Anti Müllerian Hormon, Müllerian inhibe edici madde (MIS) olarak da bilinen 140-kd ağırlığında bir glikoproteindir. Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) süperailisinin bir üyesi olan AMH; erkeklerde intrauterin gelişim döneminde salgılanarak, dişi genital duktuslarını oluşturacak olan Müllerian kanalların gelişimini inhibe etmektedir. Erişkinlerde ise dişide; gelişmeye başlamış ovarian folliküllerin granüloza hücrelerinden, erkekte Sertoli hücrelerinden salgılanmaktadır. Overden salgılandığında parakrin tipte etki gösteren AMH büyüme faktörleri içerisinde inhibitör etki göstermektedir.⁶⁻⁸ Primer follikül oluştuktan sonra granüloza hücrelerinden salgılanmaya başlayan AMH'un miktarının ovulasyona kadar arttığı ve komşu folliküllerin gelişimini inhibe ettiği bildirilmektedir.^{7,8} Yapılan çalışmalarda, AMH'nun *in vitro* şartlarda hücre kültür ortamına eklenerek insan ve sıçan overlerinde follikülogenez üzerine olan etkileri araştırılmıştır.^{9,10} Bu araştırmalar sonucunda AMH'un; primordial follikülden primer follikül oluşumunu engellediği ve follikülogenezin ilerleyen aşamalarında ise komşu folliküllerin granüloza hücrelerindeki FSH reseptörlerini inhibe ederek, bu folliküllerin FSH'a duyarsız hale gelmelerine neden olduğu saptanmıştır.^{9,11} Ayrıca yapılan çalışmalarda polikistik over

sendromlu (PCOS) hastalarda AMH serum seviyesinin, normal seviyenin 2-3 katına çıktığı ve PCOS ile AMH artışı arasında bir ilişki olabileceği rapor edilmektedir.¹²⁻¹⁴ Ayrıca, postmenapozeal dönemdeki kadınlarda follikül gelişimi olmadığından, AMH'un salgılanamadığı ve serum AMH düzeyinin düştüğü saptanmıştır. Bu nedenle pek çok araştırmacı AMH'u overde follikül rezervini gösteren iyi bir belirteç olarak kabul etmektedir.^{11,15} Bununla birlikte over rezervinin değerlendirilmesi *in vitro* fertilizasyon (IVF) çalışmalarında da önem kazanmaktadır. Pek çok araştırmacı AMH serum düzeylerinin tespitinin, over rezervinin belirlenmesinde FSH, LH ve ösradiolden daha anlamlı olabileceğini rapor etmektedirler.^{7,11,15} Bazı araştırmacılar ise granüloza hücreli tümörlerde serum AMH seviyesindeki önemli artışın, bu tümörlerin tanı ve tedavisinde yardımcı olabileceğini bildirmiştir.¹¹

AMH'un follikülogenez sürecine olan etkileri sınırlı sayıdaki *in vitro* çalışmalarda rapor edilmesine rağmen, *in vivo* koşullarda follikül ve oosit kalitesi üzerine olan etkileri henüz yeterince açık değildir ve AMH'un *in vivo* şartlarda follikülogenez üzerine olan etkilerini içeren herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Sunulan çalışmada, deneyin 1. günü PMSG enjeksiyonunu takiben östrus siklus boyunca sıçanlara intraperitoneal olarak verilen AMH'un, follikülogenez sürecinde hem folliküler hücreler hem de oosit kalitesi üzerine olan muhtemel etkilerinin, ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Over Histolojisi

Hafifçe düzleşmiş, ovoid organlar olan overler uterusun her iki tarafında birer tane olmak üzere pelvik kavitenin lateral duvarında yer alırlar. Over hilum tarafından periton katlantısı olan mesovarium ile uterusun geniş ligamentine tutunmuştur. Mesovariumun vasküler bağ dokusu hilumda ovarian stroma ile devam eder. Over en dıştan, tek katlı kübik hücrelerden oluşmuş epitel tabakası ile örtülüdür. Elektron mikroskobunda incelendiğinde epitelin periton boşluğuna bakan yüzünde pek çok mikrovillus olduğu görülür. Peritoneal mesotelin özel bir şekli olan epitel ince bir bazal lamina üzerine oturmuştur. Epitelin altında, tunika albuginea adı verilen sıkı bağ dokusundan oluşmuş bir tabaka bulunur.^{4,16}

Kesitlerde overde korteks ve medulla olmak üzere iki bölge ayırt edilebilir. Korteks dışta yer alır, medullayı hilusa kadar dıştan sarar. Gelişimin farklı evresindeki ovarian folliküller, atretik folliküller ve folliküllerin son ürünleri olan korpus luteum ve korpus albicansları içeren kompakt hücresel bir stromadan oluşmuştur. Stroma retiküler liflerden oluşan bir ağ ve iç şekilli hücrelerden meydana gelmiştir. Bu iç şekilli hücreler hem fibroblast, hem de düz kas hücrelerinin özelliklerini gösterir. Elastik doku çok az olup yalnızca kan damarları duvarında ve yüzey epitelinin altında bulunur. Stromal hücreler teka follikülünün gelişmesine katkıda bulunur. Ovarian korteksin görünümü bireyin yaşına ve ovarian siklusun evresine bağlıdır. Puberteden önce yalnızca primordial folliküller görülürken, puberte sonlarında gelişimin farklı evrelerinde folliküller bulunabilir. Seksüel olgunluğa ulaşıldığında primordiyal folliküllerin yanı sıra büyüyen folliküller (gelişen folliküller) olan primer, sekonder ve tersiyer folliküller ile birlikte onların son ürünleri olan korpus luteum ve atretik folliküller de görülebilir. Menapozdan sonra folliküller kaybolur ve senil korteks ince fibröz bağ dokusu tabakası haline gelir.^{4,16}

Medulla, iç kısımda yer alır ve hilumda mesovariumun vasküler bağ dokusu ile birleşir. Medulla pek çok sayıda geniş kan damarları, lenfatikler ve sinirleri içeren gevşek, fibroelastik bağ dokusundan meydana gelmiştir. Stroma dağınık durumda düz kas liflerinden oluşmuş demetlere sahiptir.^{4,16}

2.1.1. Ovarian Folliküller

Folliküllerin gelişme döneminde, histolojik olarak üç temel tip ovaryan follikül tanımlanabilir; primordiyal folliküller, gelişen folliküler (Primer follikül, sekonder follikül, tersiyer follikül olarak alt gruplara ayrılabilir) ve olgun folliküller (Graaf follikülü).⁴

2.1.1.1. Primordial Folliküller

Yenidoğan overinde 400.000 kadar follikül bulunur. Follikül miktarı hayat boyunca aşamalı olarak azalır ve menapozdan hemen sonra tamamen yok olur. Sıçan overinde görülen folliküllerin çoğunluğu 20 mikron kadar çapa sahip olan primordial folliküllerdir ve sıçanlarda erken postnatal dönemde gelişirler. Primordial folliküller, folliküller içerisinde en küçük ve en fazla olanlarıdır. Bunlar overin periferinde yer alır ve tunika albugineanın hemen altında kalın bir tabaka oluştururlar. Primordial folliküller, tek katlı yassı folliküler hücreler tarafından çevrili bir immatür ovumdan (primer oosit) oluşmuştur. Oosit, sferoidal bir hücre olup geniş veziküler bir çekirdek ve belirgin bir çekirdekçik içerir. Opak ve ince granüler sitoplazması annulate lamella, belirgin bir Golgi kompleksi, endoplazmik retikülüm sisternaları, ribozomlar, çok sayıda mitokondriyonlar ve küçük vesiküller içerir. Folliküller ovarian stromadan ince bir bazal lamina ile ayrılmışlardır.^{4,16}

2.1.1.2. Gelişen Folliküler (Büyüyen Folliküler)

Primordial folliküllerin gelişmesi ile oluşurlar. Puberteden sonra görülen, folliküllerin aşamalı bir şekilde gelişmesi, ovumun büyüme ve differansiyasyonu, folliküler hücrelerin proliferasyonu ve bağ dokusu kapsülünün çevre stromadan gelişmesi ile karakterizedir.

İmmatür ovumun hacmi giderek genişler, mitokondriyonların sayıları artar, Golgi kompleksi çok sayıda örtülü veziküller ile ilişkili olarak bulunur, kortikal granüllerin sentezi başlar, oosit yüzeyinde çok sayıda kısa mikrovilluslar gelişir. Oosit ile folliküler hücreler arasında desmozom tipi bağlantılar bulunur.^{4,16}

Ovumun etrafında koyu boyanan bir membran olan zona pellusida oluşur. Zona pellusida glikoprotein yapısında olup, taze durumda iken homojen görülür. Periyodik

Asit Schiff tekniđi ile belirgin olarak boyanan zona pellusida ovumun çevresindeki follikül hücreleri ve oosit tarafından sentez edilmektedir.^{4,16}

Yassı şekilli follikül hücreleri önce kübik sonra da prizmatik hale geçer. Aktif şekilde bölünerek ovumun etrafında çok katlı bir tabaka oluştururlar. Stratum granulozum olarak bilinen bu tabaka granuloza hücrelerinden oluşmuştur ve avaskülerdir. Böylece tek tabakalı primordial follikül çok tabakalı primer follikül haline geçer.^{4,16}

Primer follikülün hacmi arttığında, komşu ovarian stroma teka follikülü olarak adlandırılan bir kapsül haline gelir. Teka follikülü stratum granulozumdan bir bazal lamina aracılığı ile ayrılmıştır. Teka follikülü iki tabakaya ayrılır; içteki vasküler tabaka teka interna, dıştaki fibröz tabaka teka eksterna olarak adlandırılır. Teka interna genişlemiş, salgı yapan stromal hücreler ve çok sayıda kapillerlerden oluşmuştur. Gelişim sırasında poligonal şekilli teka interna hücreleri hızla genişler, vakuollü sitoplazma ve veziküller çekirdek içerirler. Teka eksterna sıkıca paketlenmiş kollajen lifler ve iğ şekilli hücrelerden oluşmuştur. Teka eksterna çevrede bulunan ovarian stroma ile devam eder.^{4,16}

Folliküler hücrelerin proliferasyonu, ovumun bir tarafında daha hızlı olur. Böylece follikül ovoid bir şekil alır ve ovum eksantrik pozisyonda yerleşir. Stratum granulozum 8-12 tabaka kalınlığa ulaştığında, folliküler yığın içerisinde berrak bir sıvı ile dolu küçük düzensiz boşluklar görülür. Sıvı dolu boşluklar birleşerek folliküler tabaka içerisinde antrum adında tek bir kavite haline gelir. Bu folliküller sekonder veya antral folliküller olarak tanımlanır. Sekonder follikülün antrumu follikül sıvısı olarak adlandırılan hyaluronik asitten zengin viskoz bir sıvı içerir. Granuloza hücreleri ile çevrilmiş olan ovum bir tarafında baskıya uğrar ve bunun sonucunda antrum kavitesinin içerisine doğru belirgin bir uzantı oluşturur ve eksantrik yerleşimli kümülüs ooforusu meydana getirir. Ovum ile direkt ilişkili olan kumulus ooforusun granuloza hücreleri radyal şekilde düzenlenerek korona radiatayı oluştururlar ve ovumdan sadece zona pellusida ile ayrılırlar. Elektron mikroskopik incelemelerde korona radiata hücrelerinin sitoplazmik uzantılarının zona pellusida boyunca uzanarak, ovumun hücre membranı ile ilişki kurduğu görülmektedir. Ayrıca ovumun mikrovillöz oluşumları da zona pellusida içerisine uzanmaktadır. Granuloza hücreleri, antrum kavitesinin diğer bölgelerinde çok

katlı epitel yapısındaki membrana granülozayı oluşturur ve düzgün bir tabaka olarak devamlılık gösterir.^{4,16}

2.1.1.3. Olgun Follikül (Graaf Follikülü)

Olgun follikül (Graaf follikülü), ovulasyon öncesindeki follikülün son halidir. Korteksin bütün derinliğini kaplar ve medullaya doğru bir çıkıntı meydana getirir. Olgun graaf follikülü overin serbest yüzünde dışa doğru bir bombe oluşturur, stigma denen bu bölgede tunika albuginea ve teka follikülü incelmıştır. Sıvının varlığı ile gerilmiş olan geniş antrum membrana granüloza ile sarılmıştır. Ovum en büyük hacmine ulaşmış, kalın zona pellusida ve korona radiata hücreleri ile çevrilmiştir. Folliküller olgunlaştığında kumulus ooforus hücreleri arasında içi sıvı ile dolu küçük, düzensiz boşluklar belirir, bundan dolayı ovumun stratum granülozum ile olan bağlantısı zayıflar. Olgun follikülde teka follikülü en ileri gelişimine ulaşır. Teka internayı oluşturan hücreler steroid salgılayan endokrin hücre özelliklerini gösterirler; Sitoplazmalarında yaygın agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, lipid damlacıkları, tübüler tipte kristalara sahip mitokondriyonlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve Golgi kompleksi içerirler. Dişi seks hormonlarından östrojen prekürsörlerini yaparlar. Teka eksterna ise kollajen lifler ve iğ şekilli hücrelerden oluşmuştur ve salgılama fonksiyonu göstermez.^{4,16}

2.1.1.4. Ovulasyon

Follikül olgunlaştıkça, follikül sıvısı artarak follikül çapını genişletir ve preovulatar şişkinlik oluşur. Follikülü örten korteks incelik, stigmadan yırtılır ve follikül sıvısı peritoneal boşluğa sızar. Follikül sıvısı ile birlikte, zona pellusida ve korona radyata hücrelerince çevrili olan ovumun da peritoneal boşluğa atılması olayına ovulasyon denir. Ovule olan ovum infundibulum kısmından tuba uterina içerisine girer ve 24 saat içerisinde sperm ile karşılaşırsa fertilize olabilir.¹⁷

2.1.1.5. Oogenez

Oogenezisi prenatal maturasyon ve postnatal maturasyon olmak üzere iki evrede inceleyebiliriz. Fötal overde, diploid sayıda kromozom içeren oogonia, mitotik bölünmeler geçirerek çoğalır. Oovigeroz kordonlar içerisinde oogonia birinci mayoz

bölünmenin profaz evresine girer.¹⁸ Folliküller olgunlaştıkça primer oosit büyür ve iki olgunlaşma bölünmeleriyle bir olgunlaşma süreci geçirir. Sonuç olarak haploid sayıda kromozoma sahip olur. Birinci olgunlaşma bölünmesi, olgun follikül içerisinde, ovulasyondan hemen önce gerçekleşir. Kromatin eşit olarak ikiye bölünür ancak sitoplazma eşit bölünmez. Yavru hücrelerden bir tanesi sitoplazmanın çoğunu alarak sekonder oositi, diğeri ise birinci polar cisimciği oluşturur. Oosit ovule olduğunda sekonder oosit aşamasındadır ve henüz tam olarak olgun değildir. İkinci mayoz bölünme başlamış, ancak metafaz evresinde duraksamıştır. Fertilizasyon ile ikinci mayoz bölünme tekrar aktive olur ve tamamlanır. Sonuç olarak sitoplazmanın çoğunu alan olgun ovum ve ikinci polar cisimcik oluşur.¹⁷

2.1.1.6. Follikülogenez

Primordial folliküller tükeninceye kadar düzenli olarak büyüyen folliküllerin havuzuna katılırlar. Primordial follikül büyümeye başladığında önce yassı olan folliküler hücreler kübik hal alarak çoğalırlar. Primer, sekonder ve tersiyer folliküllerin oluşumunu graaf follikülü oluşumu izler ve sonuçta ovulasyon gerçekleşir.¹⁸

Puberteden sonra follikül gelişiminde hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipofizden salgılanan follikül stimulan hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH), ayrıca overde sentezlenen otokrin ve parakrin etkili lokal büyüme faktörleri (GDF9, BMP6, BMP7, BMP15, c-Kit, bFGF, AMH,vs.) rol alır. Bunlar oosit, granüloza hücreleri ve teka hücrelerinde sentezlenip salınabilir. AMH gelişmekte olan folliküllerin granüloza hücrelerinde sentezlenip parakrin etki göstererek diğeri folliküllerin gelişimini inhibe etmesi ve dominant follikülün belirlenmesi açısından diğeri faktörlerden ayrı bir yere sahiptir.^{5,19}

Primordiyal follikülden primer follikül oluşması gonadotropinlerden bağımsızdır. Bu aşamada etkin olabilecek faktörler araştırma konusudur. Pregranüloza hücrelerinden ve oositten salınan kit ligand ve bFGF'ün etkili olabilecek ilk faktörler olduğu düşünülmektedir. Primer follikül oluştuktan sonra folliküllerin ileri gelişimi gonadotropinlerin (FSH, LH) ve lokal büyüme faktörlerinin etkisi ile olmaktadır. Lokal büyüme faktörlerinden GDF9, BMP6, BMP15 ve c-Kit oosit kaynaklıdır. AMH, EGF, bFGF, inhibin, aktivin, BMP2, BMP5, BMP6 granüloza hücrelerince salgılanır. BMP4, BMP7, TGF-beta teka hücre kaynaklıdır. Tüm bu faktörler, otokrin ve parakrin etki

gösterir ve bir büyüme faktörü kokteyli oluşturur. Denge ve uyum içerisinde fonksiyon göstermeleri söz konusudur.^{5,19}

2.1.1.7. Korpus Luteum

Ovulasyondan sonra follikül kavitesine kanama olur ve sonrasında granülasyon dokusu oluşur. Follikül duvarı kollabe olarak katlantılı hale geçer. Follikül duvarı geçici olarak bir bez yapısı haline gelir. Follikülün granüloza hücreleri büyük, soluk boyanan, geniş vesiküler çekirdeğe sahip hücelere farklanır. Sitoplazmalarında yaygın lipid damlacıkları, lipofuksin pigment granülleri, dağınık vaziyette tübüler tip kristallara sahip mitokondriyonlar ve oldukça fazla agranüler endoplazmik retikülüm ile granüler endoplazmik retikülüm sistemleri bulunur. Şekil değiştirmiş granüloza hücreleri, granüloza lutein hücreleri adını alır ve folliküler kavitenin etrafında kalın, katlantılı bir tabaka oluşturur.^{4,20}

Ovulasyondan önce hacimce büyüme gösteren teka interna hücreleri teka lutein hücrelerini meydana getirir. Kompakt, koyu boyanan çekirdeğe sahip bu hücreler granüloza lutein hücrelerinden daha küçüktür. Özellikle granüloza lutein hücreleri katlantıları arasında bulunan boşluklar içinde olmak üzere periferde yerleşirler. Teka eksterna kendine özgü düzgün ovoid dış görünümünü kazanır ve içerdiği hücreler şekil değiştirmezler.^{4,20}

Follikülün granüloza hücrelerini teka interna tabakasından ayıran bazal lamina depolimerizasyona uğrar ve çok sayıda kapillerler ve tekadan köken alan bağ dokusu lutein yığını istila eder. Fibroblastlar bütün korpus luteum boyunca ince bir retikülüm oluştururlar ve luteal hücrelerin iç yüzeyinde daralmış folliküler kavite ile ilişkili devamlılık gösteren bir örtü meydana getirirler.

Atılan ovum fertilize olmaz ise, korpus luteum ovulasyondan sonra maksimum gelişmesine uğrar ve sonradan dejenerasyonu başlar. Bu yapıya menstruasyon korpus luteumu denir. Vaskülarizasyon azalır ve korpus luteumu oluşturan hücrelerin hacmi küçülerek yağ dejenerasyonuna uğrar. Lutein hücreleri arasındaki bağ dokusu miktarı artar ve hyalinizasyona uğrar; korpus luteum aşamalı olarak beyaz bir nedbe olan korpus albicans'a dönüşür.^{4,21}

Eğer ovum fertilize olursa, korpus luteum büyür ve gebelik korpus luteumunu oluşturur. Hücreler gebeliğin orta aylarına kadar büyümeye devam eder, ardından yavaş

bir involüsyon başlar. Doğumu takiben involüsyon hızlanır. Sonuçta oluşan korpus albicans menstruasyon korpus albicansından büyüktür ve genellikle, involüsyon sonucu oluşan fibröz dokunun kasılmasıyla over yüzeyinin çekilmesine neden olur.^{4,20}

2.1.1.8. Atretik Folliküller

Memeli overlerindeki folliküllerin çoğu ovulasyon aşamasına gelemeden dejenerasyon yoluyla elimine edilir. Bu olaya folliküler atrezi denir. Atrezi, folliküler gelişimin herhangi bir evresinde meydana gelebilir. Folliküler evreye bağlı olarak, atrezi sonucu oluşan morfolojik görüntü değişiklik gösterir. Follikül gelişiminin ileri dönemlerinde atrezi daha kompleks bir hal alır.^{21,22}

Primordiyal ve gelişen, küçük folliküllerin atrezisinde oosit küçülür ve dejenere olur. Oosit çekirdeği çoğunlukla ekzantrik pozisyonda ve oosit membranı ile ilişkili olarak bulunmaktadır. Atrezinin ileri evrelerinde, çekirdekçik ooplazmada serbest olarak bulunabilir. Benzer değişiklikler folliküler hücrelerde de görülür. Atrezinin ilk işaretleri; piknozis olarak da adlandırılan, hücrelerin çekirdeklerinde kromatin kümelerinin yoğunlaşması ve çekirdeğin büzüşmesidir. Piknozise ek olarak, karyorheksis olarak adlandırılan, granüloza hücrelerinde çekirdek zarlarının yırtılarak kromatinin şekilsiz granüller şeklinde parçalanıp hücreden atılması da görülebilir. Dejenere olan hücreler reabsorbe olduktan sonra etraftaki stromal hücreler bu bölgeye göç eder ve atretik follikülden bir iz kalmaz.^{21,22}

Daha büyük folliküllerin atrezisinde oosit dejenerasyonu follikül duvarı dejenerasyonundan daha sonra meydana gelir. Granüloza hücrelerinde mitoz durur, apoptozis görülür. Makrofaj ve nötrofillerin de göç ettiği granüloza hücre tabakası içerisine vaskülarize bağ doku invazyonu olur. Granüloza hücreleri ve apoptotik cisimcikler antrum içerisine dökülür. Oositte de dejenerasyon ve otolizis görülür. Kümüls ooforusun büzüşmesi, antral yüzeyin düzleşmesi, ovumun da likör follikülü içerisine girmesi izlenebilir. Oositi takiben zona pellusida da dejenerasyona gider. Bazal membran folliküler hücrelerden ayrılabilir ve kalınlaşır. Bu görüntü ileri safhadaki folliküllerin atrezisi için tipiktir. Teka interna hücrelerinde hipertrofi olur. Follikül duvarı kollabe olur. Bağ doku folliküler kavite içerisine invaze olur. Granüloza hücreleri tamamen dejenere olur. Bununla birlikte, teka interna hücreleri, özellikle

kemiricilerde olmak üzere, bazı memelilerin ovarian stromasında interstisyel hücreler olarak varlığını sürdürür.^{21,22}

2.1.2. İnterstisyel Hücreler

Atreziye giden folliküllerin teka interna tabakasından köken alan interstisyel hücreler, kümeler halinde bulunurlar ve steroid sentez eden hücre karakteri gösterirler. Bu hücreler, yuvarlak şekilli olup, sitoplazmaları içerisinde iyi gelişmiş Golgi kompleksi, agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, tübüler tipte kristallara sahip mitokondriyonlar ve çok sayıda lipid damlacıkları içerirler. Ovarian stroma içerisinde bulunan interstisyel hücreler steroid hormon sentezine katkıda bulunur. İnsanda, pubertenin erken dönemlerinde sekonder seks karakterlerinin gelişimini sağlayan östrojenin önemli bir kaynağı olduğu düşünülmektedir. Diğer türlerde ise progesteronu ürettikleri gösterilmiştir.^{21,22}

2.1.3. Ovarian Stroma

Over korteksi, ovarian follikülleri içeren kompakt hücresel stromadan oluşmuştur. Stroma retiküler liflerden oluşan bir ağ ve iğ şekilli hücrelerden meydana gelmiştir. Bu iğ şekilli hücreler hem fibroblast ve hem de düz kas hücrelerinin özelliklerini gösterir. Elastik doku çok az olup yalnızca kan damarları duvarında ve over yüzey epitelinin altında bulunur. Stromal hücreler teka folliküllerinin büyümesine katkıda bulunur. Özellikle kemiricilerde olmak üzere, bazı memelilerin ovarian stromasında, ileri evredeki folliküllerin atrezisinden sonra oluşan, teka interna hücrelerinden kaynaklanan interstisyel hücreler bulunur. Menapozdan sonra folliküller kaybolur ve sonunda senil korteks ince bir fibröz bağ dokusu tabakası haline gelir.^{4,16}

Ovarian medulla pek çok sayıda geniş kan damarları, lenfatikler ve sinirleri içeren gevşek, fibroelastik bağ dokusundan meydana gelmiştir. Stroma dağınık durumda düz kas liflerine sahiptir.^{4,16}

2.2 Over Embriyolojisi

Her iki cinsde de farklanmamış gonadlar her bir mezonefrozun ventrolateral yüzeyinde bulunan kölomik epitelin kalınlaşması ile gelişir.¹⁸ Gametogenezis, özelleşmiş üreme hücreleri olan gametlerin oluşum ve gelişme sürecidir. Gametler

primordiyal germ hücrelerinden gelişir. Primordiyal germ hücreleri ilk olarak yolk kesesi duvarının allantoise yakın olan kısmında görülür. Transmisyon elektron mikroskop (TEM) ile incelendiğinde 15-20 µm çapında, yuvarlak şekilli olduğu görülür. Eksantrik yerleşimli, ince granüler kromatine sahip çekirdek içerir. Bir veya iki, geniş çekirdekçiğe sahiptir. Primordiyal germ hücresinin sitoplazmasında organel azdır. Nükleusa yakın oval veya yuvarlak şekilli, tübülo-veziküler kristalara sahip mitokondriyonlar bulunur. Tek bir Golgi kompleksi, perinükleolar yerleşimli granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, serbest ribozom, polizom ve veziküller içerir. Primordiyal germ hücreleri sitoplazmasında glikojen partikülleri ve lipid damlacıkları da yer alır. Primordiyal germ hücreleri ve etrafındaki somatik hücreler arasında yakın temas alanları gözlenebilir.^{1-4,16,19,22,23}

Primordiyal germ hücreleri ameboid hareketlerle gelişmekte olan barsak dorsal mezenterinden geçerek gelişmekte olan ilkel gonadlara göç eder. TEM ile incelendiğinde fuziform ve irregüler bir şekil aldığı ve psödopodları oluşturan sitoplazmik uzantılar içerdiği görülür. Bu aşamada henüz üzerinde çalışılmakta olan kemotaktik faktörler ve sitokinlerin rol aldığı düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar ekstrasellüler matrikste bulunan fibronektinin migrasyona etkileri ile ilgili çalışmalar yapmaktadır.⁴ Primordiyal germ hücreleri yüzeyinde glikokaliks oluşmakta ve bu da ekstrasellüler matrikste, aralarında fibronektinin de bulunduğu makromoleküllere bağlanmasını sağlamaktadır. Glikokaliks, kemotaktik faktör ve sitokinlerin bağlanabilmesi için de imkan sağladığı için önemlidir.^{1-4,19,22}

Primordiyal germ hücreleri gonadlara ulaşamaz ise dejenere olarak yok olurlar. Aynı şekilde gonadların da ileri gelişimi için primordiyal germ hücrelerinin gonadlara ulaşmış olması gerekmektedir.^{1-4,19,22}

Primordiyal germ hücreleri gelişmekte olan gonadlara ulaşır ulaşmaz oogoniumlara farklılık gösterir. Bu arada mitoz ile hızla çoğalarak oogoniumların sayıları artar.^{1-4,19,22}

Oogoniumlar bölünerek hücre kümeleri oluştururlar ve hücreler arası köprüler aracılığı ile birbirleri ile ilişki kurarlar. Bu olaya kolonizasyon adı verilir. Hücreler arası köprülerin; hızlı mitoz sonucu, sitoplazmaların tam ayrılamamasına bağlı olduğu düşünülmektedir.^{4,19,22}

Hem germ hücrelerinin hem de somatik hücrelerin proliferasyonu sonucunda genital çıkıntılar hızla genişlerler. Gelişen overde oogonia ve epitelyal hücreler overin yüzey epiteli ile devam eden, epitelyal yapılar halinde düzenlenirler ve ovigeroz kordonlar olarak adlandırılırlar. Bu epitelyal oluşumlar bir bazal membran ile sarılı olup, dış tarafta mezenşimal hücrelerce sınırlandırılırlar. Böylece farklı overde ovigeroz kordonlar ve interstisyum olmak üzere iki belirgin kompartman oluşur. Ovigeroz kordonlar içerisindeki oogoniumlar birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girerler. Doğumdan sonra ovigeroz kordonlar kırılarak, mayotik profazın diploten evresinde bekleyen bir oosit ve oositi çevreleyen tek sıralı follüküler hücreleri içeren follüküler ünitelere farklılaşır ve bu follüküller primordial follükül olarak adlandırılır. Sıçanlarda doğumdan kısa süre sonra oluşan overlerde primordial follüküller periferde yerleşirken, primordial follükülerden kısa süre sonra oluşan primer follüküller overin merkezinde yerleşir. Primer follükül oluşumunu takip eden günler içerisinde follüküller ileri gelişmelerine devam eder ve 35. gün civarında reproduktif yaşamın ilk ovulasyonu gerçekleşir.¹⁸

2.3 Anti Müllerian Hormon

Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) süperailisinin bir üyesi olan AMH dimerik bir glikoproteindir. Erkeklerde intrauterin dönemin 5. haftasından itibaren Sertoli hücrelerinden salgılanarak, dişi genital duktuslarını oluşturacak olan Müllerian kanalların gelişimini inhibe etmektedir. Dişilerde gelişmeye başlamış ovarian follüküllerin (preantral ve küçük antral follüküllerin) granüloza hücrelerinden, dominant follükül olarak seçilinceye kadar salgılanmaktadır. AMH, primordiyal follüküllerden, FSH'ya bağımlı antral follüküllerden ve atretik follüküllerden salgılanmaz. Preantral ve preovuluar follüküllerdeki oositlerden salgılanan parakrin hormonlar, AMH mRNA'sının ekspresyonunu artırmaktadır.²⁴

Overden salgılandığında parakrin tipte etki gösteren AMH büyüme faktörleri içerisinde inhibitör etki göstermektedir. Primer follükül oluştuktan sonra granüloza hücrelerinden salgılanmaya başlayan AMH miktarı, ovulasyona kadar artar ve komşu follüküllerin gelişimini inhibe eder. AMH primordial follükülden primer follükül oluşumunu engeller. Follükülogenezisin ilerleyen aşamalarında ise komşu follüküllerin

granüloza hücrelerinin FSH'a duyarsız hale gelmesine, granüloza hücrelerinin büyümesinin inhibisyonuna ve aromataz inhibisyonuna neden olur.^{8-10,24,25}

Dişilerde AMH düzeyi doğumda belirlenemezken doğumdan sonraki haftalarda hafifçe artar, geç pubertede pik yapar ve reproduktif yaşam boyunca folliküler rezerv azaldıkça giderek azalır ve sonuçta menapozdan sonra belirlenemez hale gelir. AMH serum düzeyi overde bulunan preantral follikül miktarı ile direk ilişkilidir. Pek çok araştırmacı AMH'u overde follikül rezervini gösteren iyi bir belirteç olarak kabul etmektedir.²⁴ Over rezervinin değerlendirilmesi *in vitro* fertilizasyon çalışmaları için önemlidir.^{7,11} Granüloza hücreli tümörlerde ise serum AMH seviyesindeki önemli artış, bu tümörlerin tanı ve tedavisinde yardımcı olmaktadır.²⁶

PCOS'lu hastalarda AMH serum seviyesi, normal seviyenin 2-3 katına çıkmaktadır. AMH serum seviyesinin artışı folliküllerin granüloza hücrelerinin FSH'a duyarsız hale gelmesine neden olur. Antral follikül sayısı artar. Folliküllerin ovüle olması inhibe olduğu için overde çok sayıda kistik follikül oluşur. AMH aromataz aktivitesini inhibe ettiği için hiperandrojenemi oluşur. Sonuçta adet düzensizliği, hirsutizm ve fertilitate bozuklukları oluşur.^{12-14,24}

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Deney Hayvanları ve Hayvan Bakımı

Sunulan çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde (TIBDAM) yapılmıştır. Tüm işlemler 1986 Uluslararası Strasbourg Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesine uygun olarak, Etik Kurul onayı ile veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirilmiştir.

Sunulan çalışmada ağırlıkları ortalama 200 gr olan, 15-20 haftalık 20 adet Wistar cinsi albino dişi sıçan kullanıldı. Sıcaklık 22 ± 2 °C'de sabit tutularak sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık periyoduna maruz bırakıldı. Havalandırma pencere tipi aspiratörle sağlandı. Sıçanlar paslanmaz tel kapakları olan plastik kafesler içerisinde tutuldu. Kafeslerin içerisine altlık olarak talaş serildi. Hayvanlar hazır pellet yem ile beslenirken, su gereksinimlerinde çeşme suyu kullanıldı. Tüm hayvanların su ve besin alımları serbest olarak sağlandı.

3.2. Deneyin yapılışı

Araştırmada 20 erişkin dişi sıçan 4 gruba ayrılarak 1. grup kontrol grubu olarak değerlendirilirken, 2. gruba 1 µg, 3. gruba 2 µg, 4. gruba ise 5 µg dozda AMH intraperitoneal olarak 1 kez uygulandı. Deneyin başında ve deney sonunda sıçan ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Bütün gruptaki sıçanlara deneyin 1. günü saat 08⁰⁰de 10 IU PMSG 0,5 ml serum fizyolojik içerisinde intraperitoneal yolla uygulandı ve bu uygulamadan 48 saat sonra 10 IU hCG 0,5 ml serum fizyolojik içerisinde intraperitoneal verilerek östrus sikluslarının senkronizasyonu sağlandı. Ayrıca kontrol grubundaki sıçanlara deneyin 1. günü PMSG enjeksiyonunu takiben 0,5 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulanırken 2. gruba 1 µgr, 3. gruba 2 µgr, 4. gruba 5 µgr recombinant human MIS/CF (R&D Systems) 0,5 ml serum fizyolojik içerisinde intraperitoneal olarak enjekte edildi. 3. gün, hCG enjeksiyonundan 8 saat sonra, tüm sıçanlara ketamin 90 mg/kg ve ksilazin 10 mg/kg intraperitoneal verilerek anestezi sağlandı. Anestezi altındaki sıçanlardan biyokimyasal analizler için intrakardiyak kan alınarak, serum FSH, LH, östrojen ve progesteron analizleri yapıldı. Her bir sıçanın bir overi elektron mikroskopik, diğeri ışık mikroskopik inceleme için doku hazırlama

yöntemlerine uygun olarak hazırlandı ve Jeol 1400 TEM ve Nikon ışık mikroskoplarında değerlendirilerek, mikrografları elde edildi.

3.3. Işık Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemleri²⁷

Over doku örnekleri hemen Bouin solüsyonu içerisine alınarak 8 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra % 50'lik alkolde 6 saat bekletilerek pikrik asitin uzaklaşması sağlandı. % 70'lik alkolde 1 gece bekletilen dokulara 70°C'lik etüvde kısa süreli doku takibi yöntemi uygulandı (Tablo 1).

Tablo 1 . Işık mikroskopik doku takip işlemi

Solüsyon	Süre
1. Etil Alkol (% 96)	15 dakika (3 kez)
2. Ksilol + Alkol	15 dakika
3. Ksilol	30 dakika (2 kez)
4. Sıvı parafin	45 dakika
5. Sıvı parafin	60 dakika
6. Bloklama	

Blok haline getirilen dokulardan, 5 µm kalınlığında seri kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ile boyandı, Nikon ışık mikroskopunda 80 µm'de bir, her hayvan için 7 alanda, primordial follüküller, primer follüküller, sekonder follüküller, tersiyer follüküller, kistik görümlü follüküller, atretik follüküller ve korpus luteumlar sayılarak istatistiksel analizleri yapıldı ve over morfolojisi değerlendirilerek resimleri çekildi.²⁸

3.4. Elektron Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemleri²⁹

Elektron mikroskopik incelemeler için Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 5'lik glutaraldehit solüsyonun içerisine alınan over dokuları dişçi mumu ile kaplanmış petri kutularında 1 mm³ büyüklüğünde parçalara ayrılarak 4 saat süre ile +4°C'de tespit edildi. Tespit işleminden sonra, dokular Millonig fosfat tampon solüsyonunda yıkanarak aynı tampon içerisinde bir gece bekletildi. Ertesi gün Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 1'lik osmium tetraoksit solüsyonuna alınarak 2 saat süreyle ikinci tesbiti

yapılan dokular tampon solüsyonu ile iki kez 10'ar dakika yıkanarak derecesi giderek artan alkol serilerinde dehidrate edildi (Tablo 2).

Tablo 2 . Elektron mikroskopik doku takip işleminde dehidratasyon işlemi.

Solüsyon	Süre
% 50 Etil alkolde +4° C'de	15 dakika
% 70 Etil alkolde +4° C'de	15 dakika
% 86 Etil alkolde +4° C'de	15 dakika
% 96 Etil alkolde +4° C'de	15 dakika
% 100 Etil alkolde +4° C'de	15 dakika
% 100 Etil alkolde +4° C'de	15 dakika
% 100 Etil alkolde oda ısısında	15 dakika
Propilen oksitte oda ısısında	15 dakika
Propilen oksitte oda ısısında	15 dakika
Propilen oksit + gömme materyali (rezin)	30 dakika
Propilen oksit + gömme materyali (rezin)	30 dakika

Oda ısısında şeffaflandırılan dokular, aşağıda belirtildiği gibi hazırlanan gömme materyali içerisinde bir gece süreyle rotatorda immerse edildi.

Gömme materyali :

Araldit	CY 212	20 ml
Sertleştirici	HY 964	20 ml
Hızlandırıcı	DY 064	0.6 ml
Plastikleştirici – Dibütil Fitalat		1 ml

Ertesi gün doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak 00 polietilen kapsüllere gömüldü ve 60° C'de etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Daha sonra elde edilen bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Reichert Ultracut S ultramikrotomu ile yarı ince kesitler alınarak, toluidin mavisi ile boyandı ve ince kesit alınacak alanlar belirlendi. 500 A° kalınlığında alınan kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere toplandı ve % 70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat

ve Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler Jeol JEM 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu ile incelendi ve mikrograflar elde edildi.

3.5. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri

Anestezi altındaki sıçanlardan enjektör yardımıyla intrakardiyak kan örnekleri alınarak, cam tüpler içerisine konuldu. Bu örnekler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar pasteur pipet ile çekilerek ependorf tüplerine alındı ve incelenmek üzere -20 °C'de derin dondurucuda bekletildi.

Serum örnekleri oda ısısında bekletilerek çalışma periyoduna getirildi ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarında Roche, Modular Analytics sistem (E-170) Electrochemiluminescence immunoassay yöntemi ile FSH, LH, östrojen ve progesteron düzeyleri ölçüldü.

3.6. İstatiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 18.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümleri ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Ağırlık Ölçümleri

Deney başlangıcında ve deney sonucunda yapılan ağırlık ölçümlerinde tüm grupların ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi (Tablo 3).

Tablo 3: Deneyin başlangıcında ve bitiminde kontrol ve deney grubundaki sıçanların ağırlık (gr) ortalamaları ve standart sapmaları.

	1. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	2. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	3. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	4. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	P
Deneyin başlangıcında	199,8±7,074 199 (180-220)	212,5±13,15 205 (190-250)	206±9,274 200 (190-240)	211±5,099 210 (200-225)	0,573
Deneyin bitiminde	198±7,348 200 (170-210)	212,5±11,087 210 (190-240)	214±6,205 210 (200-235)	202,6±2,786 200 (195-210)	0,450

4.2. Biyokimyasal Kan Analizleri

Deneyin sonunda, anestezi altındaki sıçanlardan alınan kanlarda, serum FSH, LH, östrojen ve progesteron analizleri yapıldı. Gruplar arasında FSH, LH, östrojen ve progesteron kan seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Tablo 4).

Tablo 4: Deneyin bitiminde, sıçanlardan intrakardiyak alınan kan örneklerindeki serum FSH (mIU/mL), LH (mIU/mL), östrojen (pg/mL) ve progesteron (ng/mL) ortalama değerleri ve standart sapmaları.

	1. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	2. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	3. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	4. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	P
FSH	0,086±0,014 0,1 (0,0-0,1)	0,075±0,025 0,1 (0,0-0,1)	0,062±0,023 0,1 (0,0-0,1)	0,08±0,020 0,1 (0,0-0,1)	0,860
LH	0,126±0,026 0,1 (0,1-0,2)	0,075±0,025 0,1 (0,0-0,1)	0,090±0,0126 0,1 (0,0-0,1)	0,090±0,010 0,1 (0,1-0,1)	0,513
Östrojen	27,86±6,14 23,55 (12,32-49,01)	24,51±2,75 26,53 (16,48-28,50)	26,67±2,01 24,45 (22,22-32,00)	23,14±2,24 22,79 (17,92-29,00)	0,830
Progesteron	34,79±6,66 37,73 (17,44-46,26)	47,45±11,72 58,32 (24,02-60,00)	47,83±3,65 49,72 (40,78-53,00)	46,41±5,13 45,12 (35,38-60,00)	0,469

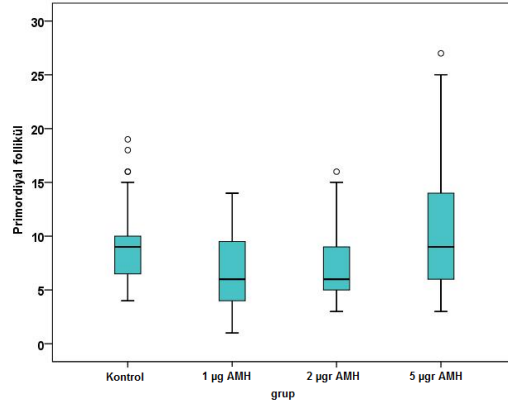
4.3. Işık Mikroskopik Bulgular

Kontrol ve deney gruplarından alınan over dokularına ait seri kesitler ışık mikroskopunda incelenerek, primordial follüküller, primer follüküller, sekonder follüküller, tersiyer follüküller, korpus luteumlar, atretik follüküller ve kistik follüküller sayılarak ovarian stroma ile birlikte histolojik özellikleri değerlendirildi.

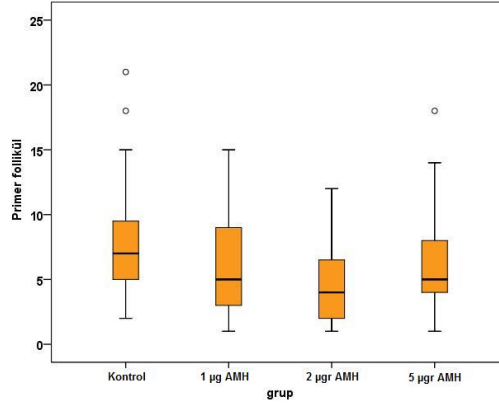
İstatistiksel analizler sonucunda kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm deney gruplarında bulunan primordiyal ve primer follüküller ile korpus luteum sayılarının benzer olduğu ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Sekonder follüküllerin sayıları kontrol grubu ile kıyaslandığında, grup 2, 3 ve 4’de AMH doz artışına paralel olarak azaldığı, atretik follüküllerin sayılarının ise 2, 3 ve 4. gruplarda doz artışına paralel olarak artmasıyla birlikte, 4. gruptaki artışın kontrol grubuna göre anlamlı olduğu görüldü. Kistik görümlü follüküller kontrol grubunda hiç gözlenmez iken, AMH uygulanan deney gruplarında varlığı saptanan bu follüküllerin, özellikle 3. ve 4. gruplarda sayılarının arttığı görüldü (Tablo 5, Şekil 1-6).

Tablo 5: Over dokularından alınan seri kesitlerde follükül sayım sonuçları ve standart sapmaları. (Kontrol grubundan farklı), + (Borderline significant) ($p < 0,005$).

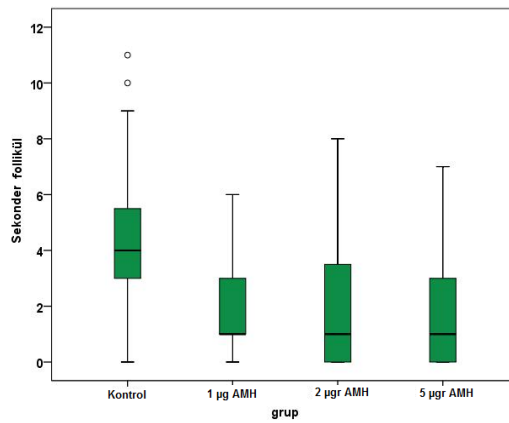
	1.grup Ort.±sd Med.(min.±max)	2. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	3. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	4. grup Ort.±sd Med.(min.±max)	P
Primordiyal follükül	9,40±0,674 9 (4-14)	6,96±0,710 6 (1-14)	7,00±0,538 6 (3-16)	10,91±1,091 9 (3-27)	0,003
Primer follükül	8,11±0,712 7 (2-21)	5,93±0,676 5 (1-15)	4,43±0,509 4 (1-12)	6,40±0,645 5 (1-18)	0,001
Sekonder follükül	4,43±0,444 4 (0-11)	1,68±0,287 1 (0-6)	1,97±0,359 1 (0-8)	1,63±,304 1 (0-7)	< 0,001
Tersiyer follükül	1,86±0,221 2 (0-6)	0,86±0,143 1 (0-2)	1,69±0,216 1 (0-4)	0,54±0,144 0 (0-3)	< 0,001
Kistik follükül	0	0,36±0,128 + 0 (0-2)	0,34±0,108 0 (0-2)	1,23±0,225 1 (0-5)	< 0,001
Atretik follükül	3,34±0,221 3 (1-6)	3,68±0,488 3 (1-11)	4,43±0,374 + 4 (1-10)	6,37±0,564 6 (2-14)	< 0,001
Korpus luteum	6,31±0,325 6 (3-10)	5,36±0,440 5 (2-11)	4,23±0,269 5 (1-7)	6,14±0,564 5 (1-15)	0,001



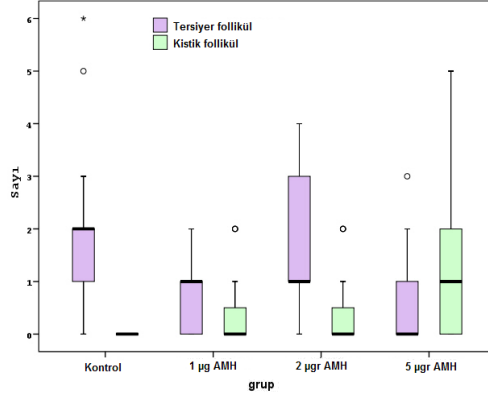
Şekil 1: Kontrol ve deney gruplarına ait over dokularından alınan seri kesitlerdeki primordiyal follikül sayıları (p 0,003).



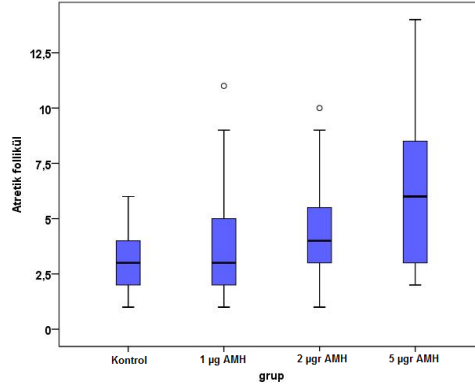
Şekil 2: Kontrol ve deney gruplarına ait over dokularından alınan seri kesitlerdeki primer follikül sayıları (p 0,001).



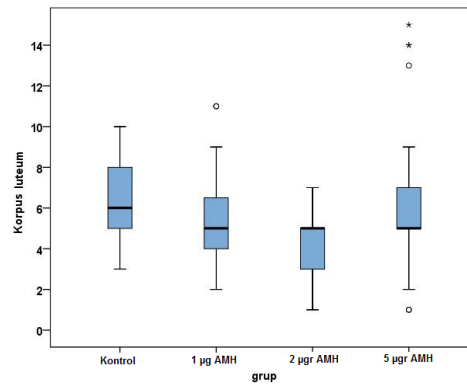
Şekil 3: Kontrol ve deney gruplarına ait over dokularından alınan seri kesitlerdeki sekonder follikül sayıları (p < 0,001).



Şekil 4: Kontrol ve deney gruplarına ait over dokularından alınan seri kesitlerdeki tersiyer follikül ($p < 0,001$) ve kistik follikül sayıları ($p < 0,001$).



Şekil 5: Kontrol ve deney gruplarına ait over dokularından alınan seri kesitlerdeki atretik follikül sayıları ($p < 0,001$).



Şekil 6: Kontrol ve deney gruplarına ait over dokularından alınan seri kesitlerdeki korpus luteum sayıları ($p < 0,001$).

4.3.1. Kontrol Grubu Bulguları

Işık mikroskopik incelemeler sonucunda overin en dıştan, tek katlı kübik hücrelerden oluşmuş epitel tabakası ile örtülü olduğu izlendi. Over yüzey epitelinin altında, sıkı bağ dokusundan oluşmuş tunika albuginea bulunmaktaydı. Over dış kısmını korteks, daha derin iç kısmını ise medulla oluşturmaktaydı.

Kortekste, kompakt hücresel stroma içerisinde, primordiyal ve gelişimin farklı dönemlerinde bulunan folliküller izlendi. Gelişme sürecine girmiş primer folliküller vesiküler çekirdek ve geniş, eozinofilik boyanmış sitoplazmaya sahip bir primer oosit, oositin dışında, homojen görünümlü zona pellusida ve tek veya çok katlı kübik şekilli granüloza hücrelerini içermekteydi. Sekonder ve daha ileri gelişim aşamasındaki folliküller de korteks içerisinde normal yapıda yer almaktaydılar. Normal yapıya sahip gelişen folliküllerin yanı sıra bazı folliküllerin atretik değişiklikler gösterdiği de dikkati çekti. Atreziye giden folliküller, granüloza hücrelerinin serbest halde antrumda bulunması ile karakterizedydi.

Korpus luteumlar büyük, soluk boyanan vesiküler bir çekirdek ve geniş bir sitoplazmaya sahip luteinize hücreler tarafından oluşturulmuştu.

İç kısımda yer alan medullanın çok sayıda geniş kan damarları içeren gevşek, fibroelastik bağ dokusundan meydana gelmiş olduğu görüldü (Şekil 7).

4.3.2. Grup 2 Bulguları

1 µgr AMH'un intraperitoneal uygulanması ile oluşturulan bu grubun ışık mikroskopik incelenmesinde, over yüzey epiteli ve sıkı bağ dokusundan oluşmuş tunika albuginea tabakasının normal yapıda olduğu görüldü. Tunika albuginea tabakasının altında, normal görünümde primordiyal, primer, sekonder ve tersiyer folliküller ile korpus luteumların varlığı izlendi. Gelişmekte olan bu folliküllerin bazıları; granüloza hücre tabakasının düzensizleşmesi ve granüloza hücrelerinin antral kavite içerisine dökülmesi ile karakterize atretik değişiklikler göstermekteydi. Ayrıca, ender olarak, bazı folliküllerin membrana granüloza tabakasının incelerek, antrumun oldukça genişlediği, antrumu sınırlayan granüloza hücrelerinin kübik şekillerini kaybederek yassılaştığı ve hipertrofik teka interna tabakasına sahip olduğu dikkati çekti.

Over korteksinin derininde bulunan medulla, gevşek düzenlenmiş fibroelastik bağ doku içerisindeki kan damarları ile normal olarak izlendi (Şekil 8).

4.3.3. Grup 3 Bulguları

2 µgr AMH uygulanan 3. gruba ait overler ışık mikroskopunda incelendiğinde, over yüzey epiteli ve tunika albugineanın normal özelliklerini koruduğu, over korteksinde ise gelişimin farklı aşamalarında folliküllerin bulunduğu izlendi. Normal morfolojik özelliklere sahip primordiyal, primer, ender olarak sekonder ve tersiyer folliküller ile birlikte normal histolojik özelliklerini yitirmiş folliküllerin varlığı da izlendi. Bu folliküllerde, granüloza hücrelerinin birbirleri ile olan ilişkilerini yitirerek, granüloza hücrelerinin antral boşluğa dökülmüş olduğu görüldü. Ayrıca bu folliküllerde, değişik hacimlerde apoptotik cisimciklerin varlığı ile birlikte, hiperkromatik bir çekirdek ile geniş bir sitoplazmaya sahip makrofajların varlığı da dikkat çekiciydi. Gelişimin ileri dönemindeki bazı folliküllerde ise membrana granüloza tabakasının oldukça incelendiği, antrumun genişlediği ve antrumu sınırlayan granüloza hücrelerinin yassılaştığı dikkati çekti. Kortekste ayrıca büyük, soluk boyanan vesiküler çekirdeğe sahip luteinize hücrelerin oluşturduğu korpus luteumlar da normal olarak izlenmekteydi.

Medulla, geniş kan damarlarını içeren gevşek, fibroelastik bağ dokusu ile normal görünümde izlendi (Şekil 9).

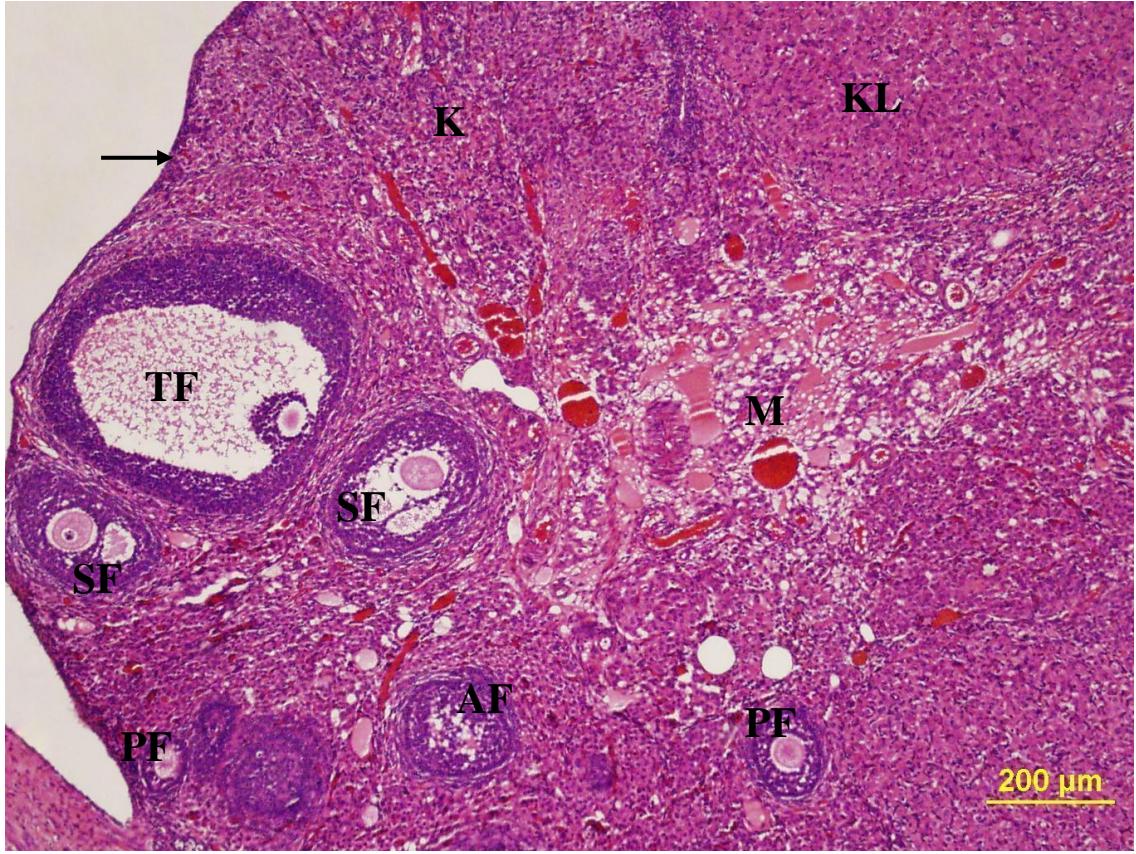
4.3.4. Grup 4 Bulguları

5 µgr AMH uygulanan bu grubun ışık mikroskopik incelenmesinde, tek katlı kübik hücrelerden oluşmuş over yüzey epiteli ve sıkı bağ dokusundan oluşmuş tunika albuginea normal morfolojik görünümde izlendi.

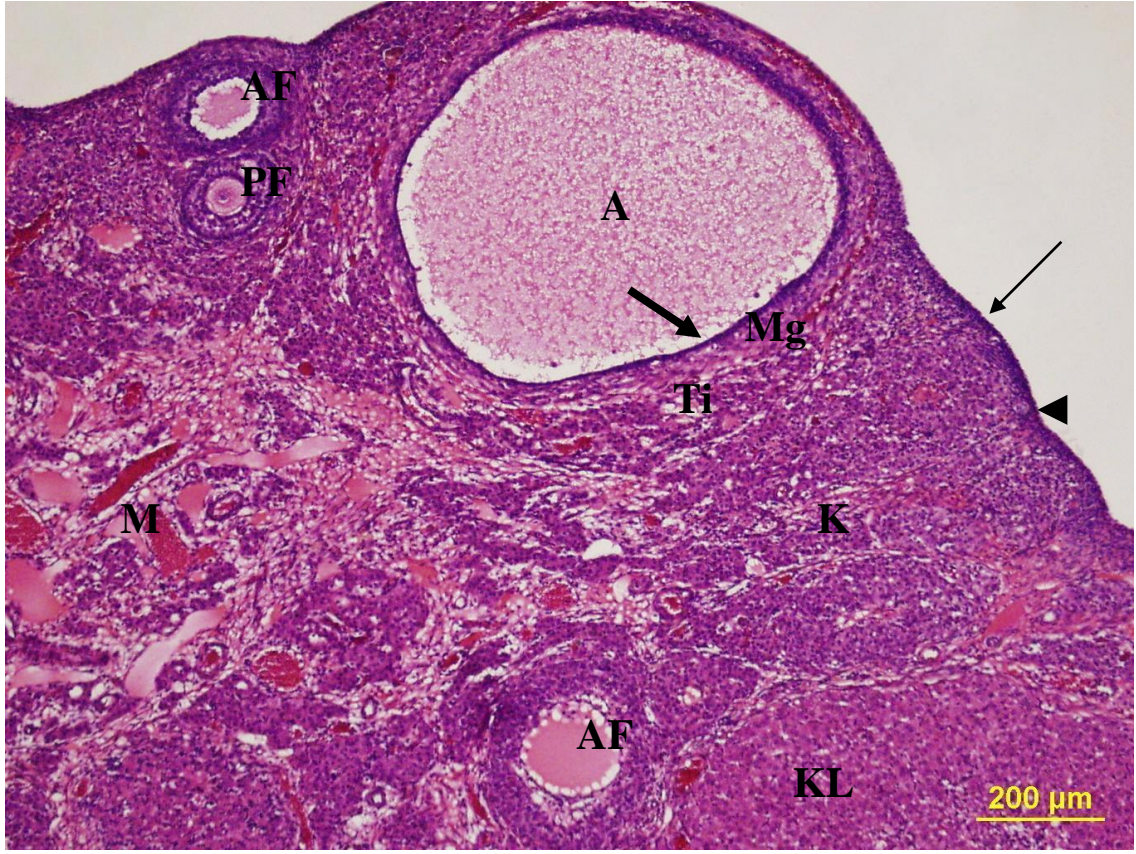
Primordiyal folliküller kontrol grubundakine benzer şekilde, normal yapıda izlenir iken gelişim sürecine girmiş oldukça sınırlı sayıdaki folliküller yapısal değişiklikler göstermekteydi. Bazı folliküllerde, granüloza hücrelerinin arasında ve antrumda apoptotik cisimcikler gözlenirken, bazı antral folliküllerde ise granüloza hücrelerinin genişleyerek, açık renkte boyandığı, teka tabakasının kalınlaşarak teka interna hücrelerinin geniş, soluk boyanan sitoplazmaya sahip olduğu dikkati çekti.

Atretik folliküllerin yanı sıra bazı folliküllerde antrumunun oldukça genişlediği, antrumu sınırlayan granüloza hücrelerinin yassılaştığı, membrana granüloza tabakasının incelendiği ve follikülün kistik bir hal aldığı dikkati çekti.

Kortekste, normal morfolojik görüntüde korpus luteumlar da izlendi (Şekil 10).



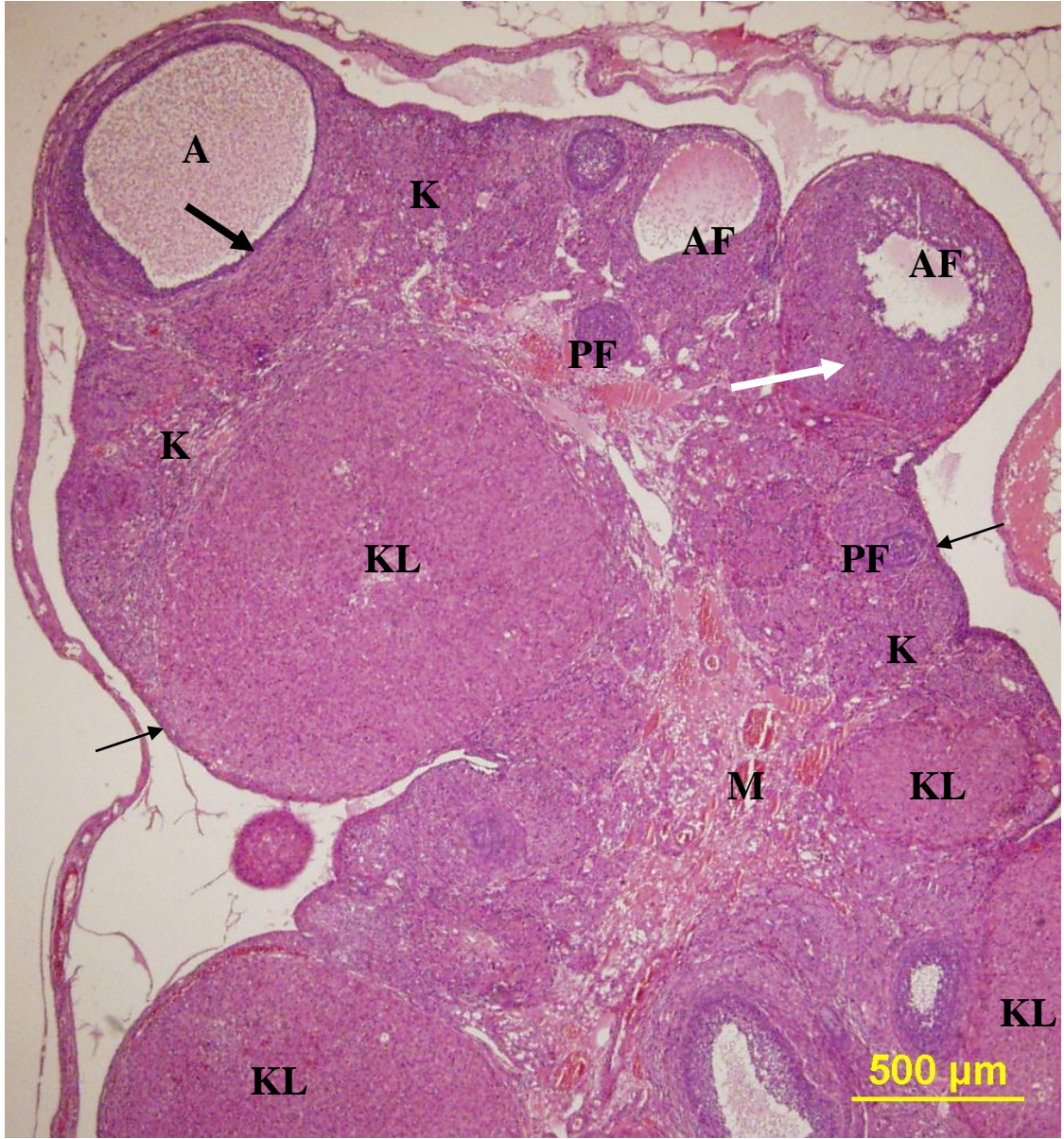
Şekil 7. Kontrol grubu. Overi en dıştan örten, tek katlı kübik hücrelerden oluşmuş epitel tabakası (siyah ok), over dış kısmını oluşturan korteks (K), daha derin iç kısımda ise medulla (M) izlenmekte. Over korteksinde bulunan primer folliküller (PF), sekonder folliküller (SF), tersiyer follikül (TF), korpus luteum (KL) ve atretik follikül (AF) izlenmekte.



Şekil 8. 2. grup. Membrana granuloza (Mg) tabakasının incelerek, antrumun (A) oldukça genişlediği, antrumu sınırlayan granuloza hücrelerinin kübik şekillerini kaybederek yassılaştığı (kalın ok) ve hipertrofik teka interna (Ti) tabakasına sahip olan antral follikül izlenmekte. Korteks (K), medulla (M), yüzey epiteli (ince ok), primordiyal follikül (ok başı), primer follikül (PF), korpus luteum (KL), atretik follikül (AF).



Şekil 9. 3. grup. Membrana granuloza (Mg) tabakası incelerek, antrumu (A) oldukça genişlemiş, antrumu sınırlayan granuloza hücrelerinin kübik şekillerini kaybederek yassılaştığı (kalın ok) ve hipertrofik teka interna (Ti) tabakasına sahip olan antral follikül izlenmekte. Korteks (K), medulla (M), yüzey epiteli (ince ok), primordiyal follikül (ok başı), primer follikül (PF), atretik follikül (AF).



Şekil 10. 4. grup. Antrumunun (A) oldukça genişlediği, antrumu sınırlayan granuloza hücrelerinin yassılaştığı (kalin ok), membrana granuloza tabakasının inceldiği, kistik bir hal alan antral follükül izlenmekte. Korteks (K), medulla (M), yüzey epiteli (ince ok), primer follükül (PF), korpus luteum (KL), atretik follükül (AF). Hipertrofik granuloza hücreleri (beyaz ok).

4.4. Transmisyon Elektron Mikroskopik Bulgular

Deney ve kontrol grubuna ait sıçanların over dokularından elde edilen ince kesitlerde over yüzey epiteli, primordiyal folliküller, gelişen folliküller, korpus luteum ve ovarian stroma incelenme kapsamına alınarak ultrastrüktürel özellikleri değerlendirildi.

4.4.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubuna (Grup 1) ait overlerin tek katlı, kübik şekilli yüzey epitel hücrelerinin derin indentasyonlar içeren çekirdeğinde, heterokromatin granüllerinin periferik yerleşimli olduğu, ökromatin granüllerinin ise çekirdek boyunca dağıldığı görüldü. Epitel hücrelerinin sitoplazmasında organellerin perinükleer alana yakın yerleşimli olduğu ve apikal yüzeyinde mikrovilluslar içerdiği görüldü. Apikal sitoplazmasında pinositotik veziküller içeren epitel hücrelerinin düzgün veya kıvrıntılı olan lateral plazma membranında bağlantı kompleksleri bulunmaktaydı. Over yüzey epiteli iyi gelişmiş bir bazal lamina tarafından tunika albuginea'dan ayrılmıştı.

Yüzey epitelinin altında, sıkı bağ dokusundan oluşmuş tunika albuginea içerisinde değişik yönlerde seyreden kollajen lifler arasında fibroblastlar bulunmaktaydı. İndentasyonlar gösteren bir çekirdek, sitoplazmalarında granüler endoplazmik retikülüm sistemaları, Golgi kompleksi, mitokondriyonlar ve yaygın serbest ribozomlar içeren fibroblastların ince, uzun, dallanmış sitoplazmik uzantıları, kollajen lifler ile yakın ilişkilidiler (Şekil 11).

Merkezi yerleşimli bir oosit ve oositi çevreleyen yassı şekilli folliküler hücrelerden oluşan primordiyal folliküllerin oositleri, yuvarlak şekilli, veziküler, hafif girinti ve çıkıntılar gösteren bir çekirdek içermekteydi. Elektron dens görünümü belirgin bir çekirdekçiğe sahip olan oositin çekirdek kılıfında bulunan nükleer porlar, düzenli aralıklarla izlenmekteydi. Ooplazmada yaygın olarak bulunan mitokondriyonların elektron opak bir matriks ve lamellar tarzda düzenlenmiş kristaller içerdikleri görüldü. Ooplazma boyunca lizozomlar, granüler endoplazmik retikülüm sistemaları, Golgi kompleksi ve serbest ribozomların varlığı izlendi. Bazı alanlarda folliküler hücrelere ait sitoplazmik uzantılar ile oosit membranı arasında desmozom tipi bağlantılar bulunmaktaydı. İnce bir bazal lamina ile ovarian stromadan ayrılan folliküler hücreler ince, uzun şekilli olup çekirdeklerinde indentasyonlar ve belirgin bir

çekirdekçik içermektedirler. Hücre sitoplazması içerisinde mitokondriyonlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, serbest ribozomlar, ender lizozomal yapılar içeren follüküler hücreler ince bir bazal lamina ile ovarian stromadan ayrılmışlardır (Şekil 12).

Gelişim sürecine girmiş follükülerde, oosit ile granüloza hücreleri arasında elektron opak boyanmış, kesintisiz, düzenli zona pellüsadanın varlığı izlendi. Zona pellüsida içerisinde hem oosit hem de follüküler hücrelerden kaynaklanan hücresel uzantıların olduğu görüldü. Ökromatik görünümlü, sferikal şekilli bir çekirdek içeren oosit sitoplazması içerisinde, ooplazma boyunca yaygın olarak bulunan, birbirine paralel tarzda düzenlenmiş membranöz yapılar, ooplazmanın periferal kısımlarında ise membran ile çevrili, elektron dens bir materyal içeren, yaygın, kortikal granüllerin varlığı izlendi (Şekil 13). Bazı primer follüküllerdeki granüloza hücrelerinin çok katlı hale geldiği ve bazı hücrelerin mitoz bölünmenin değişik evrelerinde olduğu görülürken diğer granüloza hücrelerinin, çekirdeklerinin indentasyonlar gösterdiği ve elektron dens görünümlü belirgin bir çekirdekçiğe sahip olduğu izlendi. Hücre sitoplazmasında granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, Golgi kompleksi, mitokondriyonlar ve serbest ribozomların varlığı izlendi (Şekil 14).

Follükülleri çevreleyen teka interna tabakasındaki iğ şekilli hücrelerin sitoplazmalarında, sferikal şekilli lipid damlacıklarının, mitokondriyonların ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının varlığı izlendi (Şekil 14).

Korpus luteum kapsamında, merkezi yerleşimli granüloza lutein hücreleri ve periferal yerleşimli teka lutein hücreleri, ayrıca yer yer eritrositleri içeren, endotel hücreleri ile çevrili kapillerler izlendi. Granüloza lutein hücrelerinin sferikal şekilli, merkezi yerleşimli çekirdeği, elektron dens, granüler görünümlü bir çekirdekçiğe sahip olup periferde yoğunlaşan heterokromatin granülleri, çekirdek boyunca ökromatin granülleri ile birlikte homojen bir dağılım göstermekteydi. Granüloza lutein hücreleri, geniş sitoplazması içerisinde elektron opak görünümlü lipid damlacıkları, tübüler tarzda kristallara sahip olan mitokondriyonları ve yaygın agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları ile steroid sentez eden hücre özelliği göstermekteydi (Şekil 15). Teka lutein hücrelerinin granüloza lutein hücrelerinden daha küçük ve sitoplazmalarının da daha elektron opak görünümlü olduğu, bunun dışında iki hücrenin birbirine oldukça benzerlik gösterdiği izlendi. Teka lutein hücrelerinin düzgün sferikal şekilli çekirdekleri de

granüloza lutein hücrelerine benzemekle birlikte heterokromatin miktarı biraz daha yoğundu. Teka lutein hücrelerinin sitoplazmasında lipid damlacıkları, tubuler tarzda kristalara sahip olan mitokondriyonları ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları normal olarak izlendi.

Ovarian stroma içerisinde fibroblast benzeri stromal hücreler, interstisyel hücreler, kollajen lifler ve kan damarları bulunmaktaydı. İnterstisyel hücreler, sitoplazmasındaki yaygın sferikal şekilli lipid damlacıkları, agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, tubuler tipte krista içeren mitokondriyonları ve Golgi kompleksi ile steroid sentez eden hücre özelliği göstermekteydi (Şekil 14).

4.4.2. Grup 2 Bulguları

1 µgr AMH verilerek oluşturulan 2. deney grubundan alınan overlerin TEM ile incelenmesinde overlerin yüzey epitel hücreleri derin indentasyonlar gösteren çekirdekleri, sitoplazma içerisindeki organelleri ve apikal yüzeylerinde yer alan mikrovillusları ile normal yapıda izlendi. Primordiyal folliküller normal olarak görülürken, primer follikül içerisinde bulunan primer oositte sferikal şekilli, normal yapıdaki çekirdek, yaygın mitokondriyonlar, serbest ribozomlar, multiveziküler cisimcikler ve elektron lüsent bir ortamda elektron dens yapılar içeren oluşumların varlığı dikkati çekti. Oosit yüzeyinde seyrek, kısa, küt mikrovilluslar bulunmaktaydı (Şekil 16). Oositi çevreleyen kübik şekilli granüloza hücreleri ökromatik bir çekirdek, sitoplazmalarında yaygın sferikal veya oval şekilli mitokondriyonlar, serbest ribozomlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve ender lipid damlacıkları içermekteydiler. Granüloza hücrelerinin apikal yüzeylerinde bulunan sitoplazmik uzantıları aracılığı ile oosit yüzeyi ile yakın ilişkili oldukları gözlemlendi. Ayrıca oosit ile yakın ilişkili bir granüloza hücresinin apikal yüzeyinde tek bir silyumun varlığı ilgi çekiciydi (Şekil 17).

Normal yapıdaki antral folliküllerin yanı sıra, bazı antral folliküllerin oositlerinde ve granüloza hücrelerinde belirgin yapısal değişikliklerin olduğu izlendi. Oosit sitoplazması içerisinde yer alan organel yapılarının bozulduğu, vakuollerin ve elektron dens yapıların oluştuğu, granüler oluşumların yer yer kümeler oluşturduğu görüldü. Oosit yüzeyindeki mikrovilluslar ve granüloza hücrelerine ait sitoplazmik uzantıların kaybolduğu, zona pellusidanın kalınlaştığı, homojen yapısının bozularak yer yer

bütünlüğünün bozulduğu ve perivitellin aralığının genişlediği dikkati çekti (Şekil 18). Bazı antral folliküllerde ise membrana granuloza tabakasının oldukça incelendiği ve antrumu sınırlayan granuloza hücrelerinin ince, uzun bir şekil aldığı, çekirdeğinin hafif indentasyonlar gösterdiği, sitoplazması içerisinde mitokondriyonlar, tübüler tipte agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, lizozomlar ve serbest ribozomların yanı sıra yaygın lipid damlacıkları içerdiği dikkati çekti (Şekil 19). Bazı alanlarda ise granuloza hücrelerinin kalınlaşmış zona pellusidadan ayrılarak birbirleri ile olan ilişkilerini kaybettikleri, sitoplazmalarındaki endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği ve vakuollerin olduğu gözlenmekteydi (Şekil 18). Bu hücrelerin bazılarının, yüzeylerinde sitoplazmik şişkinliklerin geliştiği dikkati çekerken, bu hücrelerin arasında sitoplazmik şişkinliklerle aynı densiteye sahip, membranla çevrili sitoplazmik yapıların varlığı ilgi çekiciydi. Bu folliküllerin antral boşluğu içerisinde makrofajların varlığı da izlendi. Makrofajın düzgün sınırlı çekirdeği içerisinde çekirdekçik elektron dens boyanmış olarak izlendi. Sitoplazması içerisinde granüler endoplazmik retikülüm ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, Golgi kompleksi ve serbest ribozomlara ek olarak oldukça fazla lizozom içermekteydiler.

İncelenen korpus luteumlarda, granuloza lutein hücreleri, teka lutein hücreleri ve hücreler arasında kapillerler kontrol grubundakilere benzer özellikler göstermekteydi (Şekil 20).

Ovarian stromada bulunan interstisyel hücreler, sitoplazmaları içerisinde bulunan elektron opak görümlü, sferikal şekilli lipid damlacıkları, mitokondriyonları ve bol miktarda agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının varlığı ile karakterizeydiler (Şekil 21).

4.4.3. Grup 3 Bulguları

2 µgr AMH'un intraperitoneal uygulanması ile oluşturulan 3. deney grubundan alınan overlerin TEM ile incelenmesinde, overlerin en dışında tek katlı kübik yüzey epitel hücreleri normal görünümünü korurken bazı alanlarda çekirdeklerinin piknotik hal aldığı, sitoplazmik densitelerinin arttığı, endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği, hücreler arası aralıkta genişlemelerin olduğu ve tunika albuginea tabakasında kollajen liflerin arttığı dikkati çekti (Şekil 22).

İncelenen primordiyal folliküllerin bazılarında primer oositin çekirdek densitesinin hafifçe arttığı görülürken yassı şekilli folliküler hücrelerin sitoplazmalarında lipid damlacıklarının varlığı dikkat çekiciydi (Şekil 23).

Primer folliküle ait mikrograflar incelendiğinde merkezi yerleşimli primer oosit sitoplazması içerisinde çekirdek, kortikal granüller, değişik yönlerde seyreden paralel membran yapıları normal olarak izlendi. Primer oosit etrafında zona pellusida ve zona pellusida içerisinde oosit ve granüloza hücrelerinden uzanan mikrovilluslar ve sitoplazmik uzantılar normal yapıda görüldü. Çok tabakalı halde düzenlenen, granüloza hücrelerinin ökromatik, sferikal şekilli çekirdeği, belirgin 1-2 çekirdekçik içermekteydi. Hücrelerin sitoplazmasında granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, Golgi kompleksi, mitokondriyonlar ve serbest ribozomlar normal olarak izlendi (Şekil 24).

Ancak bazı folliküllerde, granüloza hücrelerinin çekirdeğinde heterokromatin granüllerinin arttığı, perinükleer sisternaların genişlediği, sitoplazmalarında lipid damlacıklarının arttığı, sitoplazma boyunca değişik hacimlerde, yaygın vakuollerin olduğu gözlemlendi (Şekil 25).

İncelenen antral folliküllerde kortikal granülleri, iyi gelişmiş endoplazmik retikülüm sisternaları, serbest ribozomları ve Golgi kompleksi ile normal yapıdaki oositlerin, homojen bir zona pellusida ile çevrili olduğu görüldü. Oosit ve granüloza hücrelerinin yüzeyinden uzanan mikrovilluslar zona pellusida içerisinde yer almaktaydı. Bazı antral folliküllerde ise zona pellusidanın kalınlaşarak yer yer düzensizleştiği saptandı (Şekil 26). Antrumu çevreleyen normal görümlü granüloza hücreleri yanında, bazı antral folliküllerde granüloza hücrelerinin yassılaştığı, sitoplazmalarında lipid damlacıklarının arttığı ve bu hücrelerin yer yer antrum içerisine döküldüğü izlendi (Şekil 27). Bazı folliküllerde ise granuloza hücrelerinin hacimlerinin genişlediği, sitoplazmaları içerisinde mitokondriyonların tübüler tipte kristalara sahip olduğu, agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının oldukça yaygın olduğu ve lipid damlacıklarının arttığı dikkati çekti (Şekil 28).

Korpus luteum kapsamında, kontrol grubu ile benzer özelliklere sahip granüloza lutein hücreleri, teka lutein hücreleri ve bunların arasında endotel ile döşeli normal yapıda kapillerler izlendi. Luteal hücreler arasında elektron dens çekirdek materyali içeren, membranla çevrili apoptotik cisimcikler izlendi (Şekil 29).

Ovarian stroma içerisinde fibroblastlar ve ilişkili olduğu kollajen lifler ile interstisyel hücreler normal olarak izlendi (Şekil 30).

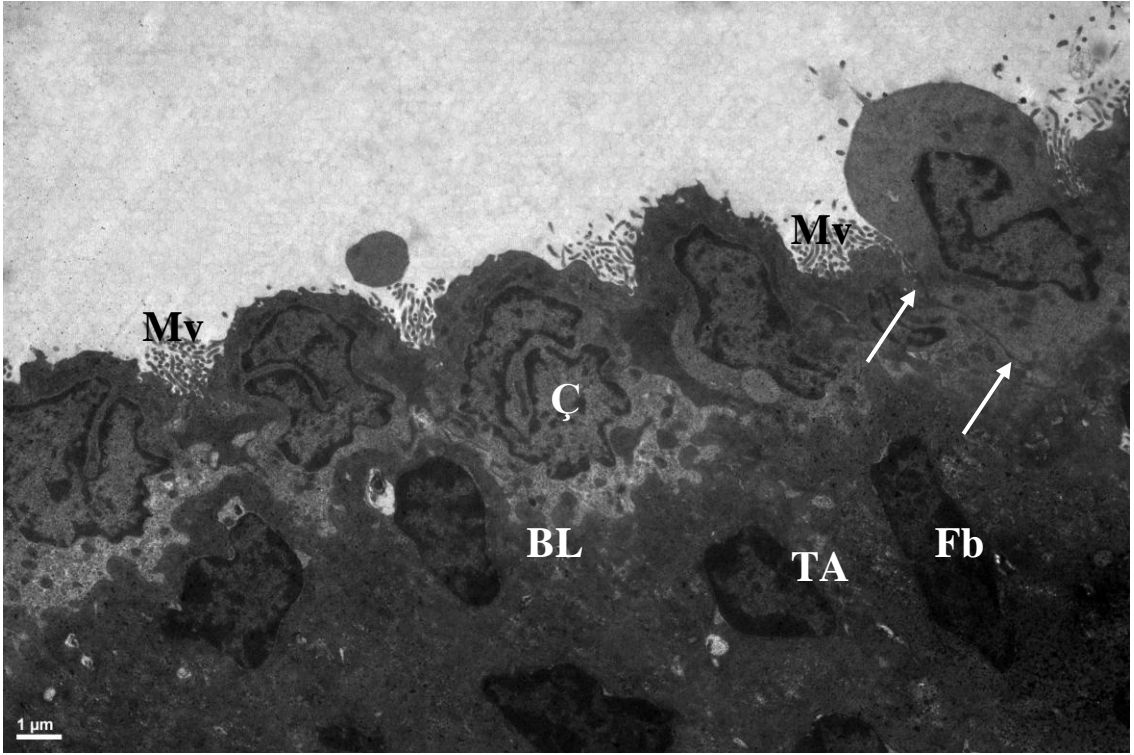
4.4.4. Grup 4 Bulguları

5 µgr AMH'un intraperitoneal uygulanması ile oluşturulan 4. gruptaki sıçanlarda alınan overlerin TEM ile incelenmesinde, over yüzeyini döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde kısa, küt, bazı alanlarda ise ince, uzun, yumak gibi görünen mikrovillusların yanı sıra bazı hücrelerde tek bir silyumun varlığı ilgi çekiciydi. Over yüzey epitelinin altında yer alan tunika albuginea içerisindeki kollajen liflerin miktarının hafifçe artmış olduğu gözlemlendi (Şekil 31).

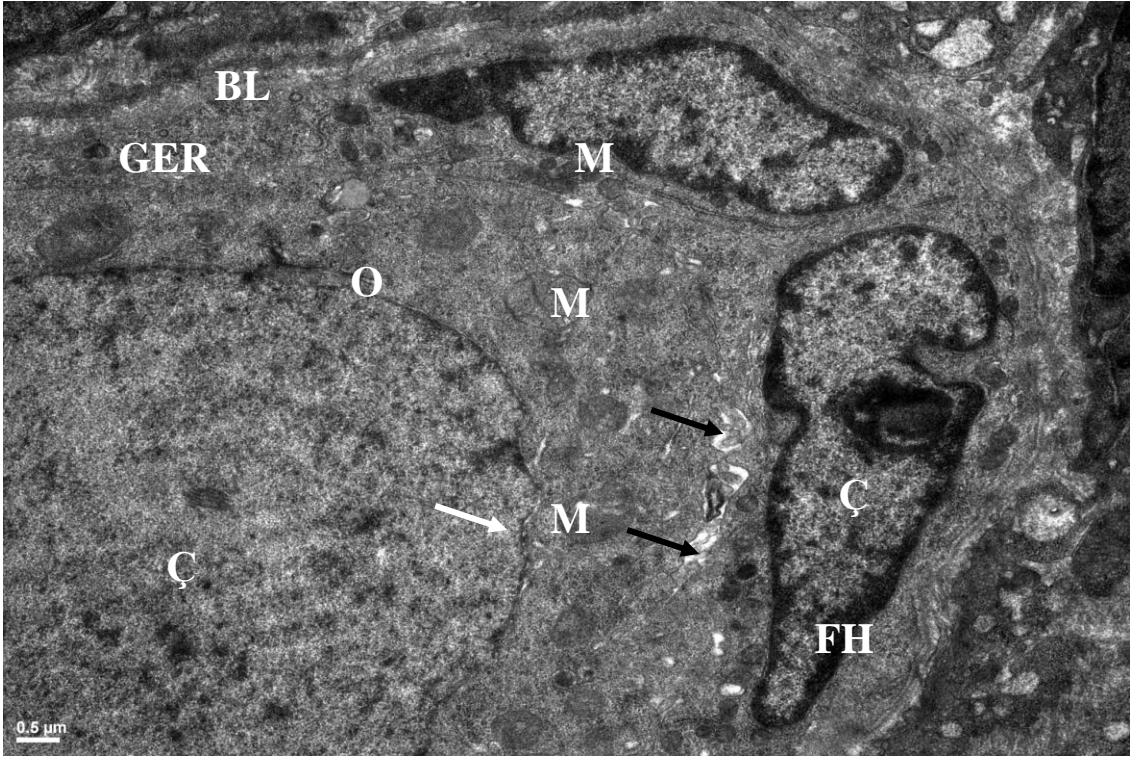
Primordiyal folliküllerde 3. gruptaki primordiyal folliküllere benzer şekilde folliküler hücrelerin sitoplazmaları içerisinde lipid damlacıklarının varlığı izlenir iken, bazı primer folliküllerde de, granüloza hücrelerin sitoplazmasında da lipid damlacıklarının hafifçe artmış olduğu, oosit sitoplazması içerisinde lizozomal yapıların, membranla çevrili veziküllerin, birbirine paralel halde düzenlenmiş membranöz yapıların varlığı gözlemlendi. Bu folliküllerde, zona pellusidanın yeni oluşmaya başladığı ve granüloza hücreleri ile oosit arasındaki düzensiz boşluğu kapladığı görüldü (Şekil 32,33).

Bu grupta bazı antral folliküllerin granüloza hücrelerinde sıklıkla mitoz bölünmeye rastlanırken, bazılarında da geniş bir antrumu sınırlayan granüloza hücrelerinin yassı bir hal aldığı ve bu hücrelerin oval şekilli çekirdekleri, sitoplazmalarında mitokondriyonları, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve yaygın serbest ribozomları içerdiği gözlemlendi. Bu hücrelerin altındaki granüloza hücreleri kübik halde bulunmaktaydılar (Şekil 34). Antruma dökülmüş bazı granüloza hücrelerinde, hiperkromatik görünümlü çekirdek, sitoplazmik vakuolizasyon, artmış lizozomal yapılar ve hücre yüzeyinde şişkinliklerin oluşması ile karakterize dejeneratif değişikliklerin geliştiği izlendi.

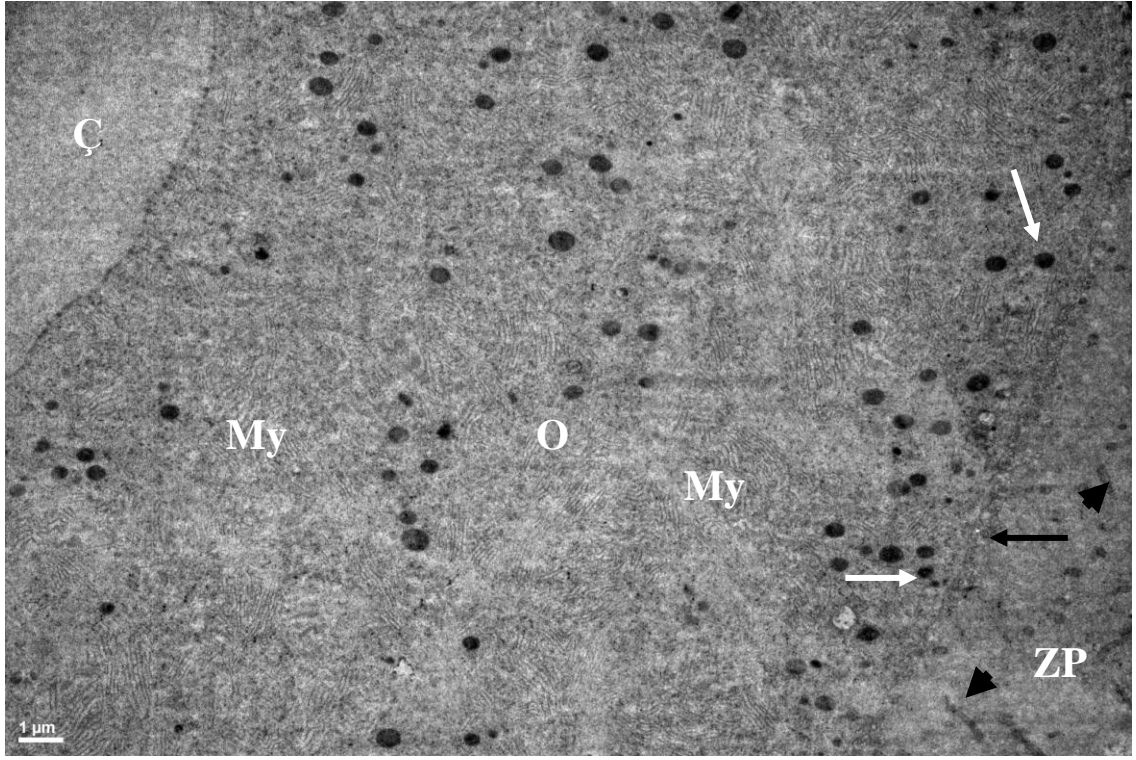
Korpus luteum kapsamındaki hücreler ile ovarian stroma içerisinde yer alan stromal hücreler ve interstisyel hücreler normal morfolojik yapıda gözlenirken, stromal hücreler arasında kollajen liflerin bir miktar arttığı görüldü (Şekil 35).



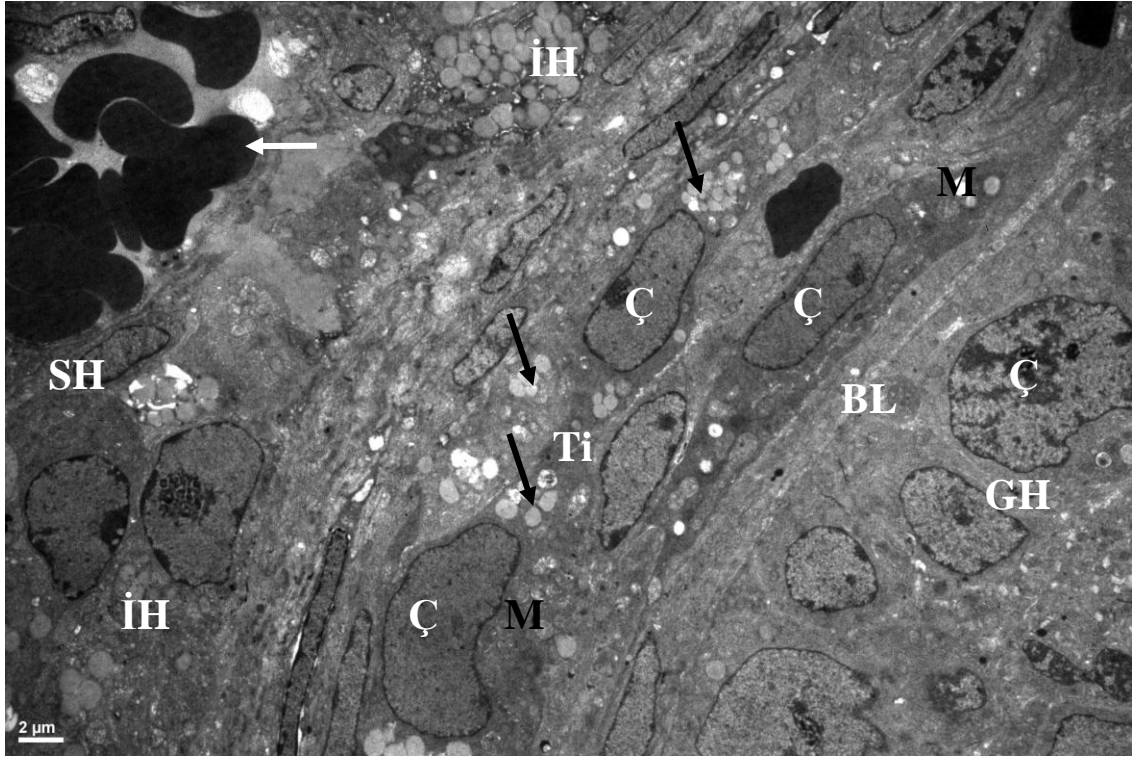
Şekil 11. Kontrol grubuna ait over yüzey epitel hücrelerinin derin indentasyonlar içeren çekirdeğinde (Ç), periferal yerleşimli heterokromatin granülleri ve çekirdek boyunca dağılmış ökromatin granülleri, sitoplazmada perinükleer alana yakın yerleşimli organeller ve apikal yüzeyinde mikrovilluslar (Mv) görülmekte. Epitel hücreleri lateral yüzeylerinde bağlantı kompleksleri içermekte (beyaz ok). Over yüzey epiteli iyi gelişmiş bir bazal lamina (BL) tarafından tunika albugineadan (TA) ayrılmakta. Fibroblast (Fb).



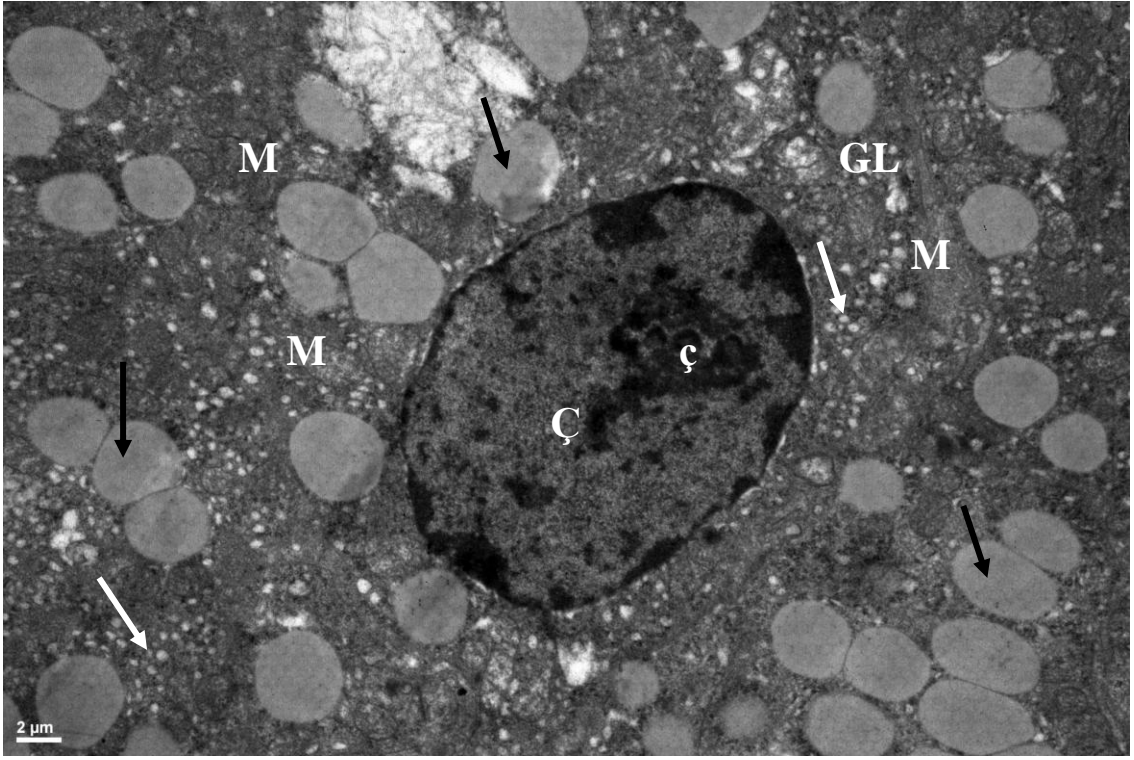
Şekil 12. Kontrol grubuna ait primordiyal follükülde merkezi yerleşimli bir oosit (O) ve oositi çevreleyen yassı şekilli follüküler hücreler (FH) görülmekte. Çekirdek (Ç), mitokondriyon (M), nüklear por (beyaz ok), granüler endoplazmik retikülüm (GER), oosit ve follüküler hücreler arasında sitoplazmik uzantılar (siyah ok), bazal lamina (BL).



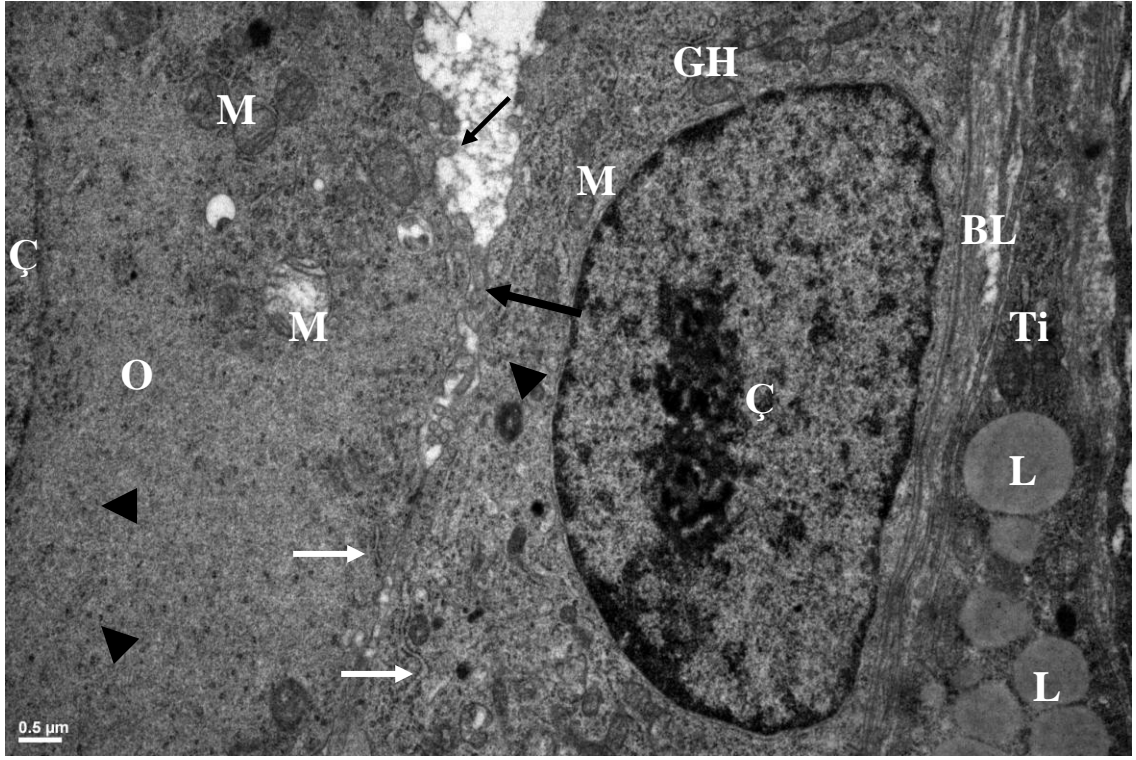
Şekil 13. Kontrol grubunda gelişim sürecine girmiş follükülde oosit (O) ile granüloza hücreleri arasında zona pellüsida (ZP), zona pellusida içerisinde oositten kaynaklanan mikrovilluslar (siyah ok) follüküler hücrelerden kaynaklanan hücresel uzantılar (ok başı) görülmekte. Sferikal şekilli bir çekirdek (Ç) içeren oosit sitoplazmasında ooplazma boyunca dağılmış, birbirine paralel tarzda düzenlenmiş membranöz yapılar (My), ooplazmanın periferal kısımlarında ise kortikal granüller (beyaz ok) izlenmekte. Nüklear porlar ().



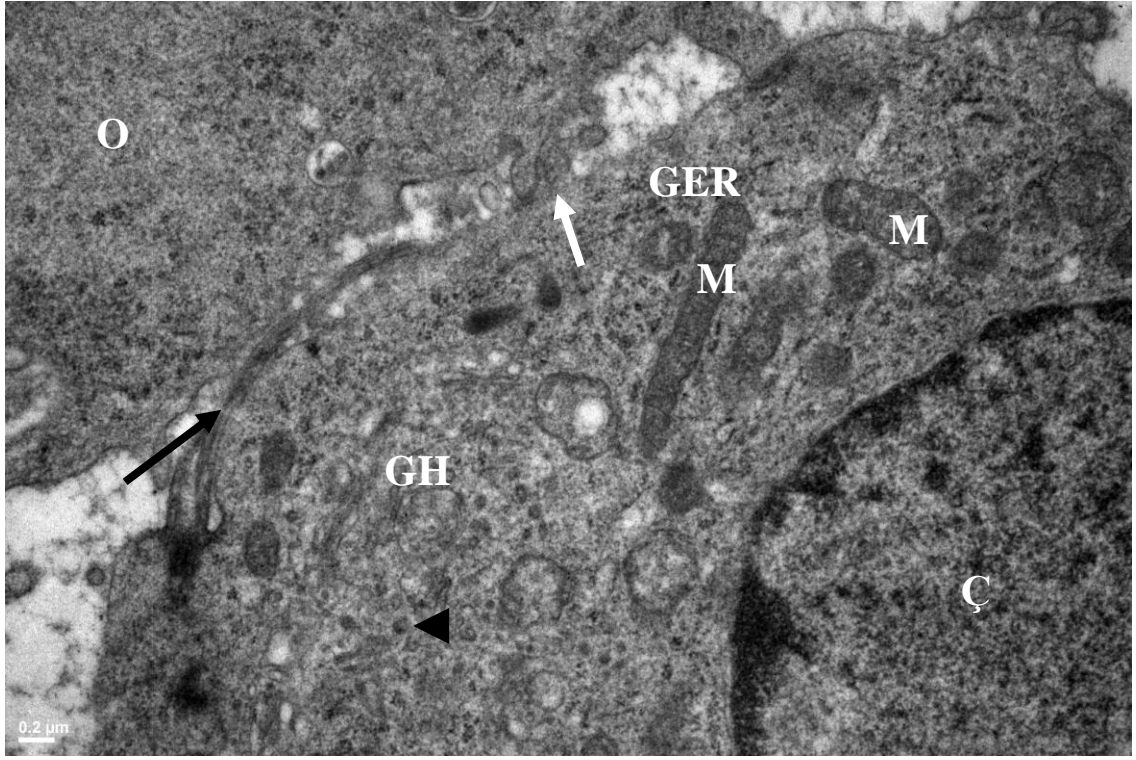
Şekil 14. Kontrol grubunda, primer folliküllerdeki çok katlı granüloza hücreleri (GH), follikülü sınırlayan bazal lamina (BL), teka tabakası görülmekte. Teka interna tabakasındaki (Ti) hücrelerin sitoplazmalarında lipid damlacıkları (siyah ok) ve mitokondriyonlar (M), teka eksterna tabakasında fibroblast benzeri hücreler (SH), sitoplazmasındaki yaygın sferikal şekilli lipid damlacıkları () ile interstisyel hücreler (İH) ve kan damarları (beyaz ok) izlenmekte. Çekirdek (Ç).



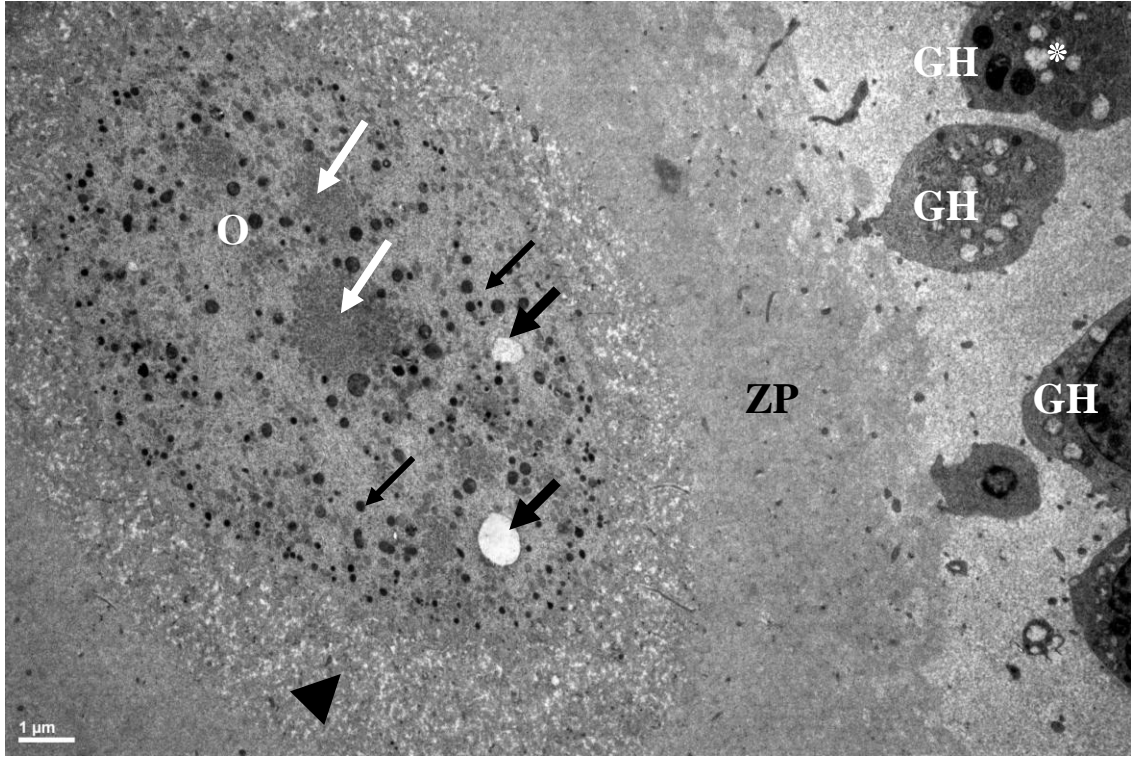
Şekil 15. Kontrol grubuna ait korpus luteumda granüloza lutein hücrelerinin (GL) sferikal şekilli, merkezi yerleşimli çekirdeği (Ç), elektron dens, granüler görünümlü çekirdekçisi (ç), geniş sitoplazması içerisinde lipid damlacıkları (siyah ok), tübüler tarzda kristalara sahip olan mitokondriyonları (M) ve yaygın agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (beyaz ok) gözlenmekte.



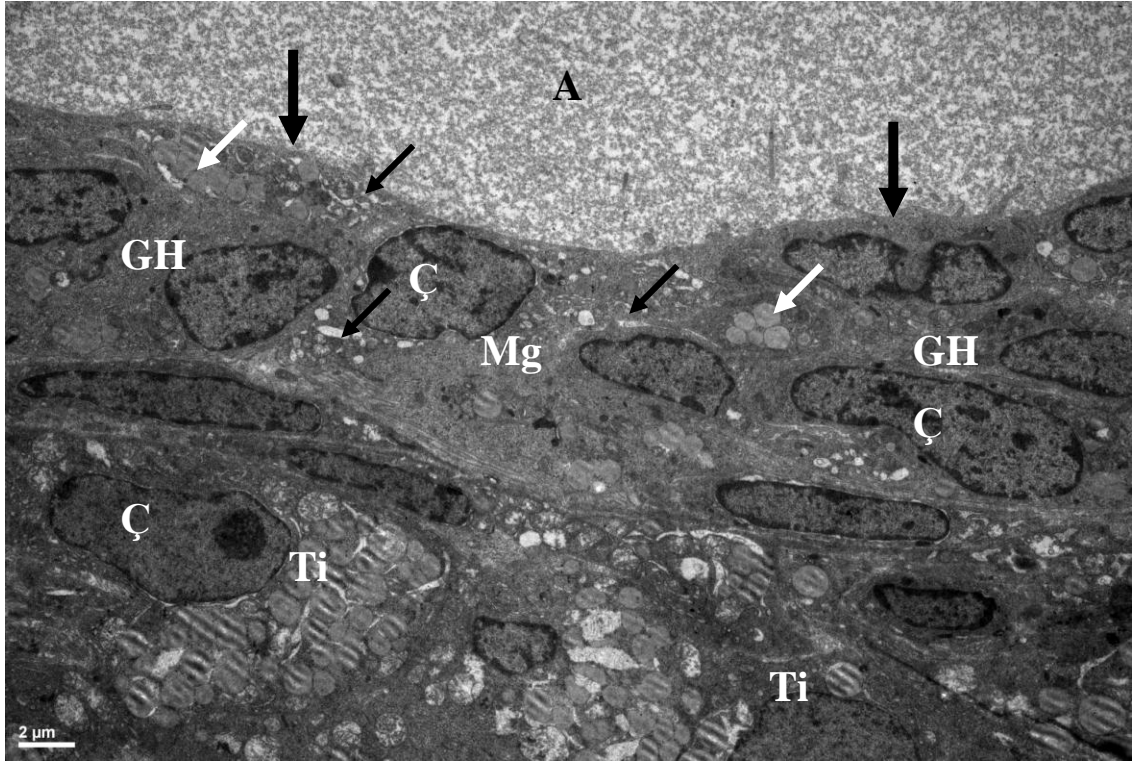
Şekil 16. 2. gruba ait primer follükülde oosit (O) çekirdeği (Ç), ooplazmada mitokondriyonlar, serbest ribozomlar, oosit yüzeyinde seyrek, kısa, küt mikrovilluslar (ince ok) görülmekte. Oositi çevreleyen granüloza hücreleri (GH) ökromatik bir çekirdek, sitoplazmalarında yaygın sferikal veya oval şekilli mitokondriyonlar, serbest ribozomlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları içermekte. Granüloza hücrelerinin sitoplazmik uzantıları oosit ile yakın ilişkili olarak gözlenmekte (kalın ok). Çekirdek (Ç), mitokondriyon (M), ribozom (ok başı), granüler endoplazmik retikülüm sisternaları (beyaz ok), bazal lamina (BL), teka interna hücreleri (Ti), lipid damlacıkları (L).



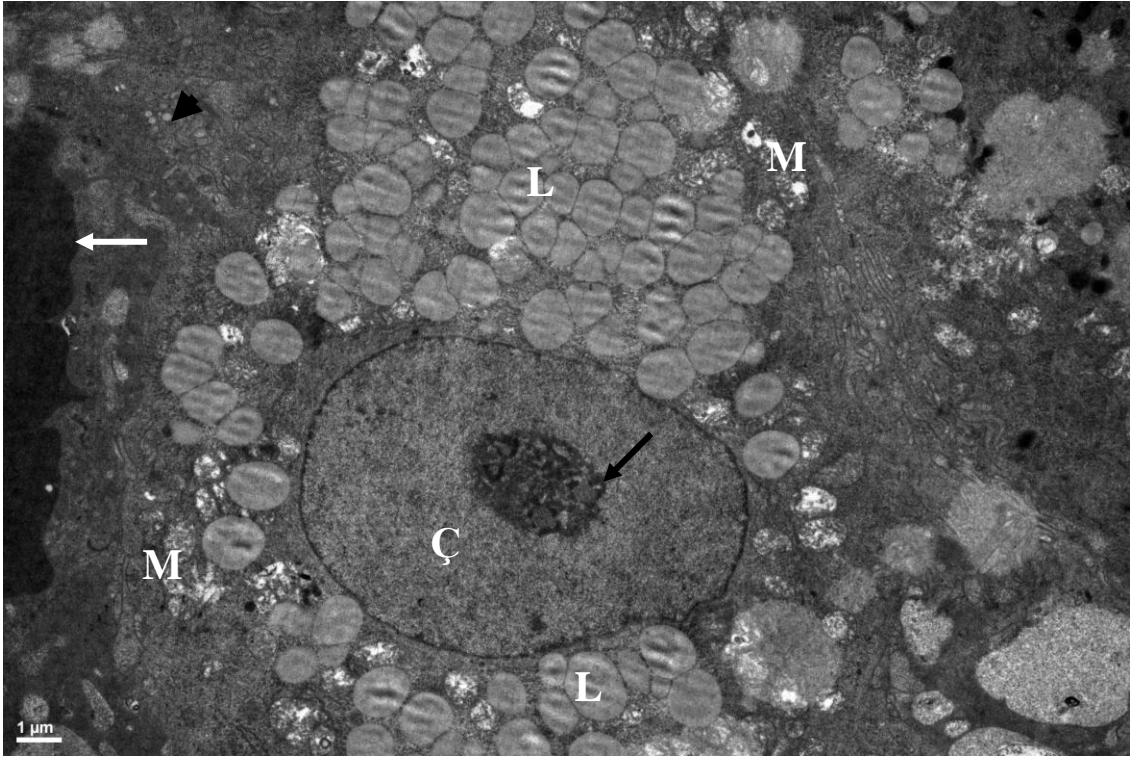
Şekil 17. 2. grupta primer follükülde oosit (O) ile yakın yerleşimli granüloza hücreleri (GH) ökrmatik bir çekirdek (Ç), sitoplazmalarında mitokondriyonlar (M), serbest ribozomlar (ok başı), granüler endoplazmik retikülüm sisternaları (GER) içermekte. Granüloza hücrelerinin apikal yüzeyinde sitoplazmik uzantılar (beyaz ok) ve tek bir silyum (siyah ok) izlenmekte.



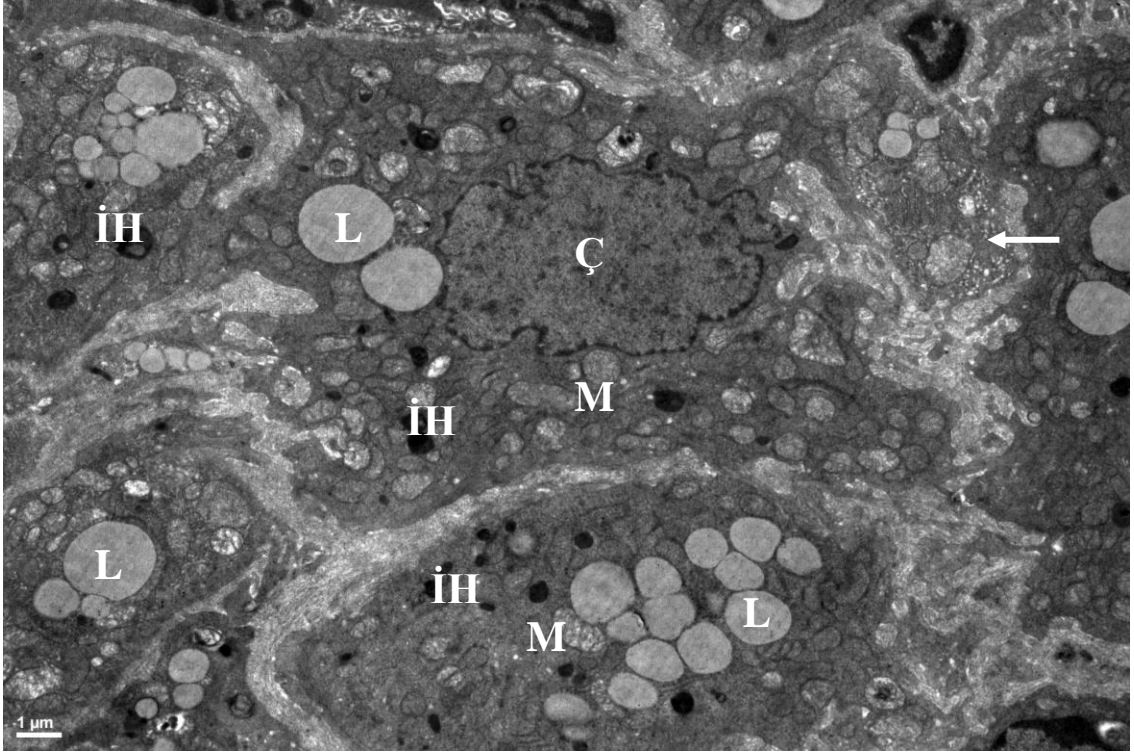
Şekil 18. 2. grupta antral follikülde oosit (O) sitoplazmasında vakuoller (kalın ok) ve kümeler oluşturmuş elektron dens granüler yapılar (beyaz ok), kortikal granüller (ince ok) görülmekte. Oosit yüzeyindeki mikrovilluslar ve granüloza hücrelerine (GH) ait sitoplazmik uzantıların kaybolduğu, zona pellusidanın (ZP) kalınlaştığı ve perivitellin aralığın (ok başı) genişlediği izlenmekte. Granüloza hücrelerinin zona pellusidadan ayrılarak birbirleri ile olan ilişkilerini kaybettikleri, sitoplazmalarındaki endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği ve vakuollerin oluştuğu gözlenmekte ().



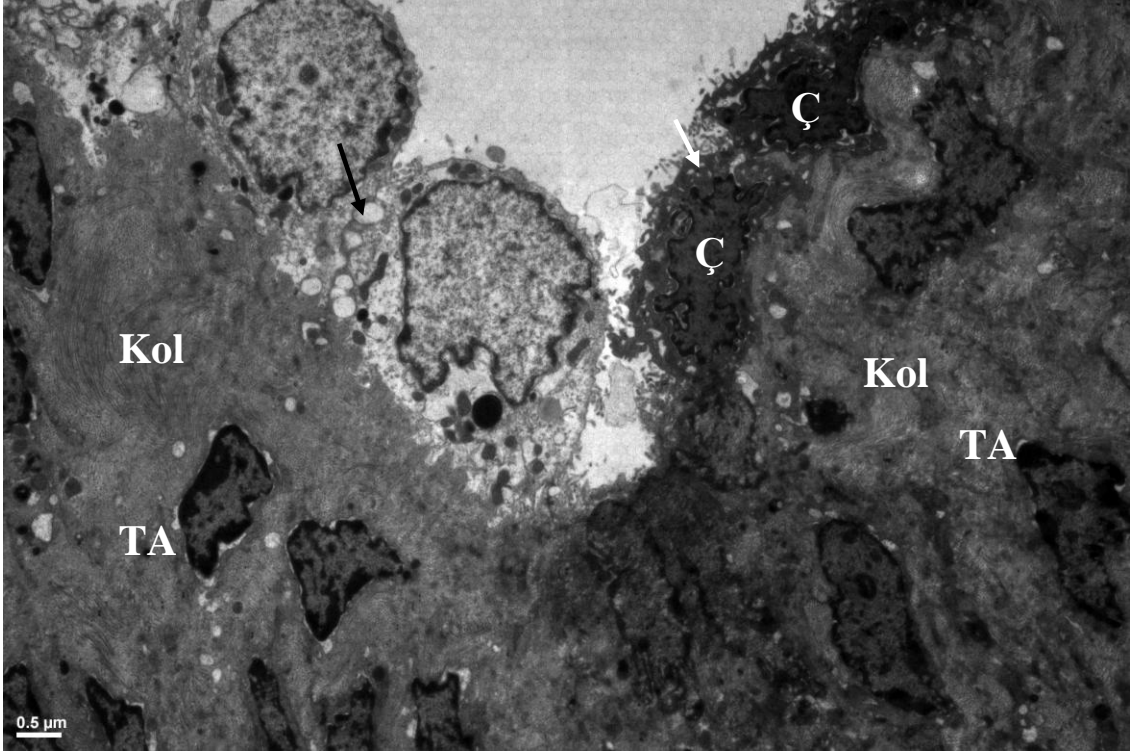
Şekil 19. 2. grupta kistik folliküle ait membrana granüloza (Mg) tabakasının oldukça inceldiği ve antrumu (A) sınırlayan granüloza hücrelerinin (GH) yassılaştığı (kalın ok), sitoplazmasında mitokondriyonlar, tübüler tipte agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (ince ok), artmış lipid damlacığı (beyaz ok) içerdiği izlenmektedir. Membrana granüloza tabakasının dış kısmında sitoplazmalarında yaygın lipid damlacıkları içeren teka interna (Ti) hücreleri görülmektedir. Çekirdek (Ç).



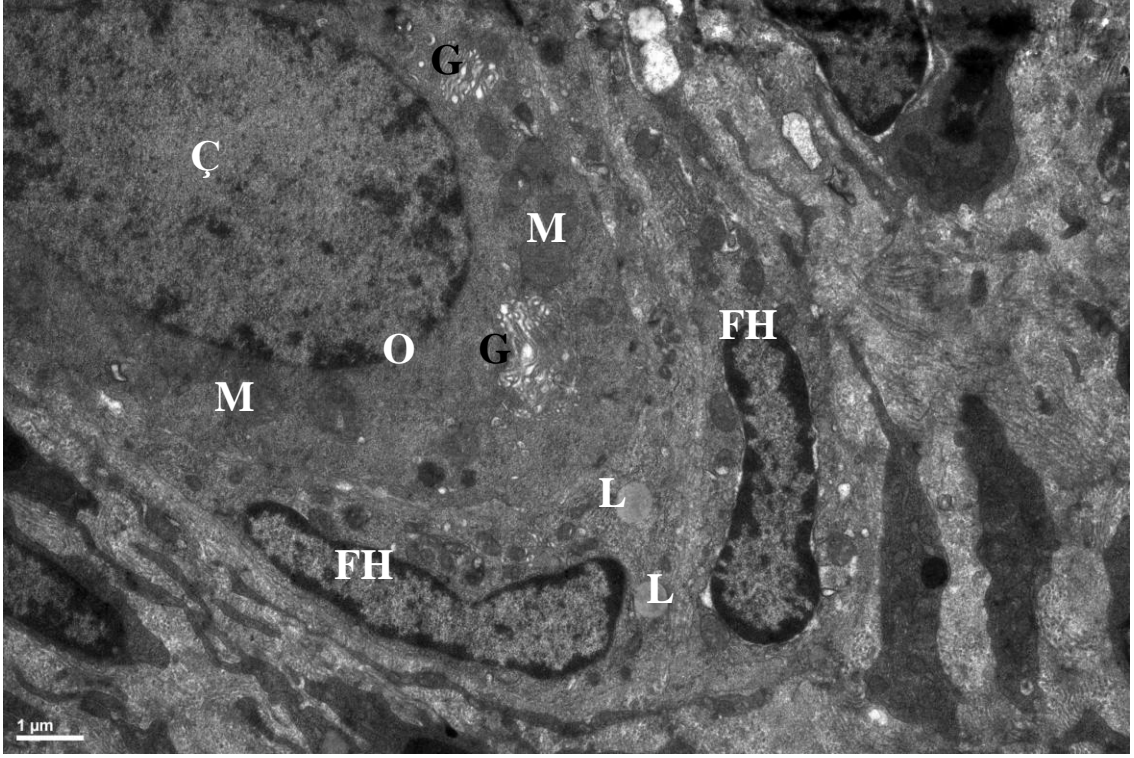
Şekil 20. 2. Gruba ait korpus luteum kapsamındaki granüloza lutein hücrelerinin sferikal şekilli çekirdeği (Ç), çekirdekçığı (siyah ok), sitoplazmasında lipid damlacıkları (L), tübüler tarzda kristalara sahip mitokondriyonlar (M) ve yaygın agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (ok başı) izlenmekte. Kapillerler (beyaz ok).



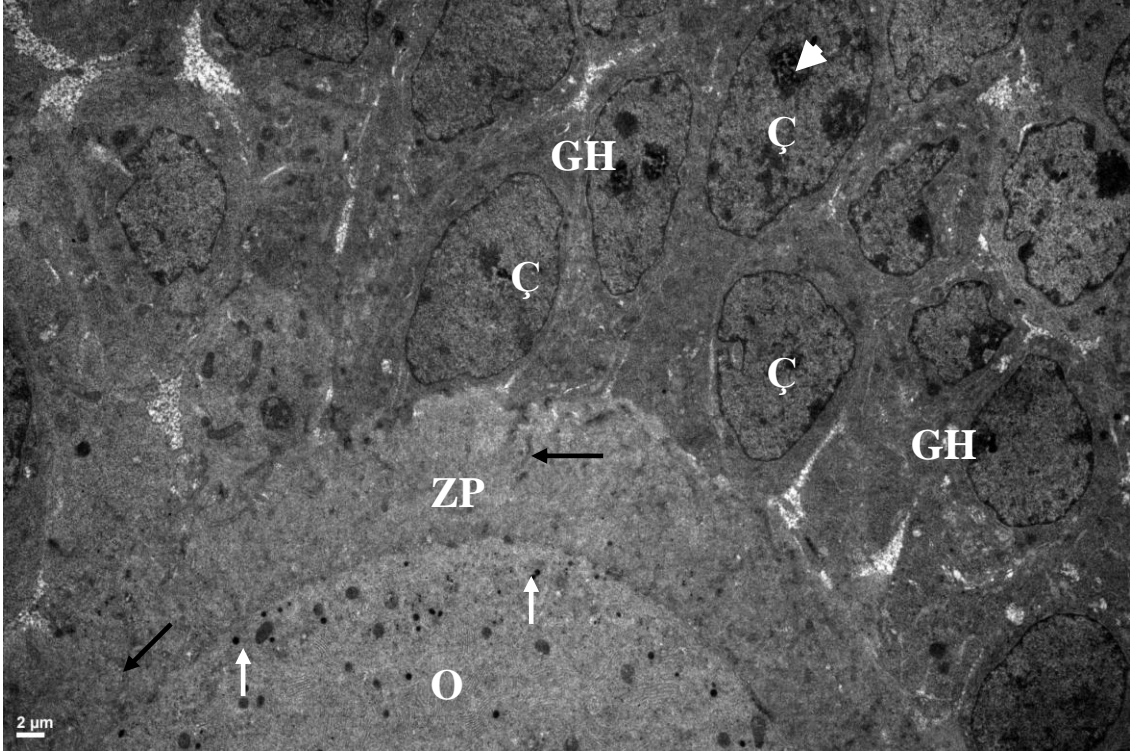
Şekil 21. 2. grupta ovarian stromada interstiyel hücrelerin (İH) sitoplazmalarında lipid damlacıkları (L), mitokondriyonlar (M) ve yaygın agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (ok) izlenmekte. Çekirdek (Ç).



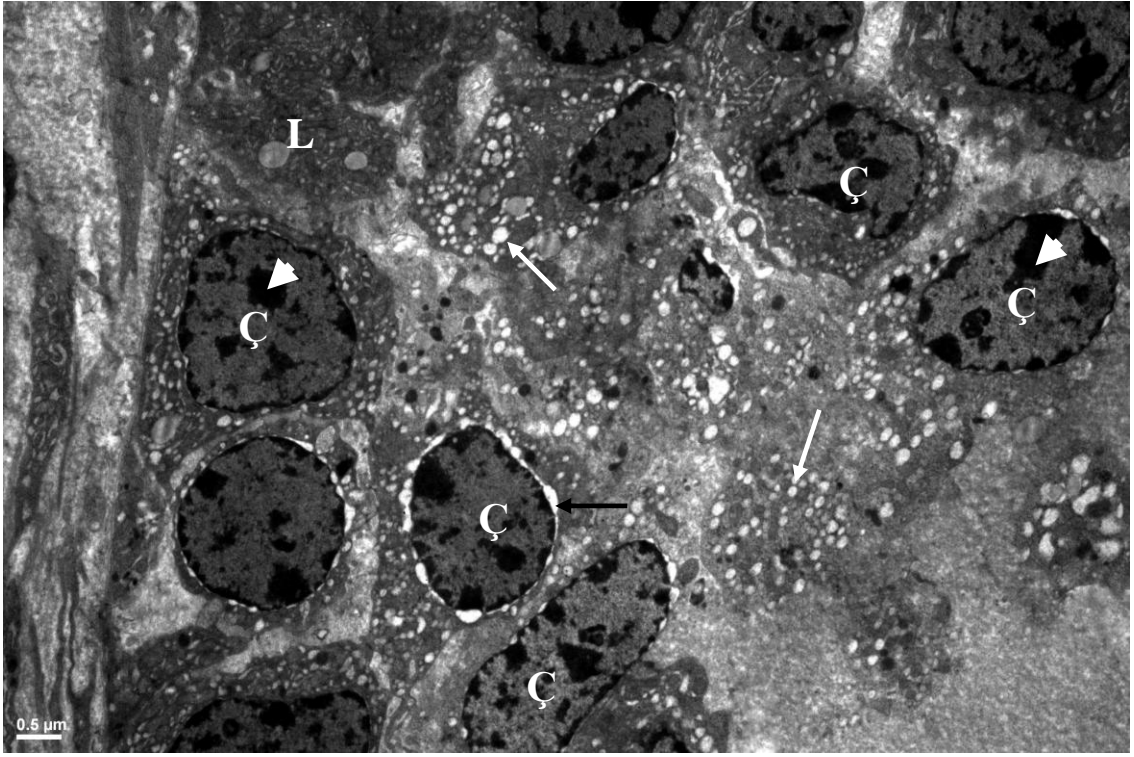
Şekil 22. 3. gruba ait over yüzey epitel hücrelerinin çekirdeklerinin (Ç) bazı alanlarda piknotik hal aldığı, sitoplazmik densitelerinin arttığı, endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği (beyaz ok), hücreler arası aralıkta genişlemelerin (siyah ok) olduğu ve tunika albuginea tabakası (TA) içerisindeki kollajen liflerin (Kol) arttığı izlenmektedir.



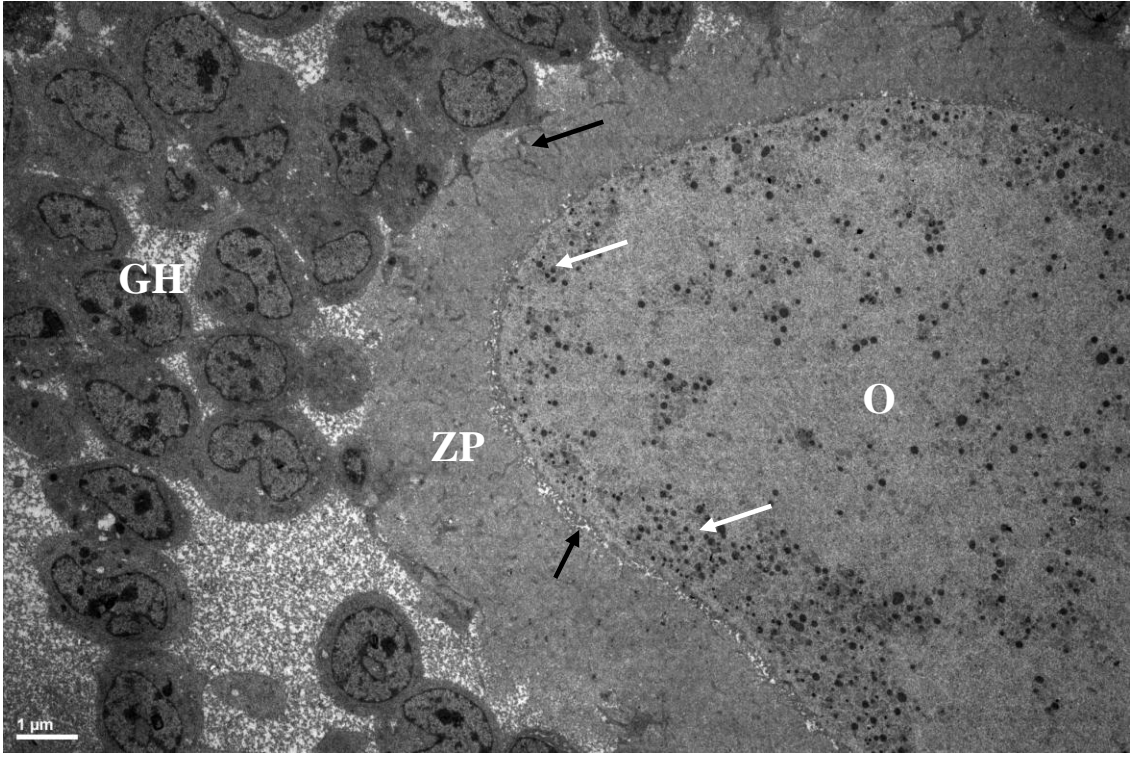
Şekil 23. 3. grupta primordiyal follükülde oosit (O), veziküler görünümlü bir çekirdek (Ç), sitoplazmasında Golgi kompleksi (G) ve mitokondriyonlar (M) içermekte. Follüküler hücrelerin (FH) sitoplazmalarında lipid damlacıklarının (L) varlığı izlenmekte.



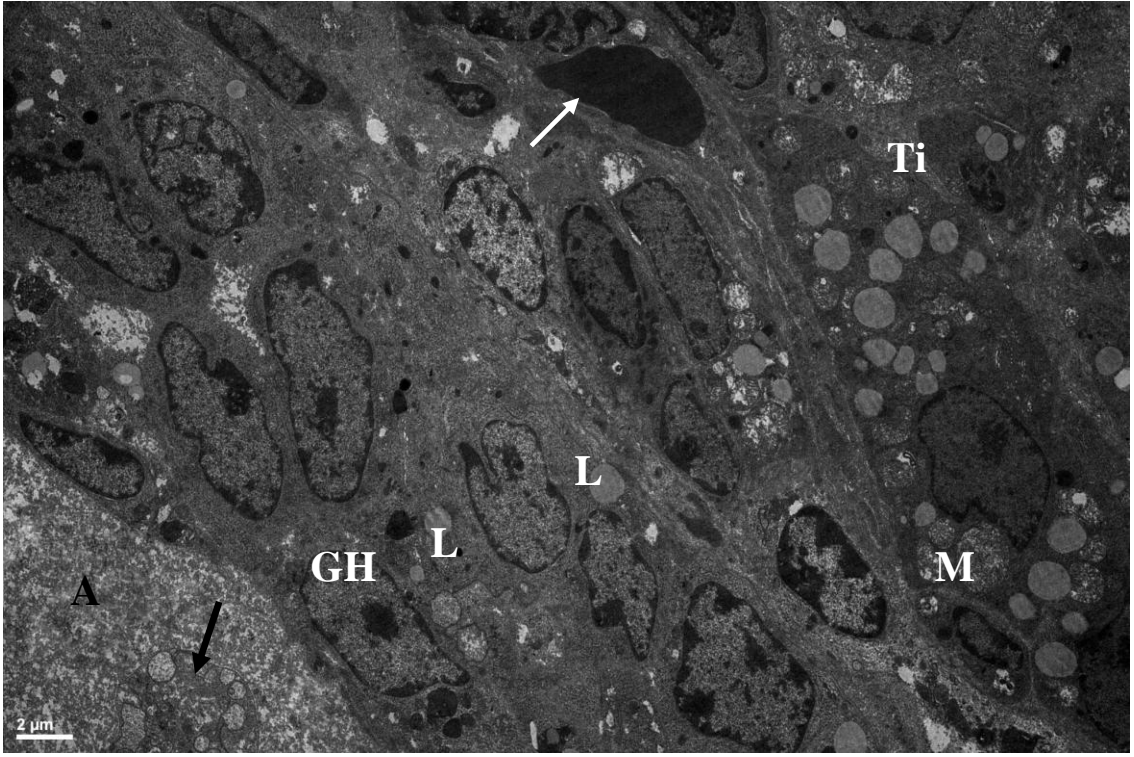
Şekil 24. 3. grupta primer follikülde oosit (O) sitoplazması içerisinde kortikal granüller (beyaz ok), oosit etrafında zona pellusida (ZP) ve zona pellusida içerisinde oosit ve granüloza hücrelerinden uzanan mikrovilluslar ve sitoplazmik uzantılar (siyah ok) normal yapıda izlenmekte. Çok tabakalı halde düzenlenen, granüloza hücrelerinin (GH) ökromatik çekirdeği (Ç), belirgin 1-2 çekirdekçik (ok başı) içermekte.



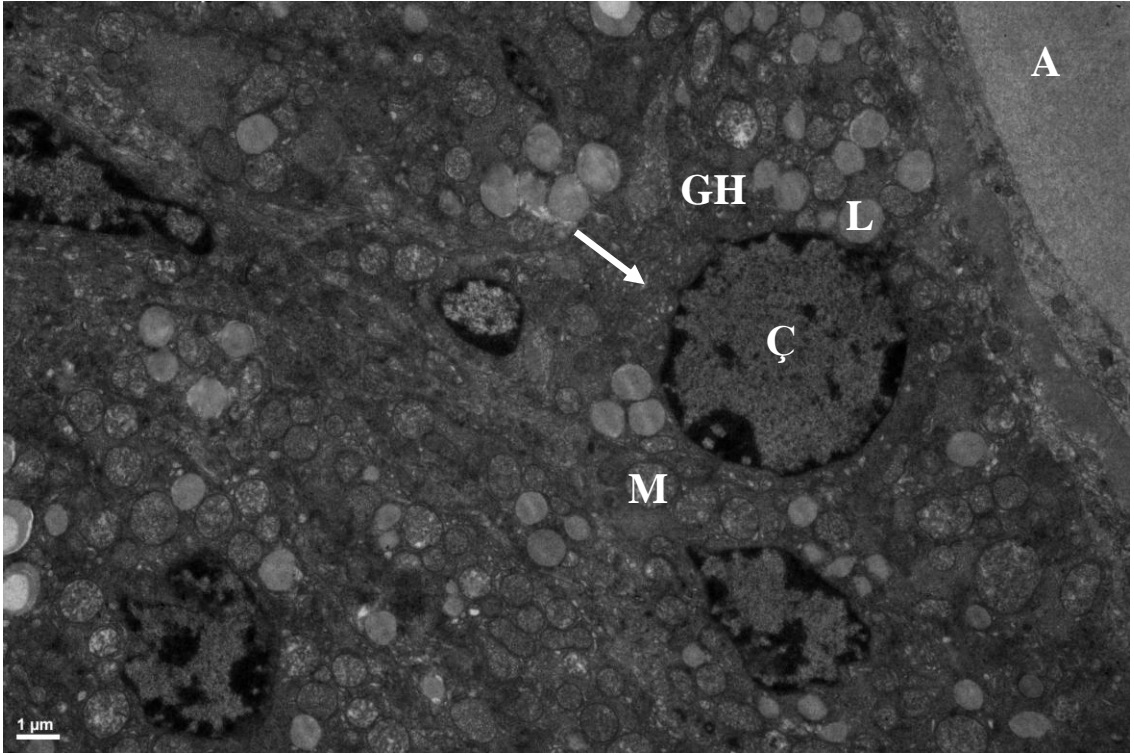
Şekil 25. 3. grupta gelişen follükülde granüloza hücrelerinin çekirdeğinde (Ç) artmış heterokromatin granülleri (ok başı), genişlemiş perinükleer sisternalar (siyah ok), sitoplazmalarında yaygın lipid damlacıkları (L), değişik hacimlerde vakuoller (beyaz ok) gözlenmekte.



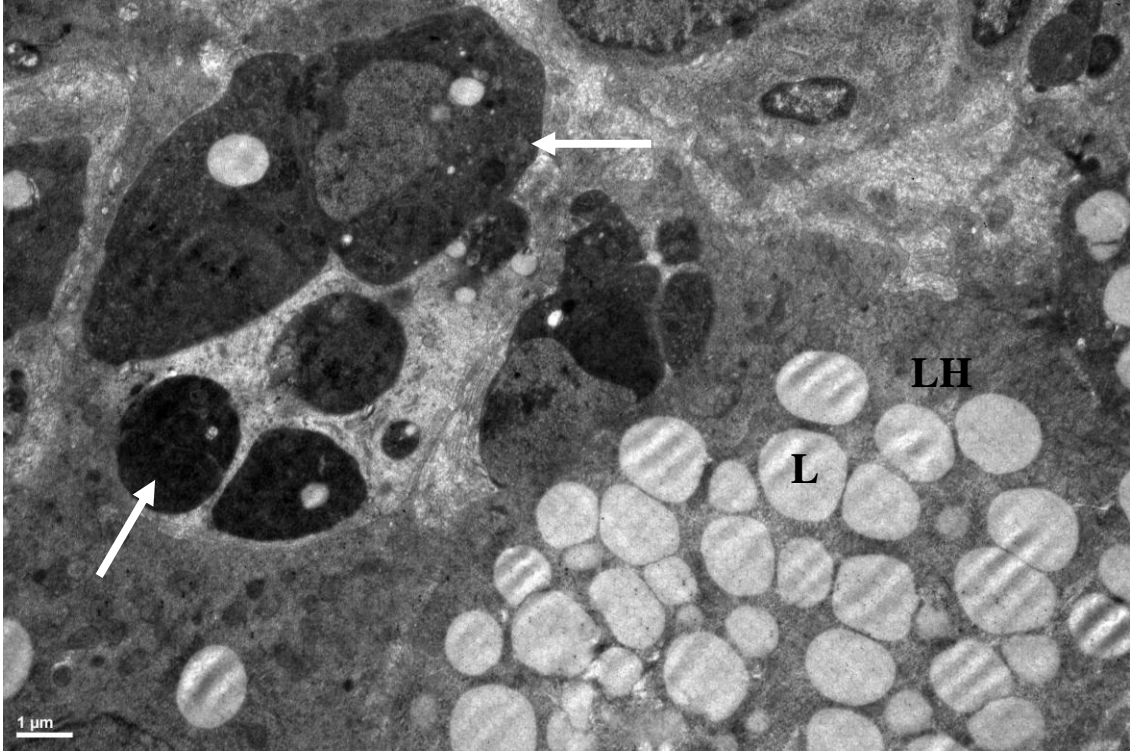
Şekil 26. 3. grupta antral follükülde oosit (O) sitoplazmasında yaygın kortikal granüller (beyaz ok), yüzeyinde mikrovilluslar (siyah ok), etrafında zona pellusida (ZP) görülmekte. Granüloza hücreleri (GH).



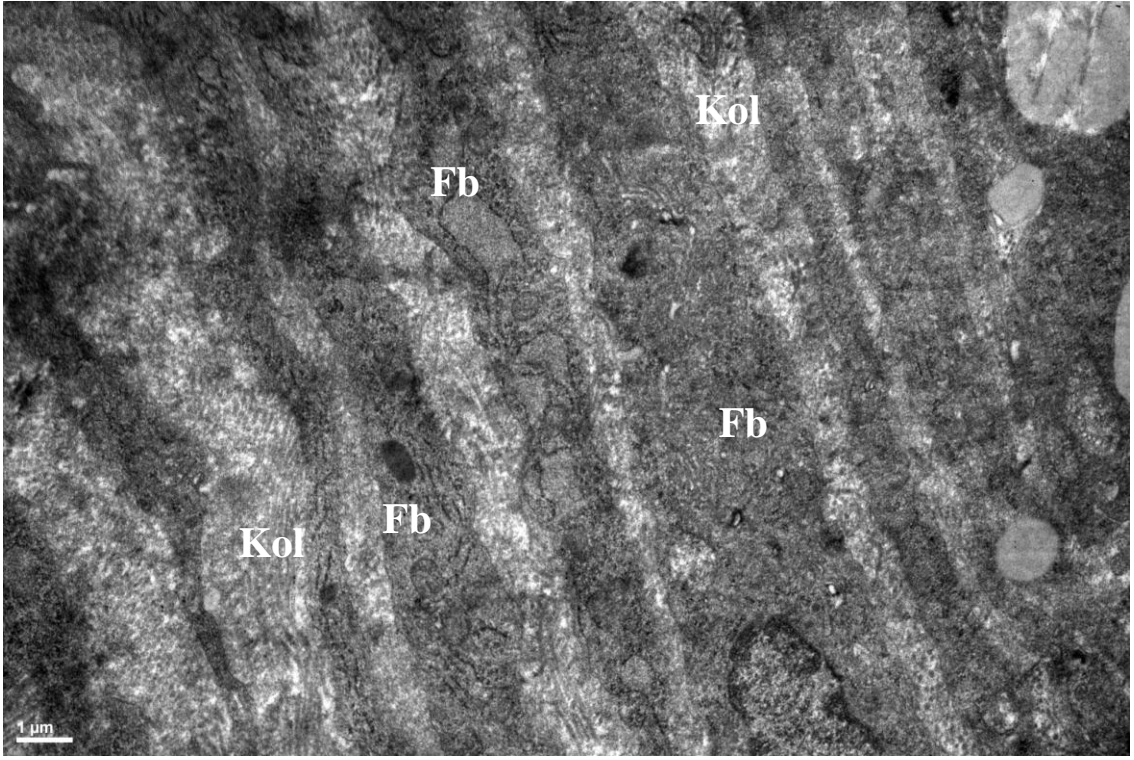
Şekil 27. 3. grupta kistik follüküle ait membrana granüloza tabakasının inceldiği, antrumu (A) sınırlayan granüloza hücrelerinin (GH) yassılaştığı, sitoplazmalarında lipid damlacıklarının (L) arttığı ve bu hücrelerin yer yer antrum içerisine döküldüğü (siyah ok) izlenmekte. Teka interna tabakasındaki (Ti) hücrelerin hipertrofik hal aldığı ve sitoplazmaları içerisinde lipid damlacıkları ve tübüler kristalara sahip mitokondriyonlar (M) içerdiği görülmekte. Kapiller (beyaz ok).



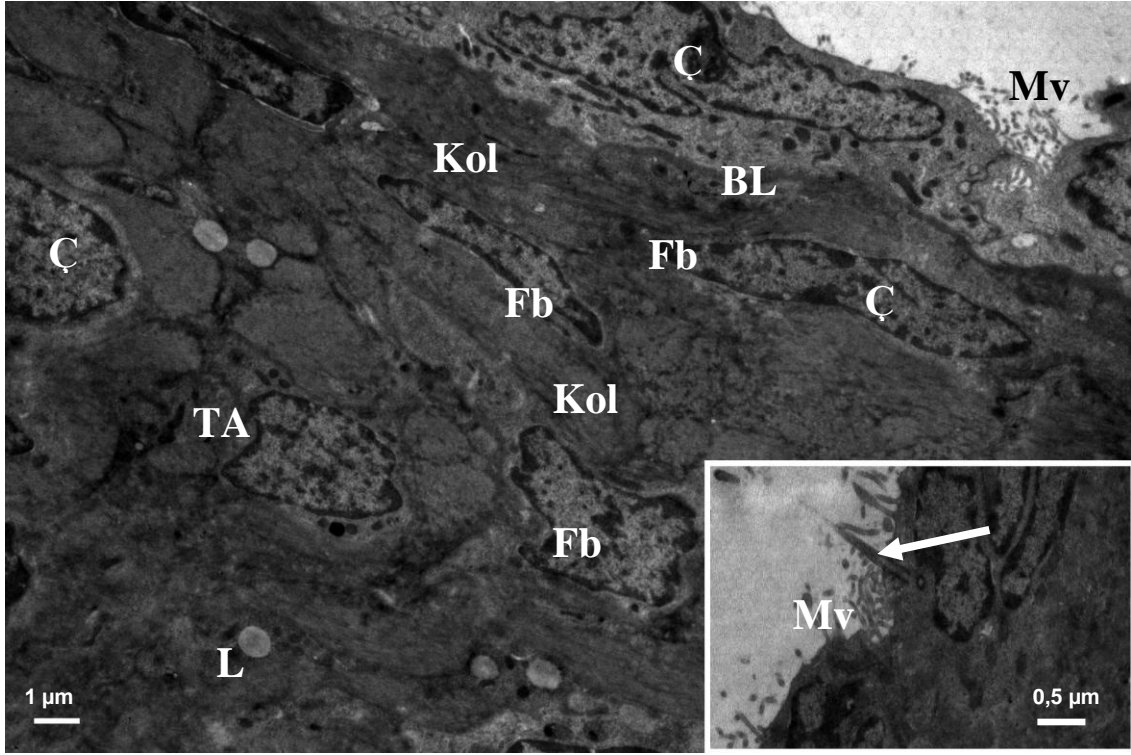
Şekil 28. 3. gruba ait folikülde hipertrofik granüloza hücreleri (GH), sferikal şekilli bir çekirdek (Ç), sitoplazmalarında tübüler tipte kristalar içeren mitokondriyonlar (M), agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları (ok) ve yaygın lipid damlacıkları (L) içermekte. Antrum (A).



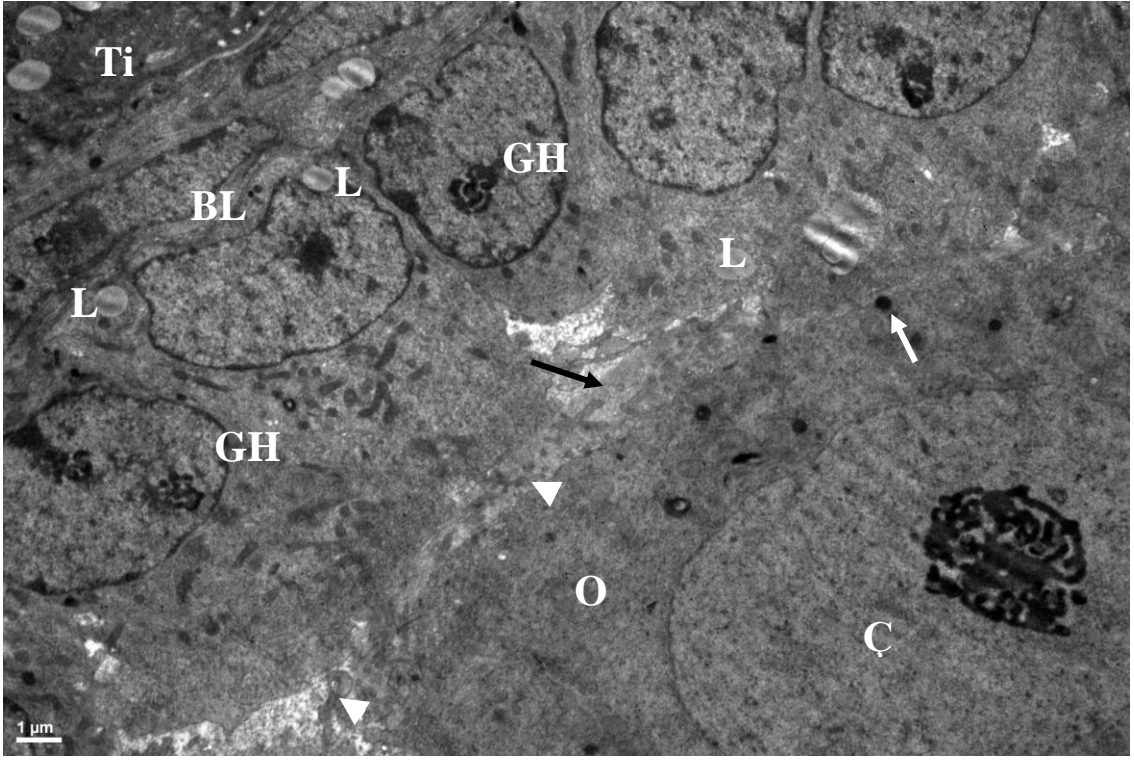
Şekil 29. 3. grupta bulunan korpus luteum kapsamındaki luteinize hücreler (LH) arasında apoptotik hücreler (ok) izlenmekte. Lipid damlacığı (L).



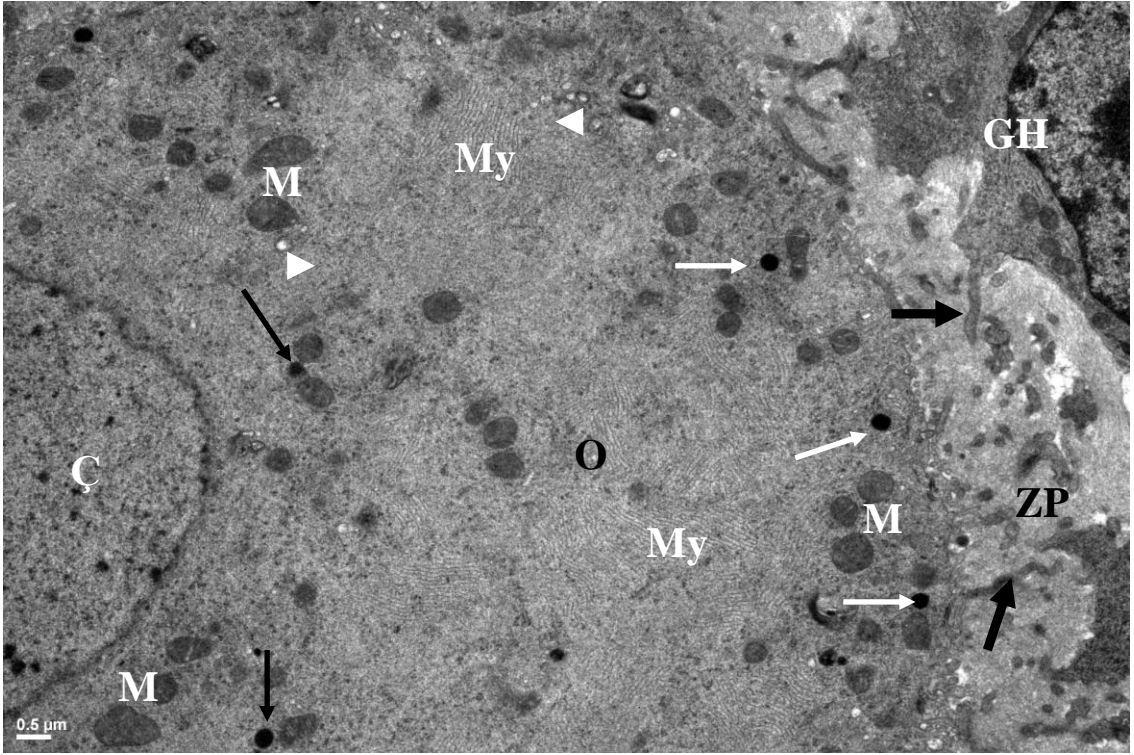
Şekil 30. 3. grupta ovarian stroma içerisinde fibroblastlar (Fb) ve ilişkili olduğu kollajen lifler (Kol) normal olarak izlenmekte.



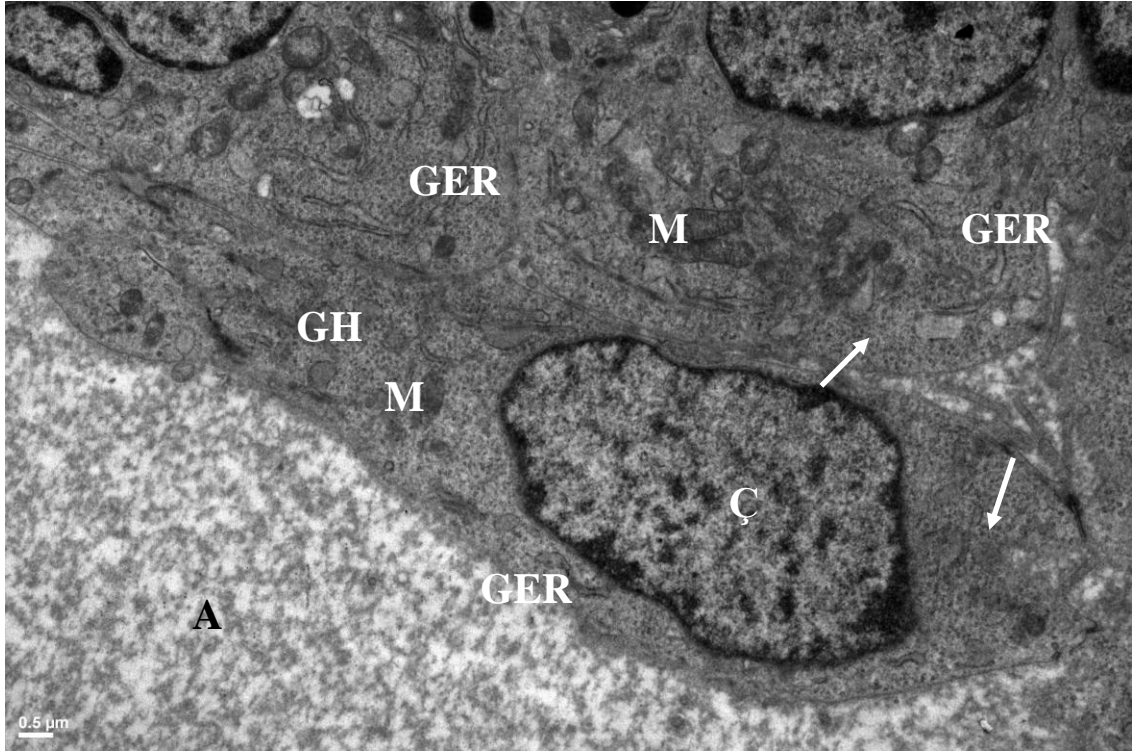
Şekil 31. 4. grup over yüzeyini döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde kısa, küt mikrovillusların (Mv) yanı sıra bazı hücrelerde tek bir silyumun (inset beyaz ok) varlığı izlenmekte. Over yüzey epitelinin altında yer alan tunika albuginea (TA) tabakasında fibroblastlar (Fb) ve kollajen lifler (Kol) görülmekte. Çekirdek (Ç), lipid damlacığı (L), bazal lamina (BL).



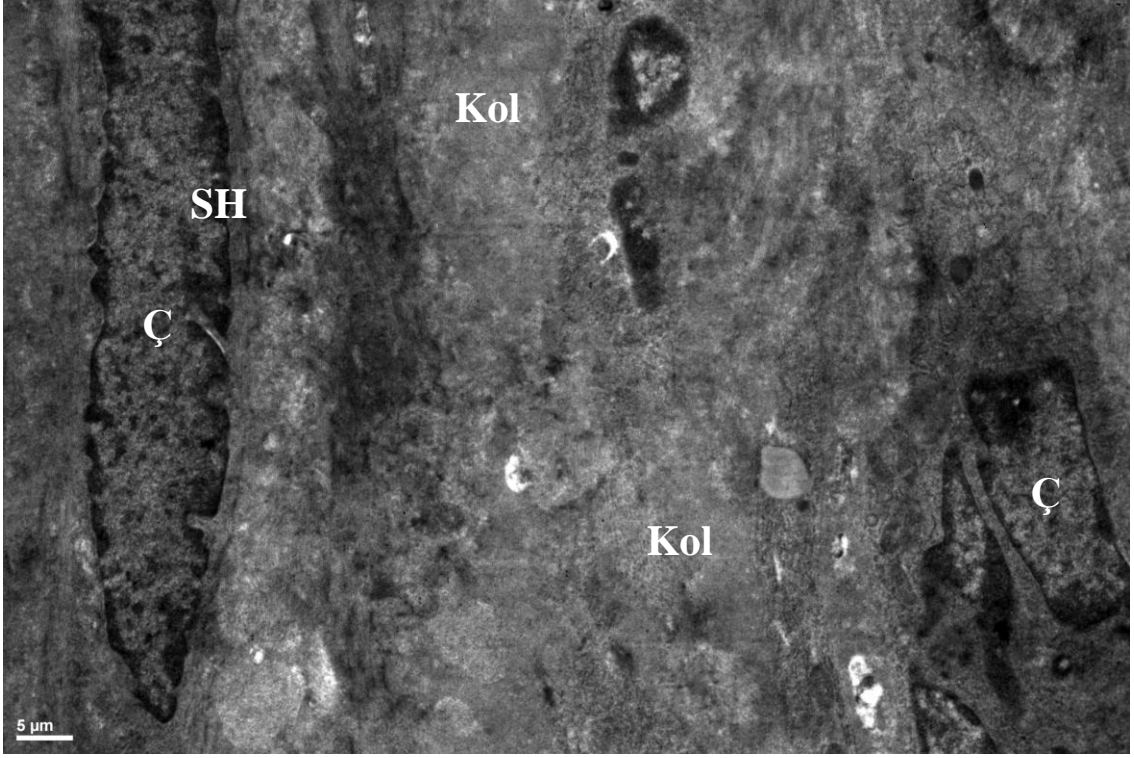
Şekil 32. 4. grupta primer follükülde ökromatik çekirdek (Ç) ve belirgin bir çekirdekçik içeren oositin (O) sitoplazmasında yeni oluşmaya başlamış kortikal granüller (beyaz ok) gözlenmekte. Oosit ile granüloza hücreleri (GH) arasında zona pellusidanın (siyah ok) yeni oluşmaya başladığı, hem oosit hem de follüküler hücrelerden kaynaklanan hücresele uzantılar (ok başı) görülmekte. Granüloza hücrelerinin sitoplazmasında lipid damlacıklarının (L) hafifçe arttığı görülmekte. Teka interna tabakası (Ti), bazal lamina (BL).



Şekil 33. 4. grupta primer follikülde sferikal şekilli bir çekirdek (Ç) içeren oositin (O) sitoplazmasında lizozomal yapılar (ince ok), membranla çevrili veziküller (ok başı), birbirine paralel halde düzenlenmiş membranöz yapılar (My), mitokondriyonlar (M), oolemmaya yakın alanlarda kortikal granüller (beyaz ok) gözlenmekte. Oosit ve granüloza hücreleri (GH) arasında yer alan zona pellusida (ZP), oosit ve granüloza hücrelerden kaynaklanan hücresel uzantılar (kalın ok) normal yapıda görülmekte.



Şekil 34. 4. grupta kistik follükülde geniş bir antrumu (A) sınırlayan yassı granüloza hücreleri (GH), oval şekilli bir çekirdek (Ç), sitoplazmalarında mitokondriyonlar (M), granüler endoplazmik retikülüm sisternaları (GER) ve yaygın serbest ribozomlar (beyaz ok) içermekte. Bu hücrelerin altındaki granüloza hücreleri kübik halde izlenmekte.



Şekil 35. 4. grupta ovarian stromada stromal hücreler (SH) normal morfolojik yapıda gözlenirken, stromal hücreler arasında kollajen liflerin (Kol) bir miktar arttığı görülmekte. Çekirdek (Ç).

5. TARTIŞMA

Overlerde, üreme periyodu boyunca kullanılmak üzere önemli miktarda primordiyal follükül rezervi bulunmaktadır. Puberte ile birlikte, her ay belli sayıda primordiyal follükül gelişmeye başlar, ancak bir veya nadiren bir kaç ovule olabilecek şansa sahip olur.⁴ Follükül gelişimi büyük oranda sistemik sinyallerle uyumlu intraovarian kontrol mekanizmaları ile düzenlenir. Bu kontrol mekanizmalarında yer alan büyüme faktörlerinin çoğu TGF- β süperailesine ait olup, oosit ve follüküler hücreler tarafından salgılanır. TGF- β süperailesinin bir üyesi olan AMH, komşu follüküllerin gelişimini inhibe eden, parakrin etkili bir büyüme faktörü olup, ovarian follüküllerin gelişimi sırasında, primer ve genç sekonder follüküllerin granüloza hücrelerinden salgılanmaktadır.^{8,24,30,31} AMH, overlerde primordiyal follükülden, primer follükül oluşumunu engellerken, follükülogenezisin ilerleyen aşamalarında ise komşu follüküllerin granüloza hücrelerindeki FSH reseptörlerini inhibe ederek, bu follüküllerin FSH'a duyarsız hale gelmelerine neden olmaktadır.^{9,11} Yapılan çalışmalarda; bazı patolojik durumlarda AMH düzeyinin artarak, follükül gelişiminin bozulduğu, ovulasyonun engellenerek infertilitenin geliştiği rapor edilmiştir. Bu nedenle değişik dozlarda AMH, dişi erişkin sıçanlara intraperitoneal yolla verilerek overler üzerine olan muhtemel etkileri değerlendirildiğinde primordiyal follüküllerin, bir önceki sıklusa ait korpus luteum kapsamındaki hücrelerin ve ovarian stromanın normal yapılarını koruduğu, gelişim sürecine girmiş follüküllerde ise dramatik değişikliklerin olduğu gözlemlendi.

2 μ g ve 5 μ g AMH uygulanan deney gruplarına ait overlerde primordiyal follüküllere ait follüküler hücrelerin sitoplazmalarında lipid damlacıklarının hafifçe artmış olduğu görüldü. Üreme periyodu boyunca ihtiyaç duyulan primordiyal follüküller üzerine AMH'un olumsuz etkisini bildiren bir çalışmaya rastlanmamakla birlikte, AMH'nun follükülogenez sırasında primordiyal follüküllerin primer follükül aşamasına geçişini inhibe ettiği birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir.^{8,32} Primordiyal follüküllerde gözlenen bu hafif değişikliklerin AMH'un primordiyal follüküller üzerindeki inhibisyon mekanizması sonucunda oluşabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca 1 µg AMH uygulanan gruba ait overlerde incelenen primer folliküle ait granüloza hücrelerinden birinin apikal yüzeyinde, oositle ilişkili olduğu gözlenen, bir primer silyumun varlığı ilgi çekiciydi. Hücre yüzeyinde tek olarak bulunan primer silyumların birçok dokuda bulunduğu, kemoreseptör, ozmoreseptör ve mekanoreseptör görevi gördüğü bilinmektedir.⁴ Overlerde, yüzey epitel hücrelerinde, preantral ve antral folliküle ait granüloza hücrelerinde primer silyumların normal olarak bulunduğu rapor edilmiştir.^{33,34} Granüloza hücrelerinde bulunan primer silyumun reseptör fonksiyonu görerek follikülün ve oositin olgunlaşmasında ve follikülün ovulasyona hazırlanmasında rol oynadığı rapor edilerek, PCOS'lu kadınlarda bu silyum yapısında oluşabilecek bozukluklar sonucunda ovulasyonun engellenebileceği ve kistik folliküllerin oluşmasına neden olabileceği bildirilmiştir.³⁵ Deney gruplarında over yüzey epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunan mikrovillusların yer yer seyrekleşerek, kısa, küt bir hal aldığı ve bazı alanlarda ise ince, uzun, sık ve koyu görüldüğü, bazı hücrelerin ise bir primer silyum içerdiği gözlemlendi. İnsan over yüzey epitelinin intraovarian ve ekstraovarian orijinli steroid hormonlara ve gonadotropinlere duyarlı olduğu Rae ve Hillier tarafından rapor edilmiştir.³⁶ Dolayısı ile over yüzey epitelindeki mikrovillusların değişik şekillerde bulunması hormon düzeylerindeki farklılıktan kaynaklanabilir.

İleri gelişim döneminde bulunan normal yapıdaki folliküllerin sayılarının, AMH uygulanan deney gruplarında, kontrol grubuna kıyasla azaldığı ve bu azalmanın 5 µg dozda AMH uygulanan grupta oldukça belirgin olduğu saptandı. Durlinger ALL ve ark. AMH'nun, gelişen folliküllerin granüloza hücrelerinin FSH'a duyarlılığını azaltarak folliküllerin ileri gelişimini engellediğini bildirmişlerdir.⁸ Follikül gelişimi sırasında, primordiyal folliküllerin gelişme sürecine girmesi ve erken primer follikül oluşma aşamasına kadar gerçekleşen follikülogenez sürecinin gonadotropinlerden bağımsız olduğu, gonadotropinlerin follikül gelişimi üzerine etkisinin ise, geç primer follikül evresinde başladığı rapor edilmiştir.⁵ Dolayısı ile deney gruplarında AMH dozu arttıkça normal yapıya sahip sekonder folliküllerin sayılarının azalması, AMH'nun primer folliküllerdeki granüloza hücrelerinin FSH'a olan duyarlılığını azaltarak ileri gelişimini engellemesinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Nitekim folliküler atrezinin daha çok gelişimin ileri evresindeki folliküllerde görülmesi bu görüşümüzü destekler niteliktedir.

Ayrıca değişik dozlarda AMH uygulanan deney gruplarının tümünde, atretik folliküllerin sayılarının artan dozla birlikte belirgin olarak arttığı saptandı. Devine ve ark. gelişen folliküllerde granüloza hücrelerinin oosit ve birbiri ile olan bağlantılarını yitirmesi, granüloza hücrelerinde apoptotik değişikliklerin varlığı ve hücreler arasında makrofajların bulunmasını atrezi işaretleri olarak tanımlamışlardır. Işık mikroskopik incelemelerde tüm deney gruplarında görülen granüloza hücrelerinin düzenlenmesinin bozulması, granüloza hücreleri arasında apoptotik cisimlerin, antral folliküllerde antral boşluğa dökülmüş granüloza hücrelerinin ve makrofajların varlığı bu follikülerde atrezinin geliştiğini düşündürmüştür. Atretik folliküllere ait elektron mikrograflar incelendiğinde ise bu folliküllerde hücre dejenerasyonunu simgeleyen farklı ultrastrüktürel bulguların olduğu gözlemlendi. Bazı folliküllerde, Devine ve ark.'nın da çalışmalarında rapor ettikleri²¹, normal follikül gelişim sürecinde de gözlenebilen apoptotik yolak ile oluşan atreziyi simgeleyen ultrastrüktürel değişiklikler gözlenirken, bazılarında ise granüloza hücrelerinin çekirdeklerinde hafif kromatin artması, endoplazmik retikülüm sisternalarının ve perinükleer sisternaların genişlemesi, sitoplazmada vakuollerin oluşması ile karakterize ultrastrüktürel değişikliklerin olduğu dikkati çekti. Bugüne dek tanımlanan normal apoptotik değişikliklerden farklı olan bu hücre dejenerasyonu bulgularının, son yıllarda büyüme faktörleriyle bağlantılı olarak gelişen programlı hücre ölüm şekillerinden biri olarak tanımlanan parapitosis bulguları ile uyumlu olduğu saptandı.⁴ Sperandio ve ark. yaptıkları çalışmalarında gelişen hücrelerde apoptosisten ve nekrozdan farklı olarak sitoplazmik vakuolizasyon ve mitokondrial şişme ile karakterize farklı bir hücre ölümü tipi olan parapitosisi tanımlamışlar. Hücrelerde gözlenen vakuollerin endoplazmik retikülümden köken aldığını bildiren araştırmacılar bu hücrelerde kromatin kondensasyonunun her zaman gözlenemeyebileceğini ileri sürmüşlerdir.³⁷ Granüloza hücrelerinde gözlediğimiz özellikle endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlemeleriyle karakterize olan bu değişiklikler nedeniyle TGF- β süperailisinin bir üyesi olan AMH'un bu hücrelerde apoptozis dışında parapitozise de neden olabileceğini düşündürmektedir.

Bazı preantral folliküllerde ise granüloza hücre hipertrofisi ve erken luteinizasyonu ile karakterize değişikliklerin olduğu izlendi. Bu folliküllerdeki granüloza hücrelerinin sitoplazması içerisinde lipid birikimi, tübüler kristallara sahip

mitokondriyonları ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarının varlığı ile karakterize bu yapısal değişiklikler, ovulasyon sonrası granüloza hücrelerinin luteinizasyonu ile benzerlik göstermekteydi. Ancak ovulasyonun olmadığı halde bu folliküllerde luteinizasyonun gözlenmesi ilgi çekiciydi. Oktem O ve Urman B normal follikül gelişimi sırasında oositten salınan BMP-6, BMP-15 ve GDF-9 gibi büyüme faktörlerinin follikülde erken luteinizasyonu ovulasyon zamanına kadar önlediğini ve bu nedenle hücresel proliferasyon ve folliküler gelişimin sağlıklı bir şekilde tamamlanabildiğini rapor etmişlerdir.³⁸ Deney gruplarında gözlenen erken luteinizasyon bulguları, AMH'nun erken luteinizasyonu engelleyen mekanizmaları etkilediğini göstermektedir. Erken luteinizasyon; ya oositten salgılanan BMP-6, BMP-15 ve GDF-9 salınımının bozulması sonucunda veya AMH'nun granüloza hücrelerindeki FSH reseptörlerini inhibe etmesi nedeniyle, granüloza hücrelerinin luteinizasyon sürecine girmesine neden olmuş olabilir. Hangi yolla erken luteinizasyona yol açmış olabileceği ayrı bir çalışma konusu olmakla birlikte sonuçta erken luteinizasyon follikül gelişimini olumsuz etkileyeceğinden bu folliküllerde ovulasyon engellenecektir.

Ayrıca deney gruplarında aşırı geniş antrumu, incelmış granüloza hücre tabakası, antrumu sınırlayan granüloza hücrelerinin yassılaşması ve hipertrofik teka interna tabakası ile karakterize olan ancak atretik özellikler göstermeyen folliküllerin varlığı da izlendi. Gözlemlerimiz sırasında bu değişiklikler ile karakterize folliküllerin kontrol grubunda hiç gözlenmediğini, AMH uygulanan 2 ve 3. grupta nadir olduğu ($p < 0,001$), 4. grupta ise bu folliküllerin sayılarının arttığı görüldü ($p < 0,001$). Bu folliküllere ait bulgularımız Manneas ve ark.'nın polikistik over oluşturdukları çalışmalarında tanımlamış oldukları geniş bir antrum, incelmış bir granüloza hücre tabakası, kalınlaşmış bir teka interna tabakası ile karakterize olan kistik follikül bulguları ile örtüşmekteydi.³⁹ Okutsu ve ark. ise ekzojenöz androstenedion verilmesinin overlerde folliküler kist oluşumunu indüklediğini ve folliküllerin antrumu sınırlayan granüloza hücrelerinde, apoptozisin oluşması ile membrana granüloza tabakasının incelenerek follikülün kistik hal almasına neden olduğunu ileri sürmüşlerdir.⁴⁰ Ayrıca bazı araştırmacılar kistik follikül duvarındaki granüloza hücrelerinde lipid damlacıklarının arttığını rapor etmektedirler.^{40,41} Antrumu sınırlayan granüloza hücrelerinde görülen

apoptotik değişikliklerle birlikte bu hücrelerin sitoplazmasında artmış lipid damlacıklarının varlığı da bu follüküllerin kistik hal aldığı destekler niteliktedir.

PCOS'nun muhtemel sebepleri günümüzde hala araştırma konusu olmakla birlikte, PCOS'lu kadınlarda, AMH kan seviyelerinin normal kadınlarla kıyaslandığında 2-3 kat daha fazla olduğu AMH'nun tersiyer follüküllerin ovulasyonunu inhibe etmesi sonucunda follüküllerin ovule olamayacağını, böylece PCOS oluşumuna katkıda bulunabileceğini bildiren çalışmaların yanı sıra, bazı çalışmalarda ise ovule olamayan fazla sayıdaki follükülden AMH salınımı sonucunda AMH'nun serum seviyesinin arttığı rapor edilmiştir.^{12-14,24,42,43} Ancak AMH seviyesindeki artışın ileri gelişim dönemindeki follüküllerin kistik hal almasına neden olabileceği, bu nedenle gelişen follüküllerden AMH salınımının herhangi bir nedenle artmasının, PCOS'nun gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Işık ve elektron mikroskopik tüm bulgularımız değerlendirildiğinde, sıçanlara AMH verilmesinin, overlerde gelişme sürecine girmiş follükülleri etkileyerek bunların apoptozis veya parapitozis yolu ile atreziye gitmelerine, bazı follüküllerde erken luteinizasyonun gelişmesine, ileri gelişme dönemindeki tersiyer follüküllerin ise kistik hal almasına neden olabileceği sonucuna varıldı. Ancak AMH'un follükülogenez üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması için ileri deneysel çalışmaların yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. AMH uygulanması over yüzey epitelinde hafif değişikliklerle birlikte tunika albugineada kalınlaşmaya neden olmaktadır.
2. Primordiyal folliküller AMH uygulanmasından önemli ölçüde etkilenmemektedir.
3. Artan dozlarda AMH uygulanması normal follikül gelişim sürecini etkileyerek folliküllerde apoptozis ve parapitozis yolu ile atrezinin gelişmesine neden olmaktadır.
4. AMH gelişim evresindeki folliküllerde erken luteinizasyon oluşumuna yol açmaktadır.
5. Sıçanlara artan dozlarda AMH uygulanması, ileri gelişim dönemindeki folliküllerin kistik hal almasına neden olabilmektedir.
6. AMH uygulanmasının ovarian stroma, interstisyel hücreler ve önceki siklusa ait korpus luteuma ait hücreler üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görüldü.
7. İleriki çalışmalarda, birden fazla östrus siklus AMH uygulanarak follikülogenez üzerine uzun dönemdeki etkileri incelenebilir.

KAYNAKLAR

1. **Sadler TW.** *Langman Medikal Embriyoloji.* 9. baskıdan çeviri, Ankara: Palme Yayıncılık, **2005**: Bölüm 1.
2. **Carlson BM.** *Human Embryology and Developmental Biology.* 4th Ed., Philadelphia: Mosby/Elsevier, **2009**: Chapter 1.
3. **Schoenwolf C, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH.** *Larsen's Human Embryology.* 4th Ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, **2009**. Chapter 1.
4. **Ross MH, Pawlina W.** *Histology, a Text and Atlas.* 6th Ed., Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, **2011**.
5. **Picton HM, Haris SE, Muruvi W and Chambers EL.** The in vitro growth and maturation of follicles. *Reproduction* **2008**; 136:703–715.
6. **Sriraman V, Niu E, Matias JR, Donahoe PK, Maclaughlin DT, Hardy MP and Lee MM.** Müllerian inhibiting substance inhibits testosterone synthesis in adult rats. *Journal of Andrology* **2001**; 22(5).
7. **Marca AL, Malmusi S, Giulini S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P and Volpe A.** Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Human Reproduction* **2004**; 19(12):2738–2741.
8. **Durlinger ALL, Visser JA and Themmen APN.** Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction* **2002**; 124:601–609.
9. **Nilsson E, Rogers N and Skinner MK.** Actions of anti-Müllerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction* **2007**; 134:209–221.
10. **Carlsson IB, Scott JE, Visser JA, Ritvos O, Themmen APN and Hovatta O.** Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. *Human Reproduction* **2006**; 21(9):2223–2227.
11. **Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R and Taieb J.** Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Human Reproduction* **2003**; 18(2):323–327.
12. **Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S and Mason H.** Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2007**; 92(1):240–245.
13. **Chen MJ, Yang WS, Chen CL, Wu MY, Yang YS and Ho HN.** The relationship between anti-müllerian hormone, androgen and insulin resistance on the number of antral follicles in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* **2008**; 23(4):952–957.
14. **Crisosto N, Codner E, Maliqueo M, Echiburu' B, Sa'nchez F, Cassorla F and Sir-Petermann T.** Anti-Müllerian hormone levels in peripubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* **2007**; 92:2739–2743.
15. **Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, Lang-Born BMN, Jong FH, Groome NP, Themmen APN and Visser JA.** Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology* **2006**; 147:3228–3234

16. **Boubekri A, Gernigon-Spychalowicz T, Khammar F, Exbrayat JM.** Histological and immunohistological aspects of the ovarian cycle of the algerian wild sand rat, *Psammomys obesus* Cretzschmar, 1828. *Folia Histochemica et Cytobiologica* **2007**; 45(1):41-49.
17. **Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA.** *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, **1998**; 604-606.
18. **Guigon CJ and Magre S.** Contribution of germ cells to the differentiation and maturation of the ovary: insights from models of germ cell depletion. *Biology of Reproduction* **2006**; 74:450–458.
19. **Motta PM, Makebe S and Notta SA.** The ultrastructure of human reproduction. 1. the natural history of the female germ cell: Origin, migration and differentiation inside the developing ovary. *Human Reproduction* **1997**; 3(3):281–295.
20. **Sevinç Ö, Solmaz S, Kaya M, Arıdoğan N.** Geç sekretuar evrede insan korpus luteumunun ince yapısı. *Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* **1990**; 1(5):75-82.
21. **Sternberg SS.** *Histology for Pathologists*. 2nd Ed. New York, Philadelphia: Lippincott-Raven, **1997**. Chapter 40.
22. **Devine PJ, Payne CM, McCuskey MK, Hoyer PB.** Ultrastructural evaluation of oocytes during atresia in rat ovarian follicles. *Biology of Reproduction* **2000**; 63:1245-1252.
23. **Knight PG and Glister C.** TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*. **2006**; 132:191–206.
24. **Marca AL, Broekmans FJ, Volpe A, Frauser BC and Marclon NS.** Anti-Müllerian hormone (AMH): what do we still need to know?. *Human Reproduction* **2009**; 24(9):2264-2275.
25. **Fortune JE.** The early stages of follicular development: Activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal Reproduction Science* **2003**; 78:135–163.
26. **Long WQ, Ranchin V, Pautier P, Belville C, Denizot P, Cailla H, Lhommé C, Picard JY, Bidart JM, Rey R.** Detection of minimal levels of serum anti-Müllerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Endocrinol Metab.* **2000**; 85(2):540-4.
27. **Luna LG.** *Manual of Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology*. 3th Ed., New York: Van Nostrand Reinhold Company, **1972**. Chapter 53.
28. **Zhuang XL, Fu YC, Xu JJ, Kong XX, Chen ZG, Luo LL.** Effects of genistein on ovarian follicular development and ovarian life span in rats. *Fitoterapia* **2010**; 81:998–1002.
29. **Kaya M.** Elektron mikroskopi teknikleri. *Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* **1984**; 9(1):1-21.
30. **Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Armstrong DG.** Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *J Anim Sci* **2004**; 82:63-74.
31. **Liu YX.** Interaction and signal transduction between oocyte and somatic cells in the ovary. *Bioscience* **2007**; 12:2772-2796.
32. **Visser JA, Durlinger ALL, Peters IJJ, Heuvel ER, Rose UM, Kramer P, Jong FH, Themmen APN.** Increased oocyte degeneration and follicular atresia during the estrous cycle in anti-müllerian hormone null mice. *Endocrinology* **2007**; 148:2301–2308.

33. **Hafez ES, Makabe S.** Surface ultrastructure of polycystic ovaries as viewed by electron microscopy. *Acta Eur Fertil.* **1979**; 10(3):119-29.
34. **Teilmann SC, Byskov, Pedersen PA, Wheatley DN, Pazour GJ, Christensen ST.** Localization of transient receptor potential ion channels in primary and motile cilia of the female murine reproductive organs. *Mol. Reprod. Dev.* **2005**; 71:444–452.
35. **Hafez ES, Makabe S, Motta PM.** Surface ultrastructure of functional and nonfunctional human ovaries. *Int J Fertil.* **1980**; 25(2):94-9.
36. **Rae MT and Hillier SG.** Steroid signalling in the ovarian surface epithelium. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* **2005**; 16(7):327-333.
37. **Sperandio S, Poksay K, Belle I, Lafuente MJ, Liu B, Nasir J and Bredeesen DE.** Paraptosis: mediation by MAP kinases and inhibition by AIP-1/Alix. *Cell Death and Differentiation* **2004**; 11:1066–1075.
38. **Oktem O ve Urman B.** Understanding follicle growth *in vivo*. *Human Reproduction* **2010**; 25(12):2944–2954.
39. **Mannerås L, Cajander S, Holmang A, Seleskovic Z, Lystig T, Lönn M and Stener-Victorin E.** A new rat model exhibiting both ovarian and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome. *Endocrinology* **2007**; 148(8):3781–3791.
40. **Okutsu Y, Itoh MT, Takahashi N and Ishizuka B.** Exogenous androstenedione induces formation of follicular cysts and premature luteinization of granulosa cells in the ovary. *Fertil Steril* **2010**; 93:927–35.
41. **Köker İ, Tap Ö, Polat S, Kaya M, Mete UÖ, Canbilen A.** Polikistik insan overinde follikül ince yapısı. *Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* **1992**; 17(3):215-226.
42. **Codner E, Iniguez G, Villarreal C, Lopez P, Soto N, Sir-Petermann T, Cassorla F and Rey RA.** Hormonal profile in women with polycystic ovarian syndrome with or without type 1 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **2007**; 92(12):4742–4746.
43. **Kenear ME, Laven JSE, Fong SL, Uitterlind AG, Jong FH, Themmen APN and Visser JA.** A functional anti-müllerian hormone gene polymorphism is associated with follicle number and androgen levels in polycystic ovary syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab.* **2008**; 93:1310-1316.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yurdun Kuyucu

Doğum Tarih ve Yeri : Kadirli, 26.01.1971

Medeni Durumu : Evli (Faruk Kuyucu), iki çocuklu (İpek, Mert)

Adres : ÇÜTF Histoloji ve Embriyoloji ABD. Balcalı/Adana

Telefon : 0 505 5274400, 0 532 5491816

Faks :

E. posta : yurdunkuyucu01@yahoo.com.tr

Mezun Oldugu Tıp Fakültesi : Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Varsa Mezuniyet Derecesi :

Görev Yerleri : Tavşanlı/Kütahya, Seyhan/Adana

Dernek Üyelikleri : Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği

Alınan Burslar :

Yabancı Dil(ler) : İngilizce, Almanca

Diğer Hususlar :