



**DENEYSEL HİPOTİROİDİ OLUŞTURULAN DIŞI
SIÇANLARDA ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE
DURUMUNUN ANALİZ EDİLMESİ:
HİSTOPATOLOJİK, İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE
BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA**

Elif ERBAŞ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Semin GEDİKLİ

Doktora Tezi – 2020

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

**DENEYSEL HİPOTİROİDİ OLUŞTURULAN DIŞI
SIÇANLARDA ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE
DURUMUNUN ANALİZ EDİLMESİ: HİSTOPATOLOJİK,
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE BİYOKİMYASAL
ÇALIŞMA**

Elif ERBAŞ

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Semin GEDİKLİ**

**ERZURUM
2020**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Uterus.....	4
2.1.1. Uterus Anatomisi	4
2.1.1.1 Corpus Uteri.....	5
2.1.1.2. Fundus Uteri	6
2.1.1.3. Cervix Uteri	6
2.1.2. Uterus Histolojisi	10
2.1.2.1. Perimetrium	11
2.1.2.2. Miyometriyum	11
2.1.2.3. Endometriyum	13
2.1.3. Uterus Fizyolojisi.....	17
2.2. Tiroid Bezi	20
2.2.1. Tiroid Bezinin Anatomisi	20
2.2.2. Tiroid Bezinin Histolojisi	20
2.2.3. Tiroid Bezinin Fizyolojisi	21
2.2.4. Hipotalamo-Hipofizer-Tiroid Aksı	22

2.2.5. Hipotiroidizm.....	22
2.3. İnfertilite	24
2.3.1. Kadın İnfertilitesi.....	25
2.3.1.1. Endokrinolojik Hastalıklar ve Kadın İnfertilitesi	25
2.3.1.2. Kadınlarda Hipotiroidinin İnfertilite ile İlişkisi.....	26
2.4. Endometriyal Reseptivite.....	27
2.4.1. Endometriyal Reseptivite Belirteçleri.....	28
2.4.1.1. Endometriyal Reseptivitenin Morfolojik Belirteçleri	28
2.4.1.2. Endometriyal Reseptivitenin Moleküler Belirteçleri	29
2.4.1.2.1. Adezyon Molekülleri	29
2.4.1.2.2. Anti-adezyon Molekülleri.....	31
2.4.1.2.3. Sitokinler ve Büyüme Faktörleri.....	31
2.4.1.2.4. Homeobox (HOX) Transkripsiyon Faktörleri	32
2.4.1.2.5. Prostaglandinler	33
2.4.1.3. Endometriyal Reseptivitenin Hormonal Kontrolü	33
3. MATERYAL VE METOT.....	35
3.1. Deney Etik Kurulu Onayı	35
3.2. Deneyde Kullanılan Hayvanların Temini ve Bakımları	35
3.3. Deney Grupları ve Deney Modeli.....	35
3.3.1. Östrus Siklusu Tayini.....	38
3.4. Cerrahi İşlemler	38
3.5. Histopatolojik Analizler.....	38
3.5.1. Doku Takip ve Kesit Alma Prosedürü.....	39
3.5.2. Boyama Prosedürü.....	40

3.5.3. Üçlü Boyama (Crosman'ın Modifiye Ettiği Mallory'nin Üçlü Boyaması)	
Prosedürü.....	40
3.5.4. İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü	40
3.6. Mikroskopik Görüntüleme ve Fotoğraflama	41
3.7. Biyokimyasal Analizler	41
3.7.1. TSH Ölçümü	42
3.7.2. sT4 Ölçümü.....	43
3.7.3. Progesteron Ölçümü	45
3.7.4. Östrojen Ölçümü.....	46
3.7.5. FSH Ölçümü	48
3.7.6. LH Ölçümü	50
3.8. İstatistiksel Analizler	51
4. BULGULAR.....	53
4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları.....	53
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	54
4.2.1. Uterus Dokularında Üçlü Boyama Bulguları.....	54
4.2.2. Uterus Dokularında İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları.....	61
4.3. Biyokimyasal Bulgular	66
4.3.1. Serum TSH Düzeyleri.....	67
4.3.2. Serum sT4 Düzeyleri	68
4.3.3. Serum Progesteron Düzeyleri	69
4.3.4. Serum Östrojen (E2) Düzeyleri	69
4.3.5. Serum FSH Düzeyleri.....	70
4.3.6. Serum LH Düzeyleri.....	71
5. TARTIŞMA.....	72

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	79
KAYNAKLAR	81
EKLER	102
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	102
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	103
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	104



TEŞEKKÜR

Doktora lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince, değerli bilgi ve katkıları ile yardım ve desteklerini esirgemeyen hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Semin GEDİKLİ'ye en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca değerli katkılarından dolayı sayın Doç. Dr. Osman Nuri KELEŞ ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Tuba DEMİRCİ'ye; tez çalışmam boyunca ihtiyaç duyduğum her anda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Betül APAYDIN YILDIRIM'a; lisansüstü eğitimim ve tez çalışmam boyunca her türlü yardım, motivasyon ve dostluklarıyla daima yanımda olan çok değerli mesai arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Erdem TOKTAY, Arş. Gör. Muhammet Ali GÜRBÜZ, Arş. Gör. Dr. Tuğba Bal TAŞTAN, Nevra AYDEMİR CELEP, Dr. Özlem ÖZGÜL ABUÇ, Arş. Gör. Dr. Raziye ALACA ve Arş. Gör. Dr. Merve DURMUŞ KAYGISIZ'a; tez çalışmamın yürütülebilmesine fırsat sağlayan Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli yönetici ve personeline teşekkürleri bir borç bilirim. Tüm çalışmalarım boyunca sabırla bana destek olan ve hiçbir yardımdan kaçınmayan sevgili eşime ve hayatıma anlam katan biricik kızıma; yaşamım boyunca beni hiç yalnız bırakmayan ve hep destek olan annem, babam ve ağabeyime sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

ELİF ERBAŞ

ÖZET

Deneyisel Hipotiroidi Oluşturulan Dişi Sıçanlarda Endometriyal Reseptivite Durumunun Analiz Edilmesi: Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal Çalışma

Amaç: Çalışmamızda dişi sıçanlarda deneyisel hipotiroidi modeli oluşturularak, hipotiroidinin endometriyal reseptivite üzerine olan etkilerinin histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmada 200-250 gram ağırlığında, 36 adet dişi Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Kontrol-ER grubu dışındaki gruplarda hipotiroidi oluşturmak amacıyla 8 hafta %0.05 6-propil-2-tiyourasil içme sularına taze olarak eklendi. Daha sonra Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER gruplarına endometriyal reseptivite modeli uygulandı, sıçanlar 5. gün sakrifiye edildi. Tedavi-ER grubuna ise günlük 0.8µg/100g L-tiroksin subkutan yolla, 10 gün uygulandı ve sonunda bu gruba da endometriyal reseptivite modeli uygulanarak 5. gün sıçanlar sakrifiye edildi. Alınan uterus dokuları histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak, kan örnekleri biyokimyasal olarak değerlendirildi.

Bulgular: Histopatolojik değerlendirmede; Hipotiroidi-ER grubunun endometriyum tabakasında epitelyal dejenerasyon, vakuolizasyon, uterus bezlerinde genişlemeler ve morfolojik bozukluklar gözlemlendi. Hipotiroidi-ER grubu ile karşılaştırıldığında Tedavi-ER grubunda önemli düzeyde iyileşmeler belirlendi. İmmünohistokimyasal değerlendirmede; Hipotiroidi-ER grubu ile Kontrol-ER grubu karşılaştırıldığında, integrin $\beta 3$, integrin $\alpha \beta 3$, LIF, HOXA10 antikorlarında immün reaksiyonların azaldığı, MUC1 immün reaksiyonunun ise belirgin şekilde arttığı görüldü. Ayrıca Tedavi-ER grubunda tüm antikorların immün reaksiyonlarının Kontrol-ER grubundaki düzeye yaklaştığı görüldü. Biyokimyasal analizlerin sonucunda; Hipotiroidi-ER grubunda Kontrol-ER grubuna göre TSH ve progesteron seviyelerinde anlamlı bir yükselme, serbest T4, östrojen, FSH ve LH seviyelerinde ise anlamlı bir azalma tespit edildi. Tedavi-ER grubunun Hipotiroidi-ER grubu ile karşılaştırmasında ise tüm hormon düzeylerinde anlamlı bir iyileşme görüldü.

Sonuç: Elde ettiğimiz veriler, endometriyal reseptivitede oldukça etkili olan hipotiroidinin deneyisel sıçan modelinde oluşturduğu histopatolojik ve biyokimyasal değişimlerin hipotiroidi tedavisi ile normale döndürülebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Endometriyal reseptivite, Hipotiroidi, L-tiroksin, 6-propil-2-tiyourasil

ABSTRACT

Analysis of Endometrial Receptivity Status in Female Rats with Experimental Hypothyroidism: Histopathological, Immunohistochemical and Biochemical Study

Aim: In our study, it was aimed to investigate the effects of hypothyroidism on endometrial receptivity in experimental hypothyroid model in female rats by histopathological, immunohistochemical and biochemical methods.

Material and method: In the study, 36 female Sprague-Dawley rats weighing 200-250 grams were used. Rats were divided into 3 groups as Control-ER, Hypothyroid-ER and Treatment-ER. Except for the Control-ER group, 0.05% 6-propyl-2-thiouracil was added freshly to drinking water for 8 weeks in order to create hypothyroidism. Subsequently, endometrial receptivity model was applied to Control-ER and Hypothyroid-ER groups, then rats were sacrificed on the 5th day. The treatment-ER group was subjected to 0.8µg/100g L-thyroxine daily for 10 days. At the end of this period, the endometrial receptivity model was applied to this group and rats were sacrificed on the 5th day. The uterine tissues obtained after the experiment were evaluated histopathologically and immunohistochemically, and blood samples were evaluated biochemically.

Results: In histopathological evaluation; epithelial degeneration, vacuolization, enlargement of the uterine glands and morphological disorders were observed in the endometrium layer of the Hypothyroid-ER group. Compared to the Hypothyroid-ER group, significant improvements were detected in the Treatment-ER group. In immunohistochemical evaluation; when the Hypothyroid-ER group and the Control-ER group were compared, while immune reactions were decreased in integrin $\beta 3$, integrin $\alpha \beta 3$, LIF, HOXA10 antibodies, it was seen that MUC1 immune reaction increased significantly. Also, it was seen that immune reactions of all antibodies in the Treatment-ER group approached the level in the Control-ER group. As a result of biochemical analysis; in the Hypothyroid-ER group, there was a significant increase in TSH and progesterone levels compared to the Control-ER group, and a significant decrease in free T4, estrogen, FSH and LH levels. It was determined that all hormone levels of the Treatment-ER group improved significantly compared to the Hypothyroid-ER group.

Conclusion: The data obtained from the study showed that histopathological and biochemical changes occurring in the experimental hypothyroidism model can be returned to normal by the treatment of hypothyroidism, which is highly effective in endometrial receptivity.

Key Words: Endometrial receptivity, Hypothyroidism, L-thyroxine, 6-propyl-2-thiouracil

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A.	:	Arteria
ATADEM	:	Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
°C	:	Santigrat derece
cAMP	:	Siklik Adenozin Monofosfat
cm	:	Santimetre
COX-2	:	Siklooksijenaz-2
CSF	:	Koloni Stimüle Edici Faktör
DAB	:	3,3'diaminobenzidine
Dk	:	Dakika
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
ER	:	Endometriyal Reseptivite
E2	:	Östradiol
FSH	:	Folikül Uyarıcı Hormon
g	:	Gram
Glrx	:	Glutaredoksin
GlyA	:	Glikodelin A
GnRH	:	Gonadotropik Salgılatıcı Hormon
HADYEK	:	Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HB-EGF	:	Heparin Bağlayıcı Epidermal Büyüme Faktörü
hCG	:	İnsan Koryonik Gonodotropin Hormonu
HOXA10	:	Homeobox A10
HPO	:	Hipotalamus-Pitüiter-Over
Ig	:	İmmünglobulin

IL	:	İnterlökın
IU	:	Uluslararası Birim
IVF	:	In Vitro Fertilizasyon
Kg	:	Kilogram
L	:	Litre
L1	:	Lumbal 1
LH	:	Lüteinleştirici Hormon
LIF	:	Lösemi İnhibe Edici Faktör
Lig.	:	Ligamentum
m.	:	Musculus
mg	:	Miligram
mL	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
MMP	:	Matriks Metalloproteinaz
MUC	:	Müsin
ng	:	Nanogram
nm	:	Nanometre
nn	:	Nervi
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
PCOS	:	Polikistik Over Sendromu
PTU	:	6-propil-2-tiyourasil
PP14	:	Plasental Protein 14
PGF2α	:	Prostaglandin F2 Alfa
S2-4	:	Sakral 2-4
SHBG	:	Seks Hormonu Bağlayıcı Globülin

sT4	:	Serbest T4
T3	:	Triiyodotironin
T4	:	Tiroksin
T11-12	:	Torakal 11-12
TBPA	:	Tiroksin Bağlayıcı Pre-Albümin
TGB	:	Tiroksin Bağlayıcı Globülin
TNF- α	:	Tümör Nekrozis Faktör
TPO	:	Tiroid Peroksidaz
TSH	:	Tiroid Stimülan Hormon
TRH	:	Tiroid Salgılatıcı Hormon
VEGF	:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Sıçan uterusunun makroskopik görüntüsü	5
Şekil 2.2. Uterus dokusunun histolojik görüntüsü.....	11
Şekil 3.1. Sıçanlarda östrus döneminde vajinal yıkamanın ışık mikroskopik görüntüsü	37
Şekil 3.2. Sıçan vajinal tıkaç görüntüsü	37
Şekil 4.1. Deney öncesi ve sonrasında sıçan vücut ağırlıklarının grup içi ve gruplar arası değerlendirilmesi	53
Şekil 4.2. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular.....	54
Şekil 4.3. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular.....	55
Şekil 4.4. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular.....	55
Şekil 4.5. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular.....	56
Şekil 4.6. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	57
Şekil 4.7. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	57
Şekil 4.8. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	58
Şekil 4.9. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	58
Şekil 4.10. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	59
Şekil 4.11. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	60
Şekil 4.12. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	60
Şekil 4.13. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular	61
Şekil 4.14. İntegrin $\beta 3$ immünohistokimyasal boyama bulguları.....	62
Şekil 4.15. İntegrin $\alpha \nu \beta 3$ immünohistokimyasal boyama bulguları.....	63
Şekil 4.16. HOXA10 immünohistokimyasal boyama bulguları.....	64
Şekil 4.17. LIF immünohistokimyasal boyama bulguları	65
Şekil 4.18. MUC1 immünohistokimyasal boyama bulguları	66

Şekil 4.19. Serum TSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	68
Şekil 4.20. Serum sT4 düzeylerinin gruplara göre dağılımı	68
Şekil 4.21. Serum progesteron düzeylerinin gruplara göre dağılımı	69
Şekil 4.22. Serum östrojen düzeylerinin gruplara göre dağılımı	70
Şekil 4.23. Serum FSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	70
Şekil 4.24. Serum LH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	71



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. İnfertiliteye neden olabilecek endokrinolojik hastalıklar	26
Tablo 3.1. Serum örneklerinden TSH tayini	43
Tablo 3.2. Serum örneklerinden sT4 tayini.....	44
Tablo 3.2. (Devamı)	45
Tablo 3.3. Serum örneklerinden Progesteron tayini.....	46
Tablo 3.4. Serum örneklerinden E2 tayini	48
Tablo 3.5. Serum örneklerinden FSH tayini	49
Tablo 3.5. (Devamı)	50
Tablo 3.6. Serum örneklerinden LH tayini	51
Tablo 4.1. İmmünohistokimyasal Boyama Skorları	61
Tablo 4.2. Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarının serumlarındaki bazı biyokimyasal parametreler.....	67

1. GİRİŞ

İnfertilite çağımızın en önemli klinik problemlerinden biridir. Her yıl popülasyonun %10-15'inde infertilite tanısı konulan yeni çift mevcuttur. İnfertilitenin altında yatan nedenler erkek ya da kadın kaynaklı olabilmektedir. Kadın infertilitesinin görülmesinde en sık karşılaşılan nedenler tubal-pelvik patolojiler, ovulatuvar disfonksiyon, açıklanamayan sebepler ve sıklıkla gözlemlenmeyen sebepler olmaktadır. Sıklıkla gözlemlenmeyen nedenler arasında endokrinolojik hastalıklar da önemli bir yer tutmaktadır.^{1, 2}

Bu endokrinolojik hastalıkların arasında hipotiroidi çok önemli bir yerdedir ve oldukça yaygındır. İyot eksikliğine bağlı gelişen hipotiroidizm ve otoimmün tiroid hastalığı ile ilişkili hipotiroidizm en sık bildirilen tiroid bozukluklarıdır. Bu hastalıkların oranı reproduktif çağdaki kadınlarda yaklaşık %10'dur.³ Hipotiroidizm, T3 (triiodotironin) ve T4 (tiroksin) tiroid hormonlarının yetersiz düzeylerinin bir sonucudur ve hipofiz bezi TSH (tiroid stimulan hormon) salgılayarak T3 ve T4 salınımını düzenlemeye çalışır. Bu nedenle hipotiroidinin objektif tanısı TSH ve T4 seviyelerinin laboratuvar analiziyle konulabilir. Öncelikli olarak kan serumundan TSH seviyesinin ölçülmesi esastır. TSH seviyesi yüksekse eğer T4 düzeyi de ölçülerek tanı konulabilir. Tanı için T3 ölçümü esas değildir çünkü T3 hormonu tiroid anormallikleri olmasa dahi düşük ya da yüksek düzeyde bulunabilir.⁴

Endokrinolojik hastalıkların fertilitiyi olumsuz olarak etkilemesindeki temel nedenler ovulasyonun, korpus luteumun işlevinin ve implantasyonda çok önemli bir faktör olan endometriyal reseptivitenin azalması olmaktadır.⁵

Reproduktif çağdaki kadınlarda oldukça sık görülen hipotiroidi de cinsel olgunlaşmayı ve menstruasyon döngüsünü olumsuz etkiler ve pubertede gecikmeye, anovulasyona, amenoreye ya da hipermenoreye, adet düzensizliğine sebep olur.

Fertiliteyi de inhibe eder ve jinekolojik bozukluklar, abortus ve fetal mortalite gibi patolojilerin artışına sebebiyet verir.⁶⁻⁹

Hipotiroidi olgularında aynı zamanda uterus epitel morfolojisinin ve endometriyum tabakasının değiştiği ve dejenere olduğu gözlenmiştir. Oysa kaliteli bir reseptivite ve implantasyonun oluşabilmesi için normal ve sağlıklı yapıda bir endometriyum bulunması şarttır.¹⁰

Normal yolla veya IVF (in vitro fertilizasyon) yolu ile fertilize olan embriyonun, uterusa tutunması ve yerleşmesi olayına implantasyon denir. İnsanlarda bu olay için en ideal zaman menstruasyon siklusunun ikinci yarısında şekillenen sekretuar evrenin 19-24. günleri arasındadır ve bu önemli zaman dilimi implantasyon penceresi dönemi olarak bilinir.¹¹ Bu dönemde implantasyonun başarılı şekilde gerçekleşmesi için bazı faktörler etkilidir. Bunlar; hormonal denge, blastokistin sağlıklı gelişimi, endometriyal kalite ve endometriyum ile blastokist arasında senkronizasyonun olmasıdır. Blastokist ve endometriyum arasında şekillenen bu son derece önemli olayların tümü endometriyal reseptivite olarak adlandırılır.^{12, 13}

Blastokist ve endometriyum arasındaki önemli etkileşimlerin şekillendiği bu dönemde pinopod oluşumu ve adeziv moleküllerin sentezi son derece önemlidir. Bu dönemde eksprese olan integrin beta 3 (integrin $\beta 3$) ve integrin alfa v beta 3 (integrin $\alpha v \beta 3$) düzeyi birçok çalışmada endometriyal reseptivite için belirleyici faktörler olarak kullanılmıştır.^{14, 15} Lösemi inhibe edici faktör (LIF) ve homeobox A10 (HOXA10) bu dönemle ilişkisi olan ve önem arz eden diğer moleküller arasındadır.^{16, 17} Ayrıca bu dönemde müsin 1 (MUC1) varlığı, endometriyal reseptivite ile ters orantılı ekspresyonda oluşu ile yapılan çalışmalarda tartışılmaktadır.¹⁸ Yapılan çalışmalarda, endometriyal reseptivite döneminde şekillenen pinopod oluşumu ve adeziv moleküllerin ekspresyon anomalilerinin gebelik oluşumundaki başarıyı direkt etkilediği bildirilmektedir.^{14, 19}

Kısa bir tanımla endometriyal reseptivite, endometriyumun implantasyon için en elverişli olduğu dönemdir.²⁰ Cinsiyet hormonları, bazı sitokin ve kemokinler ile hücre içi sinyal mekanizmalarını barındıran karmaşık olayların şekillendiği bu dönemde istenmeyen durumların oluşması ile reseptivitenin olumsuz yönde etkilendiği bildirilmiştir.^{15, 21} Özellikle hormonal dengenin bozulması ile reseptivitenin oluşumunun olumsuz etkilendiği bilinmektedir.²²

Tüm bu bilgiler ışığında, infertilite üzerinde çeşitli olumsuz etkileri olan hipotiroidizmin, sağlıklı bir implantasyonun şekillenmesi esnasında son derece önemli olan endometriyal reseptivite fazına olumsuz etkilerinin olmadığı düşünülemez. Bu konuda literatürde çok fazla çalışmaya rastlanmamış olması bizi son yıllarda oldukça önem arz eden infertilite, hipotiroidizm ve endometriyal reseptivite ilişkisi hakkında araştırmaya sevk etmiştir.

Günümüzde çok önemli bir yere sahip olan infertilite olguları için literatürdeki bu açığa katkı sağlamak amacıyla; çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan hipotiroidi modelinin, implantasyon penceresi esnasında şekillenmekte olan endometriyal reseptivite üzerine etkilerini histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal açıdan göstermeye çalıştık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus

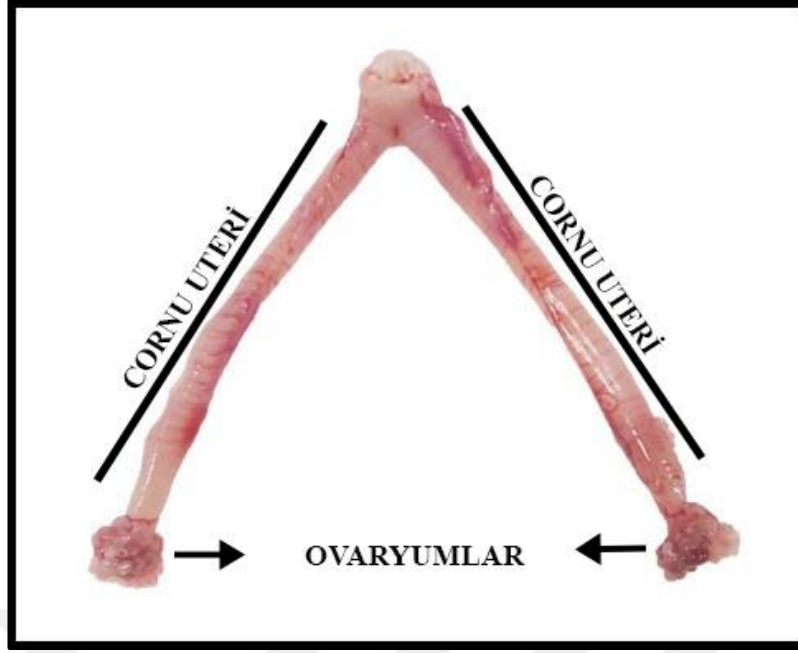
2.1.1. Uterus Anatomisi

Uterus, vücudun orta hattında, pelvis minorda, mesane ve rektumun arasındaki bölgede bulunan, kalın duvarlı, içi boş, kassal bir organdır. Kalın kas yapısı sayesinde gebelikte boyutu 3-6 kat genişleyebilir. Üstten ince bağırsakla, yan kısımlarından lig. Latum uteri ile arkadan ileum ve sigmoid kolonla, ön kısmından excavatio uterina ve mesanenin üst yüzü ile komşudur. Uterus üstte tuba uterina, altta ise vajina ile birleşir.²³⁻

26

Uterusun uzun eksenini vücudun orta hattına paralel şekilde yerleşmiştir. Ön yüzeyi tamamen düz, arka yüzü ise konvektir. Boyu yaklaşık 7-9 cm, eni 5 cm, duvar kalınlığı 2.5 cm'dir. Ağırlık olarak yaklaşık 50-80 g'dır. Gebelik esnasında şekil, konum ve boyut olarak oldukça değişen uterus, doğum sonrasında zamanla eski durumuna döner.^{23,24}

Uterus anatomik olarak corpus uteri, fundus uteri ve cervix uteri olmak üzere üç bölüme ayrılır.^{23, 24} Sıçan uterusu ise boynuz görünümündedir ve bikornuat yapıdadır. Batın boşluğunun her iki yanına doğru uzanır ve kornular böbreklerin alt yüzünde sonlanır (Şekil.2.1).^{27, 28} Uterin kornuların lümenleri birbirinden tamamen bağımsızdır ve vajina lümenine birbirinden bağımsız eksternal orifisler (portio vaginalis uteri) ile açılırlar. Uterin kornular dorsal abdominal kavitede yerleşirken uterus gövdesi ile vajina rektumun dorsali ve mesanenin ventralinde bulunur.²⁹



Şekil 2.1. Sıçan uterusunun makroskopik görüntüsü

2.1.1.1 Corpus Uteri

Corpus uteri (gövde) uterusun 2/3'lük üst geniş bölümüdür. Ön yüzü düz, arka yüzü konveks olan gövde, uterusun tuba uterinalara bağlandığı bölümün alt kısmıdır. Corpus ve cervix uteri arasında bulunan 1 cm'lik kısa ve dar kısma da isthmus uteri adı verilir.²⁴

Corpus uterinin vesica urinaria (mesane) ile komşu olan alt kısmına facies vesicalis, ince bağırsak ile komşu olan üst kısmına facies intestinalis denir. Facies intestinalis, facies vesicalise oranla daha geniş yüzeyli ve konveks yapılıdır. Periton, corpus uterinin yüzeyini örter, vesica urinarianın üst yüzeyini ise örtmez. Böylece vesica urinaria ve corpus uteri arasında excavatio vesicouterina adında bir çıkmaz yapı meydana gelir.²⁴

Periton, facies intestinalisi örttükten sonra vajinanın arka duvarının yüzünü de örter ve rektuma geçer. Böylece bu organlar arasında excavatio rectouterina oluşur. Plica rectouterina da ince bağırsak kıvrımlarından oluşan ve bu çıkmazı oluşturan plikadır.²⁴

Margo uteri dexter ve margo uteri sinister, corpus uterinin yan kenarlarına verilen isimlerdir ve bu yapıların üst yüzleri cornu uterilerle uygun şekilde hafifçe konvektir. Boynuzumsu çıkıntılar olan cornu uteri dexter ve sinister yapılarına da tuba uterinalar tutunur.²⁴

Cavitas uteri, corpus uterinin bulunduğu boşluğa verilen isimdir. Dıştan dar bir boşluk, üstten de ters bir üçgen şekline benzeyen bu yapı organ büyüklüğüne nispeten ufak bir boşluktur.³⁰

2.1.1.2. Fundus Uteri

Corpus uterinin tavanında, tuba uterinaların uterus ile birleştiği bölgenin üzerinde, peritonla örtülü, kalın ve konveks kısımdır. Corpus uterinin, fundus uteri ile birleştiği noktalarda çıkıntı şeklinde bulunan cornu uteri dextrum ve cornu uteri sinistrum yapıları bulunur ve tuba uterinalar bu kısımlardan bağlanır.^{23, 24}

2.1.1.3. Cervix Uteri

Uterusun 1/3'lük kısmını oluşturan, vajina ve isthmus uteri arasında bulunan kısa, dar ve silindirik bölümdür. Cervix uterinin vajina içine giren alt kısmına portio vaginalis cervicis, yukarısında kalan bölüme de portio supravaginalis cervicis denir.²⁴

Vajina içerisine doğru uzanan portio vaginalis cervicis, vajinanın arka duvarına bakan bir delik şeklinde görülür ve bu yapıya ostium uteri denir. Bu delik önden labium anterius, arkadan labium posterius ile sınırlandırılmıştır. Ostium uteri, üstte canalis cervicis uteri ile birleşir.³⁰

Cavitas uteri ile vajina birbirine canalis cervicis uteri ile bağlanır. Canalis cervicis uteri, isthmus uteri ile ostium uteri arasında bulunan, uç kısımları ortasına oranla daha dar olan bir kanaldır. Bu kanal plica palmatae adlı plikalarla kaplıdır. Serviksin uterusu bakan ağız kısmına ostium uteri internum, vajina tarafına bakan ağız kısmına ostium uteri externum adı verilir.²⁴

Hayatın farklı evrelerinde uterusun formu, boyutu ve bulunduğu yer değişiklik gösterir. Fetus ve bebeklik çağında cervix uteri, corpus uteriden daha büyüktür ve uterus karın boşluğundadır. Puberte döneminde uterus büyür, genişler ve armut şeklini alır. Ergin dönemde ise uterus mesane üstünde yerleşmiş olup genelde antevert ve anteflex konumunda bulunur.^{23, 24, 26}

Genellikle uterus ve vajinanın uzun eksenleri aralarında, açık tarafı öne bakan 90 derecelik bir açı oluştururlar. Bu açıya anteversio uteri denir. İnternal os hizasında corpus uterinin uzun eksen, cervix uterinin uzun eksen ile açık tarafı öne bakan yaklaşık 170 derecelik bir açı oluşturur. Bu açıya da anteflexio uteri adı verilmiştir. Bu nedenle idrar kesesi boş olan ve ayakta duran bir kadının uterusu neredeyse yatay konumdadır.²⁶

Retroversio uteri durumunda, corpus uteri ve fundus uteri vajinanın arka tarafına doğru eğilir ve excavatio rectouterina içinde bulunur. Retroflexio uteri durumunda ise cervix uteriye karşın corpus uteri arkaya doğru eğik olarak bulunur.²⁶

Uterusun cavitas pelvisin merkezinde bulunmasına katkı sağlayan aktif ve pasif oluşumlar vardır. Uterusa dinamik destek oluşturan ve aynı zamanda karın iç basıncının arttığı zamanlarda meydana gelen aktif kasılmaları uterusu ileten yapı diaphragma pelvistir. Pasif yapılar uterusun bulunduğu konum ile ilişkilidir. Normalde uterus mesane üstünde antevert ve anteflex konumda yerleşir. Karın iç basıncı arttığında vajinaya doğru değil mesaneye doğru itilir. Uterusun en hareketsiz bölümü, içerdği düz kas lifleri ve endopelvik facianın kalın uzantıları şeklindeki ligamentlerin sağladığı pasif destek sayesinde cervix uteridir.²⁴

Uterus çevre oluşumlara 1 adet kas ve 5 adet bağ yapısı ile tutunur. M. levator ani, lig. sacroservicalis, lig. transversum servicis, lig. pubocervicale uterusu taşımakla görevlidirler. Lig. latum uteri ve lig. teres uteri gevşek bağ dokusu yapısındadırlar ve uterusu taşımakla görevli değildirler.²³

Pelvisin çıkış kısmının büyük bölümünü m. Levator ani örter. Fascia diaphragmatis pelvis superior pelvisin üst kısmını örter ve m. Levator ani ile birlikte pelvisteki organları taşırlar. Karın içi basınç arttığında bu bölgedeki kaslar kasılır. M. levator ani, ön bölümündeki medial kenarlar ve fascia aracılığı ile cervix uteriye tutunur. Böylece uterusun aşağı yönde yer değiştirmesinin önüne geçilir.²³

Uterusun bulunduğu yerde sabit kalmasını sağlayan en önemli ligamentlerden biri lig. transversum cervicalis (lig. cardinale, Mackenrodt bağı) dir. Vajinanın üst bölümleri ile cervix uterinin alt bölümlerinin ön ve arka yüzlerini bağ dokusu lifleri kaplar. Bu lifler lig. latum uterinin pelvis tabanına tutunmuş olan bölümünde uzanırlar. Daha sonra organların yan kenarlarında birleşirler ve yelpaze gibi yayılarak pelvisin yan duvarlarına ulaşırlar. Burada m. levator ani, m.piriformis ve m. coccygeus fascialarına tutunurlar ve sonlanırlar. Bu tutunma bölgesinde oluşan çizgiye arcus tendineus fascie pelvis adı verilir. A. vaginalis bu bağa yakın olarak komşudur ve bağı oldukça güçlendirir. Lig. transversum cervicisin ön tarafa doğru uzanan lifleri lig. pubovesicale ile arka tarafa doğru uzanan lifleri ise lig. sacrocervicalis ile birleşir.^{23, 24}

Lig. pubocervicalis, iki adet şerit biçiminde olan bağıdır. Pubis'in arka yüzünü cervix uteri ile bağlar, yan kısımlarındaki mesaneye ise lig. pubovesicalis ile tutunur.²³

Lig. sacrocervicalis, lig. transversum cervicisin arka bölümünün devamında gelir ve cervix uteriye sacruma bağlar. Fibromüsküler yapıdadır. Bu bağı oluşumuna katılan düz kas liflerine m. rectouterinus denir.²³

Lig. latum uteri, uterus ve pelvisin yan duvarları arasında bulunan iki yapraktan oluşan peritona denir. Tuba uterinalar bu yaprakların serbest olan üst kısmında bulunurlar. Pelvis tabanına tutunmuş olan bu yaprakların biri öne, biri arkaya uzanır. Uterusun en geniş ligamenti lig. latum uteridir. Bu geniş ligamentte parametrium, a.

uterina, tuba uterina, epoophoron ve paroophoron, ovaryum, lig. teres uteri (lig. rotundum), lig. ovarii proprium ve üreter yapıları bulunur.²³

Lig. teres uteri (lig. rotundum), gubernaculumun kalıntısı olan, 10-12 cm uzunluğunda, yassı şekilli bir bağıdır. Tuba uterinin uterusla bağlandığı kısmın aşağı ve ön tarafında başlar, lig. latum uterinin içinde, pelvisin yan duvarlarına ulaşır. İnguinal kanaldan geçer ve labiyum mayusların üzerinde yelpaze gibi açılır ve sonlanır. Uterusun bulunduğu bölgede tutunmasını kolaylaştıran bir işleve sahip değildir.^{23, 31}

Lig. sakrouterina, pelvisin arka duvarına serviksin arka yüzünden geçerek giden, içeriği düz kas ve fibröz bağ doku olan ve çok güçlü olmayan bir çift ligamenttir.^{31, 32} Lig. ovarii proprium, yanlarda bulunan, uterusu ovaryuma bağlayan ligamenttir.³¹

Uterusun normal pozisyonunda yerinde durmasına, bu bahsedilen ligamentler dışında, perineyi meydana getiren destek dokuları ve karın içi negatif basınç da destek olur. Uterusun konumunu korumasını sağlayan bu yapılardan birinde veya birkaç tanesinde sorun ortaya çıkarsa, uterusun konum değiştirmesi muhtemeldir.³¹

A. iliaca internanın dalı olan a. uterina ve abdominalis aortaenin dalı olan a. ovarica uterusun arteriyal beslenmesinde görevli olan en önemli damarlardır. A. uterina, lig. latum uterinin taban kısmında iç-yana doğru uzanır ve üreterin üstünden dik açı ile çapraz şekilde geçer. Böylece cervix uteriye ulaşır. Daha sonra lig. latum uteri içinde seyrederek, uterusun yan tarafından yükselir ve a. ovaricanın terminal uçları ile anastomozlaşır. Böylelikle anastomoz bölgesinden uzanan dalları ile uterusun beslenmesini sağlar.^{23, 26}

Uterus venleri kalın yapıdadırlar ve uterus arterlerini seyrederek lig. uteri içine varırlar. Bu venler cervix uterinin yanlarında plexus venosus uterinus isimli yapıyı oluştururlar. Bu ağdan ayrılan venler, vena iliaca internaya açılırlar. Bu venöz ağlar uterusu ait yapılardır ve ovaryuma ait olan venöz ağlar ile anastomoz oluştururlar.^{23, 26, 32}

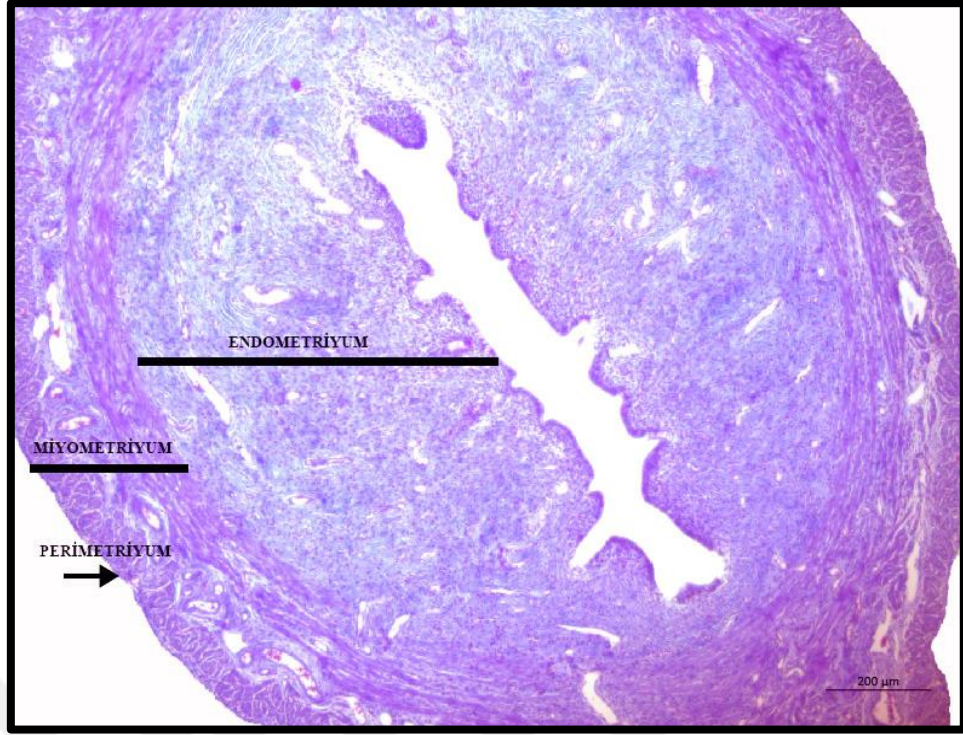
Uterusun lenfoid dolaşımı üç yol ile olur. Fundus uteriden kaynaklanan çoğu lenf damarı, ovaryuma ait lenf damarları ile birlikte birinci lumbal vertebra hizasındaki nodi lymphatici aorticiye açılır. Corpus uterinin lenf damarları lig. teres uteri ile seyrederek ve nodi lymphatici inguinales superficialesine açılırlar. Cervix uterinin lenf damarları ise nodi lymphatici sacrales ve nodi lymphatici iliaci interniye bağlanırlar.^{23, 26}

Uterusu innerve eden sinirler, plexus uterovaginalisin ön ve orta bölümlerinden ve plexus hypogastricustan kaynaklanırlar. Sempatik, parasempatik ve visseral afferent lifleri bulunduran yapı plexus uterovaginalistir. Bu plexus yapısı, plexus hypogastricus inferiordan kaynaklanarak pelvisteki organlara ulaşır. Sempatik lifler, bahsedilen bu pleksuslardan (T11-12 ve L1 segmentleri) gelirler. Parasempatik lifler nn. Splanchnici pelviciden (S2-4 spinal segmentler) kaynaklanırlar. Plexus uterovaginalis liflerinin çoğunluğu vasomotor etkilidirler. Plexus hypogastricus inferiorda bulunan sempatik liflerin yanında seyreden afferent lifler yukarı doğru çıkarlar ve 10.-11. torakal, 1. lumbal segmentlerden geçerek medulla spinalise ulaşırlar.²³

2.1.2. Uterus Histolojisi

Uterus, duvarı oldukça kalın olan bir organdır ve dıştan içe doğru üç tabakadan meydana gelmiştir.

- Perimetrium (Tunika serosa)
- Miyometrium (Tunika muskularis)
- Endometrium (Tunika mukoza)³³ (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. Uterus dokusunun histolojik görüntüsü

2.1.2.1. Perimetrium

Peritonun visseral yaprağından meydana gelen ve uterusu en dıştan çevreleyen tabakadır. Perimetriumun yapısında tek katlı yassı epitel (mezotel) ve en içte yer alan ince gevşek bağ doku bulunur. Devamında uterusun arka yüzünü bütünüyle kaplayan pelvik ve abdominal periton yer alır. Ön yüzü örten yapı ise bağ doku tabakası olan tunika adventisyadır.^{34, 35}

2.1.2.2. Miyometriyum

Bağ dokusu ile sınırlandırılmış düz kas demetlerinden meydana gelir ve yaklaşık 12-15 mm eni ile uterusun en kalın tabakasıdır. Düz kas demetleri de sınırları net olmayan üç tabakadan meydana gelir. İç ve dış kas tabakalarında uzunlamasına veya eğik (oblik) düzenlenmiş olan kas lifleri bulunur. Ortadaki kas tabakasında ise enlemesine dizilmiş olan kas lifleri içerir ve aralarında bulunan bağ dokusunda bol miktarda büyük kan damarları vardır. Bu orta tabaka arkuat arter ve venleri içerir, bu sebeple vasküler (damarlı) tabaka olarak da isimlendirilir.³⁴⁻³⁷

Uterus, serviks yönüne doğru gittikçe daralır, kas tabakası incelir ve yerine fibröz bağ dokusu geçer. Bu katmanı kollajen ve elastik lifleri bol miktarda içeren gevşek bir bağ dokusu sarar. Düz kas hücreleri az miktarda bulunur ve düzensiz yerleşim gösterirler.³⁷

Miyometriyumun kas hücrelerinin boyutları ve salgıları östrojen hormonu ile yakından ilişkilidir. Gebelik sürecinde uterus oldukça genişler ve miyometriyumdaki düz kas hücrelerinin hiperplazi (düz kas hücrelerinin sayılarının artması) ve hipertrofi (hücrenin boyut olarak büyümesi) göstermesi sonucunda büyür. Bağ dokusu miktarı da artar. Bu düz kas hücreleri protein salgılayan hücre özelliğindedir. Gebelik esnasında miyometriyumun daha güçlü olması için uterustaki kollajen miktarı artar. Östrojen hormonu seviyesindeki düşüklükle ilgili olan menstruel evrenin sonunda düz kas hücreleri küçülür. Östrojen hormonu sentezi durduğunda ise bazı hücreler apoptoza uğrar ve miyometriyumda kas atrofisi şekillenir.^{34, 37}

Gebeliğin sonunda, miyometriyum hemen hemen eski boyutlarına döner. Ancak uterus boşluğu daha çoktur ve miyometriyum gebelik öncesine kıyasla daha kalındır. Hormonlar nedeniyle uterus düz kaslarında farklılıklar oluşur. Relaksin ovaryum ve plasentadan salgılanan bir peptit hormonudur. Bu hormon gebelik sırasında miyometriyal kasılmaları düzenler. Gebelik esnasındaki kasılmaları düzenleyen diğer hormonlar da, kortikotropik hormon etkisi ile fetal membran ve miyometriyumdan salınan prostaglandinler ile nörohipofizden salınan peptit hormonu oksitosindir. Kasılmalar sırasında, miyometriyumun üç kas tabakası koordine olarak çalışır ve uterusun lümen içeriği serviks ve vajinanın ağzından dışarıya verilir. Doğum sonrasında plasentanın ayrıldığı kısımda oluşabilecek aşırı kanamayı engellemek amacıyla, oksitosin hormonu uterus kasılmalarını uyarmaya devam eder. Uterus büyük çoğunlukla gebelik öncesi haline geri döner. Kas hücreleri büzülerek küçülür, kas fibrilleri dejenerasyona uğrar ve

büyük kısmı apoptoza gider. Gebelik esnasında üretilen kollajen de kollajeni salgılayan hücreler tarafından enzimatik yol ile yıkılır.^{34, 36, 37}

2.1.2.3. Endometriyum

Endometriyum, uterusun en içteki tabakasıdır. Epitel ve epitelin altındaki lamina propriadan (endometriyal stroma) meydana gelir. Epitel tek katlı prizmatik epitel şeklindedir ve salgı yapan mikrovilluslu hücreler ile silyalı hücrelerden oluşur. Lamina propriadaki basit dallı tübüler yapıdaki uterus bezleri, yüzey epitel hücrelerinin alt tabakaya doğru uzanması ile meydana gelir. Yüzey epiteline benzerdirler ancak az miktarda silyalı hücre de bulundurlar. Bu bezler, gebeliğin gelişimi ve devamı için çok önemli olan maddelerin sentezi ve taşınmasında hayati önem arz ederler. Bununla beraber, plasental gelişimin düzenlenmesine de katkı sağlarlar.^{34, 36, 38, 39}

Lamina propria düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır. Bu bağ dokusu yapısı esas madde bakımından oldukça zengindir, çok miktarda hücre içerir. Yoğun olarak fibroblast ve ağ yapısında retiküler lifler bulundurur. Lifler arasında bol miktarda lenfositler, granüler lökositler ve makrofajlar bulunur. Gebelikte büyüyen fibroblastlar, desidual hücre olarak adlandırılırlar ve sitoplazmalarında yağ damlacıkları, vakuoller ve glikojen içerirler. Bu hücreler bir veya iki çekirdeklidirler.³⁴

Endometriyum işlevsel olarak iki bölüme sahiptir. Bu bölümlerin her biri kendi kan kaynaklarından beslenir. Lamina proprianın ve uterus bezlerinin son kısımlarını içeren, sıkı fibröz bağ dokusu yapısında olan ve miyometriyuma komşu olan 1/3 derin kısma stratum bazale (bazal tabaka) adı verilir. Bu tabaka menstruasyon esnasında dökülmez ama menstruasyondan sonra endometriyumun yenilenmesini sağlar. Arkuat arterlerin kısa, düz dalları ile beslenmesi sağlanır. Endometriyumun 2/3 üst bölümü stratum fonksiyonale endometriale (fonksiyonel tabaka)'dır. Bu tabaka bezlerin boyun ve gövde kısımları ile yüzey epiteli ve lamina propriayı içerir. Menstrual döngü bu tabakada

şekillenir. Fonksiyonel tabakanın beslenmesi arkuat arterlerden dallanan ve anastomozlaşarak zengin bir kapiller yatak oluşturan spiral arterler ile sağlanır. Menstruasyon esnasında dökülen kısım fonksiyonel tabakadır. Bu tabaka stratum compactum endometriale (kompakt tabaka) ve stratum spongiosum endometriale (süngerimsi tabaka) olmak üzere iki bölüme ayrılır. Üst 2/3 kısmı bezlerin daralmış ve kapalı haldeki boyun bölgelerini bulundurur. Bu bölüm sıkı bir yapıdadır ve kompakt tabaka olarak adlandırılır. Alt 1/3 kısmı ise bezlerin gövde kısımlarının bulunduğu ve bazal tabakaya komşuluk eden süngerimsi tabakadır.^{34, 37}

Endometriyum, yeni doğanlarda genellikle proliferasyon evresindeki görünümüne sahiptir. Pubertede endometriyum tek katlı kübik epitelle döşelidir. Epitel hücrelerinin boyları kısadır ve hücreler ince bir stroma ile desteklenirler. Stromaya doğru çöküntü yapan az sayıda tübüler bezler vardır. Doğurganlık evresinde ise stromal hücreler, epitel hücreler ve damarlar hızla çoğalırlar. Menstrual evre esnasında endometriyumun uğradığı yapısal farklılıklar vardır. Bu farklılıklar hipofiz bezinin ön lobunun uyarısı ile ovaryumlardan östrojen ve progesteron hormonlarının sentezlenmesi ile meydana gelir.³⁵

Puberte döneminde gebe olmayan kadınlarda, her 28 günde bir endometriyum, ovaryal döngüye bağlı olarak, farklılık gösterir. Bu dönem menstrual veya uterinal döngü olarak adlandırılır. Menstrual evre başlangıcı genellikle 12-15 yaşlarıdır. Ortalama 45-50 yaşlara kadar devam eder. Menstrual kanama 3-4 gün sürer. Bu olaylar, ovaryumda oosit üretimi ile bağlantılı olarak gerçekleşir ve dişi menstruasyon gördüğü sürece doğurganlığı devam eder.^{34, 37}

Menstrual siklus art arda gerçekleşen üç evreden oluşur:⁴⁰

Proliferasyon (foliküler) fazı: Menstruasyondan sonraki 5. ile 14. günler arasında görülen evredir. Yani menstruasyon ve ovulasyon arasında meydana gelir. Ovaryumdaki foliküllerde östrojen hormonu salgılanan bu dönemde endometriyumun bazal tabakası

yenilenir. Bazal tabakadaki epitel hücreleri, damar endotelleri ve stromal hücreler hızlı bir şekilde çoğalırlar. Menstruasyonda dökülen bezler ve yüzeydeki epitel ise yeniden oluşur. Lamina propriadaki bağ dokusu hücreleri mitoz bölünme ile çoğalırlar, temel madde ve kollajen salgırlar. Salgı bezleri tek katlı prizmatik epitel ile döşelidirler ve düz, dar, tübüler biçimdedirler. Bu bezlerin salgı hücreleri glikojen sentezler ve depo ederler. Spiral arterler menstruasyondan sonra kısalırlar ve çok kıvrıntılı değildirler. Bu arterler yüzeye doğru uzanmış şekildedirler ama epitelin altına kadar gelmezler. Endometriyumun işlevsel bölümünün yenilenmesi tamamlandığında kalınlığı 2-3 mm'ye kadar ulaşır. Özetle proliferatif evre menstruasyon sırasında dökülen epitelin yenilenme evresidir.^{34, 36}

Sekresyon (luteal) fazı: Ovulasyon gerçekleşikten sonra oluşan korpus luteumdan salgılanan progesteron hormonunun etkisi ile başlayan bu evre menstrual siklusun 28. gününe kadar sürer. Proliferasyon fazında bir miktar büyüyen bezler bu evrede progesteron hormonu etkisi ile daha da büyürler ve gövde kısımları çok kıvrımlı hale gelir. Spiral arterler de 22. günde yüzeye kadar uzanmış ve oldukça kıvrıntılı hale gelmişlerdir. Glikoprotein salgı ürünleri oluşarak bez lümenlerine birikir ve bezlerin lümenleri genişler. Bu glikoprotein salgıları, döllenme olması halinde embriyoya besin kaynağı olurlar. Stromadaki ödem ve salgı birikimleriyle endometriyum kalınlaşmaya devam eder ve 5-6 mm olan en yüksek kalınlığına ulaşır. Bu evrede uterus zigotun tutunabilmesi için hazırlanır ve mitoz bölünme nadir olarak görülür.³⁶

Eğer gebelik şekillenmezse bu evrenin bitiminde menstruasyon fazı başlar. Döllenme gerçekleştiğinde, östrojen ve progesteron hormonlarının etkileriyle endometriyumun lamina propriasındaki hücreler büyür ve desidual hücrelere farklılaşırlar. Desidual hücreler artan progesteron miktarına cevaben glikojen ve lipid depo eden hücrelerdir. Bu hücreler histolojik olarak yuvarlak, büyük, soluk ve glikojen

içeriği bol hücrelerdir. Çekirdekleri ökromatik yapılıdır. Golgi kompleksi geniş ve mitokondrileri küçüktür. Veziküller ve salgı granülleri içerirler ve çok miktarda serbest ribozomları vardır. Desidual hücreler embriyonun beslenmesi için elverişli bir ortam hazırladıkları gibi gebelik sonlandığında da plasentanın uterustan ayrılmasını kolaylaştırıcı bir katman meydana getirirler. Gerçekleşen bütün bu endometriyal farklılaşmalara desidual reaksiyon denir.^{34, 36, 37}

Menstruasyon (kanama) fazı: Döllenme gerçekleşmezse eğer korpus luteum geriler ve işlevi 14. günün sonunda biter. Östrojen ve progesteron seviyeleri dolaşımda hızla azalır ve menstruasyon fazı başlar. Bu safha siklusun 1.-4. günlerinde şekillenir. Progesteronun azalmasına bağlı olarak spiral arterler kasılıp gevşemeye başlarlar. Endometriyumdaki bezlerin salgıları azalır ve stroma daha yoğun hale gelir. Stromadaki yoğunlaşma ile beraber lökosit sayıları artar. Sürekli kasılmakta olan spiral arterler nedeni ile fonksiyonel tabaka oksijenlenemez. Böylece fonksiyonel tabakada nekroz odakları oluşur ve bu odaklar birleşirler. Spiral arter duvarlarında sırası ile spazm ve nekroz gelişir. Sonuçta leke şeklinde kanamalar meydana gelir ve bunlar da birleşerek kanamayı başlatırlar. Kanamanın şekillenmesi ile siklusun birinci günü başlamış olur. Bu kanama ile uterustaki sıvı, fonksiyonel tabakadan dökülen epitel ve stromal hücreler de atılırlar. Bu süreç bazal tabaka kalana kadar devam eder. Bu fazda kanın pıhtılaşması önlenir.³⁷

Menstruasyon evresinin bitiminde endometriyumun bazal tabakası kalır. Bazal tabaka endometriyal bezlerin bazal kısımlarını içeren tabakadır. Bazal tabaka düz arterler ile beslendiği için canlılığını devam ettirebilir. Endometriyumdaki bazal hücreler bir katman haline gelir ve bölünüp mukozayı tekrar oluştururlar. Bezlerin taban bölümleri hızlıca çoğalırlar ve bezleri yeniden oluştururlar. Çoğalan bağ dokusu bezlerin arasındaki boşlukları doldurur. Böylelikle endometriyumun fonksiyonel tabakası yenilenir ve

endometriyum yeni menstrual siklusa hazırlanmış olur. Bu evreye yenilenme (rejenerasyon) evresi adı verilir.³⁶

Menstruasyon evresinde ortalama olarak 35-50 mL kan kaybı ve 35 mL seröz sıvı kaybı meydana gelir. Ancak bu miktarlar kişilere ve zamana göre değişkenlik gösterir.^{34,}

36, 37, 41

Sıçanlarda ise ortalama puberteye ulaşma yaşı 8-10 haftadır ve östrus siklusu 4-5 gün sürer.⁴² Östrus siklusu proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evrelerini içermektedir. Proöstrus ve östrus evresi arasında lüteinleştirici hormon (LH) pik yapar ve ovulasyon meydana gelir. Uterus yüzey epitelinde proliferasyon oluşmaz ama hücrelerin boyu artar ve bu nedenle kalınlaşma meydana gelir. Epitelde yer yer yalancı çok katlı epitel de görülebilir.^{43, 44} Uterus boşluğu da genişler ve sıvı artışı meydana gelir. Uterus yüzey epitelindeki bu farklılıklar sayesinde blastokist implantasyonunun gerçekleşmesi sağlanır.^{44, 45} Aynı zamanda sıçanlarda sitolojik inceleme (vajinal yayma ya da yıkama) ile siklus evreleri belirlenebilir. Östrus evresindeki sıçanlarda çekirdeksiz kornifiye hücreler görülür.^{44, 46-48}

2.1.3. Uterus Fizyolojisi

Dişi üreme fonksiyonları beş hormonun etkisi altındadır:

Hipotalamustan salınan hipotalamik serbestleştirici veya gonadotropik salgılatıcı hormon (GnRH),^{41, 49} GnRH'a cevap olarak hipofizin ön lobunda bulunan gonadotrop hücrelerce salınan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve LH,^{41, 49} ovaryumdan foliküller ve korpus luteum tarafından salınan steroid yapıdaki östrojen ve progesteron hormonları.^{41,}

49

Bu hormonların miktarları ve salınım hızları genital döngü boyunca değişkenlik gösterir. Menstruasyondan sonra, ovaryum folikülleri ve korpus luteumun gelişimi için gereken süre bu üç hormonun geri bildirimlerinin etkisi altında belirlenir.⁴¹

Endometriyum her 28 günde bir tekrarlanan ve üç basamaktan oluşan bu döngüsel süreci, ovaryumdan salınan hormonların üretim ve etkileşimi ile gerçekleştirir.⁴¹

Hipotalamus, üreme sistemi üstündeki etkisini, salgıladığı gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH) ile denetim altında tutar. Bu hormonun sentezlenmesi bazal hipotalamus boyunca bulunan sinir ağları ve nörotransmitter maddelerin etkileri ile meydana gelir. GnRH asıl etkisini, hipofiz ön lobuna gelerek ortaya çıkarır. Çünkü menstrual fonksiyon için gereken anatomik bağlantı buradadır. Buradaki yeterli düzeyde reseptör içeren gonadotrop hücreler GnRH uyarısına yanıt olarak, FSH ve LH hormonlarını salgırlar. Dolaşıma geçen bu hormonlar ovaryumlara etki ederler. Ovaryumlardan sentezlenen ve salgılanan gonadal steroidlerin (progesteron ve östrojen) geri bildirimleri sayesinde de FSH ve LH sentezleri düzenlenir.^{41, 49}

Primer foliküller her menstrual siklus başlangıcında ovaryumlarda gelişirler ve FSH, LH hormonlarına cevaben granüloza hücrelerinden bol miktarda östrojen salgırlar. Bu sayede hipofiz bezinden salgılanan hormonların salınımları baskılanır. Siklusun 12.-13. günlerinde östrojen seviyesi oldukça yüksektir ve pozitif geri bildirim sonucu LH salınımı artar. Ovulasyondan yaklaşık 18 saat önce FSH ve LH'nin ani artışı ovulasyonun gerçekleşmesine ve devamında korpus luteumun oluşmasına neden olur. Ovulasyondan sonra oluşan korpus luteum progesteron salgılamaya başlar.⁵⁰

Östrojen, progesteron ve korpus luteumdan sentezlenen inhibin hormonu FSH ve LH hormonları üzerinde baskılayıcı etki sergilerler. Menstruasyondan birkaç gün önce LH seviyesi oldukça düşer ve korpus luteum dejenerasyona uğramaya başlar. Östrojen ve progesteron hormonlarının plazma seviyesi düşer. Bu sayede FSH, LH ve GnRH üstündeki baskı kalkar ve büyümeye başlayan foliküller belirir, böylece yeni döngü başlar.^{41, 49, 51}

Ovaryum foliküllerinde bulunan granuloza ve teka interna hücrelerinden, korpus luteumdan ve gebelik esnasında plasenta'dan salgılanan östrojen hormonu uterusu endometriyal proliferasyon için uyarır. Aynı zamanda, uterusun kan akımını hızlandırır, uterus kaslarını ve kasılma proteinlerini çoğaltır. Bu sayede kaslar daha kolay uyarılabilir ve uterus oksitosin hormonuna daha duyarlı hale gelir.^{41, 52, 53}

Endometriyumda gebelikten önceki dönemde meydana gelen değişikliklerden, serviks ile vajinadaki döngüsel farklılıklardan sorumlu olan hormon, plasenta, korpus luteum ve ovaryum foliküllerinden kaynaklanan progesterondur. Progesteron plasentadan gebelik esnasında ve özellikle gebeliğin 4. ayından sonra salgılanır. Başlıca uterusu hedef alan bu hormon, gebelikten önce endometriyum, serviks ve vajinadaki döngüsel olarak şekillenen değişikliklerden sorumludur. Östrojenin etkisine zıt etkide bir hormondur ve miyometriyum hücrelerinin uyarılabilirliğini, oksitosin hormonuna olan hassaslıklarını ve meydana gelen elektriksel zar potansiyelini düşürür. Uterus üzerindeki etkilerini, endometriyumda bulunan östrojen reseptörlerinin miktarlarını azaltarak gerçekleştirir.⁵⁴

Relaksin hormonu, korpus luteumdan salgılanan polipeptid yapılı bir hormondur. Gebelik sırasında simfisis pubis ve pelvisin diğer eklemlerini gevşetir. Uterus kasılmalarını baskılar, serviksi genişletir ve böylece doğumu kolaylaştırır. Gebeliğin olmadığı kadınlarda, menstrual döngünün sekretuar evresinde korpus luteumdan ve endometriyumdan salgılanır ancak görevi tam olarak anlaşılamamıştır.^{52, 55}

Serviks, uterusun devamında bulunur ancak bazı yönleri ile farklılıklar içerir. Servikal kanalda mukus üreten hücreler bulunur ve döngüsel değişimlere uyumlu olarak mukus salgırlar. Bu salgı düzenli olarak üretilir ve serviks mukozasında her zaman dökülme gözlenmez. Östrojen, mukusa ince ve bazik bir yapı kazandırır. Böylece spermiyumun yaşaması ve taşınmasına elverişli bir ortam oluşur. Progesteron hormonu ise bu mukus yapısını daha kalın, yapışkan ve hücre içeren bir yapıya dönüştürür.

Ovulasyon esnasında oldukça ince yapıda olan mukus, ovulasyondan sonra ve gebelik devam ederken kalın bir yapıdadır.^{52, 54, 56}

Gebelik şekillendiğinde, plasental insan koryonik gonadotropin hormonu (hCG), LH hormonu gibi korpus luteumu uyarır ve progesteron hormonu salgılatır. Böylece korpus luteum sekretuar endometriyuma destek olarak gebeliğin devamlılığı için çalışır.⁵³

Eğer gebelik şekillenmezse endometriyumun yapısı inceler ve korpus luteumdan kaynaklanan hormon desteği sona erer. Spiral arterlerin kıvrımları artar ve endometriyumda şekillenen nekroz odakları birleşirler. Spiral arterlerin duvarlarında sırasıyla spazm ve nekroz oluşur. Bunun sonucunda menstruasyon kanaması meydana gelir.⁵⁵

2.2. Tiroid Bezi

2.2.1. Tiroid Bezinin Anatomisi

Endokrin bir organ olan tiroid, boyun bölgesinde, trakeanın anteriorunda, suprasternal çentik ve krikoid kıkırdak arasında bulunur ve bir isthmus ile birbirine bağlanan iki lobtan ibarettir. Ortalama 20-30 g ağırlığında olan tiroid bezi endokrin bezlerin en büyüğüdür. Kadınlarda biraz daha büyük olan bu bez menstruasyon ve gebelik dönemlerinde fizyolojik olarak büyür. Tiroid bezinin iki yanının posteriorunda ise paratiroid bezler yerleşmiştir.⁵⁷⁻⁵⁹

Tiroid bezi, rodentlerde insanlarda olduğu gibi bir isthmus ile birbirine bağlanan sağ ve sol loblardan oluşur. Trakeanın her iki yanında anteriorda ve larinksin sonunda yerleşim gösterir.⁶⁰

2.2.2. Tiroid Bezinin Histolojisi

Tiroid bezi, dışarıdan bir kapsülle çevrilidir. Bu kapsül servikal fasiyadan uzanan ince ve düzensiz kollajen liflerden oluşan bağ dokusu yapısındadır. En dış kısımdan saran bu kapsülün altında tiroid bezine bitişik olarak bulunan bezin asıl kapsülü vardır.^{34, 40} Bu

asıl kapsül gevşek bağ dokusu yapısındadır ve bezin iç kısımlarına doğru uzanarak trabekülleri oluşturur. Bu sayede bez düzensiz loblara ayrılır.⁶¹ Bu trabeküller aynı zamanda damarların ve sinirlerin geçiş yerleridir ve beze fiziksel destek de sağlar.³⁴

Bezin yapısal ve fonksiyonel birimleri folliküllerdir. Bu follikülleri sınırlandıran bazal lamina üzerine tek sıra halinde dizilmiş kübik epitel hücreleri follikül yapısını oluşturur.³⁴ Tiroid folliküllerinin içi kolloid ile doludur. Bu jelatinöz madde TSH etkisi ile tiroid epitel hücrelerinden salgılanır. Kolloid tiroid bezinin salgısının depolanmış halidir.^{40, 62}

Tiroid follikülleri iki çeşit hücreden meydana gelir. Bu hücreler folliküler hücreler ve parafolliküler hücrelerdir. Folliküler hücreler TSH'ın etkisi altındadır ve tiroid hormonlarının yapımı ile salınımında görevlidir. Parafolliküler hücreler ise kalsiyum metabolizmasını düzenleyen kalsitonin hormonunu salgırlarlar.⁴⁰

2.2.3. Tiroid Bezinin Fizyolojisi

Tiroid bezi, vücut homeostazı için son derece önemli olan 3 hormon üretir:^{57, 63, 64}

- 1- Triiodotironin (T3)
- 2- Tetraiodotironin (Tiroksin, T4)
- 3- Kalsitonin (Tirokalsitonin)

Triiodotironin ve tiroksin follikül hücreleri tarafından sentezlenir ve salınır.

Folliküllerin lümenlerinde depo edilen kolloidin ana bileşeni 120 tirozin aminoasidi içeren iyotlu bir glikoprotein olan tiroglobulindir.⁴¹ Tirozin aminoasitleri, tiroglobulin içinde iyotla birleşir. Tiroglobulin, tiroid hormonlarının aktif olmayan depo şeklidir.⁶⁴ Tiroglobulinin hidrolize olması ile serbestleşen aktif tiroid hormonları follikül lümeninden fenestralı kapiller damarlar ile kana geçer.⁴¹

Kalsitonin hormonu ise parafolliküler hücrelerce sentezlenir ve osteoid kalsifikasyonunu artırıp kan kalsiyum düzeyini düşürmekle sorumludur.⁵⁸

Tiroid hormonlarının sentezi, follikül hücrelerinde bulunan TSH reseptörlerine TSH'nin bağlanması ile başlar. Uyarılan follikül hücreleri siklik adenosin monofosfat (cAMP) sentezini artırır ve iyot alınımla hormon üretimini başlatır.^{58, 64} Tiroid hormonlarının sentezi ve salgılanması 6 aşamada olur:

- 1- Tiroglobulinin sentezlenmesi
- 2- İyotun tutulması ve iyodidin oksidasyonu
- 3- Tiroglobulinin iyotlanması
- 4- T₃ ve T₄'ün oluşumu
- 5- Kolloidin emilimi
- 6- T₄ ve T₃'ün dolaşıma salınması^{36, 37, 57, 65}

Dolaşıma katılan bu hormonların yaklaşık %70'i plazma proteinlerine, özellikle tiroksin bağlayıcı globüline (TGB) bağlanır. %25'i ise tiroksin bağlayıcı pre-albümine (TBPA) veya albümine bağlanır. Kalan %5'lik bölüm ise metabolik olarak aktif kalır.⁶⁴

2.2.4. Hipotalamo-Hipofizer-Tiroid Aksı

Tiroid fonksiyonlarını kontrol altında tutan başlıca etken hipotalamustan salgılanan tiroid salgılatıcı hormon (TRH) ve bu hormona yanıt olarak adenohipofizden salgılanan TSH'tır.^{36, 37, 64} Hipotalamustaki hücrelerce salgılanan TRH, hipotalamo-hipofizyal portal sistem ile ön hipofize taşınır ve hipofiz ön lobundan TSH salgılanır. Ön hipofizde bulunan hücrelerin TRH'a cevap vermesi, triiodotironin ve tiroksinin geribildiriminin kontrolündedir.^{36, 64} Dolaşımdaki tiroid hormonlarının düzeylerine bağlı olarak tirotrop hücrelerin TRH'a yanıt verme seviyeleri değişir.³⁶

2.2.5. Hipotiroidizm

Tiroid bezinden yeterli miktarda tiroid hormonu sentezlenememesi durumunda ortaya çıkan bir hastalıktır.⁴ Yetersiz iyot alımı ya da Hashimoto tiroiditi gibi otoimmün hastalıklar sebebi ile hipotiroidi hastalığı oluşabilir. Hashimoto tiroiditi tiroglobüline, tiroit

peroksidaza (TPO) ve TSH reseptörüne karşı normal olmayan otoimmünoglobülinlerin oluşması ile değerlendirilir. Bu hastalıkta bezin tahribi söz konusudur. Çünkü tiroid hücrelerinin apoptozu ve folliküler dejenerasyon mevcuttur. Tiroid hormonlarının dolaşımında düşük olması TSH üretimini tetikler ve tiroid bezinde fazla miktarda tiroglobülin sentezlenmesi ile hipertrofiye sebep olur.^{40, 41}

Hipotiroidizm primer, subklinik ve santral olmak üzere üç tipte tanımlanmaktadır ve bu tipler TSH, T4 seviyelerine göre belirlenir. Primer hipotiroidizmde TSH seviyesi yüksekken, serbest T4 (sT4) seviyesi düşük seyredir. Subklinik hipotiroidizmde TSH seviyesi yüksek iken normal sT4 seviyesi gözlenir. Bu hastalığın yaşı ilerlemesi ile görülme sıklığı artar ve kadınlarda daha çok görülür. Santral hipotiroidizm ise sekonder veya tersiyer olarak tanımlanır ve genellikle hipofiz (sekonder) veya hipotalamus (tersiyer) ile ilişkili patolojik durumlarda görülür. Düşük T4 seviyesi ile tanımlanır ve TSH seviyesi düşük, normal ya da yüksek olabilir.^{4, 66}

Hipotiroidizm en yaygın olarak görülen patolojik hormon eksikliğidir. Yapılan bir çalışmada bireylerin %4.6'sında yüksek TSH seviyeleri saptanmıştır. Bunun %0.3'ünü klinik hipotiroidi, %4.3'ünü ise subklinik hipotiroidi vakaları oluşturmaktadır.⁶⁷

Hipotiroidi hastalığı en yaygın olarak kronik otoimmün problemlerin (Haşimoto Hastalığı) sonucunda ortaya çıkar. Ardından en yaygın olarak rastlanan neden ise hipertiroidi hastalığının invaziv (cerrahi ya da nükleer) tedavisidir.

Hipotiroidinin sık karşılaşılan semptomları soğuk intoleransı, kuru cilt, ses kısıklığı, anemi, reflekslerde azalma, yorgunluk, kabızlık, kilo alma, saç dökülmesidir. Bunların yanında hipotiroidizm direkt olarak ovaryumları ve uterus endometriyumunu etkiler. Bu etki sonucunda ovaryumdan steroid sentezi azalır ve luteal faz yetmezliği de görülür.⁶⁸

2.3. İnfertilite

Bir yıl boyunca, herhangi bir korunma metodu kullanılmadığı ve düzenli cinsel ilişki yaşandığı halde gebeliğin oluşmaması durumu infertilite olarak adlandırılır.⁶⁹⁻⁷¹ Canlı doğum ile sonuçlansın veya sonuçlanmasın, gebelik hiç şekillenmezse primer infertilite, en az bir gebelik şekillenmiş ise sekonder infertilite olarak adlandırılır. İnfertilite oranı reproduktif çağıdaki çiftler arasında %10-15'tir ve yaşı ilerlemesi ile infertilite arasında doğru orantı olduğu saptanmıştır. Özellikle kadınlarda bu durum daha çarpıcıdır.^{72, 73}

Kadın ve erkeklerde ortak olarak 24 yaş, döllenmenin şekillenebilmesi için en elverişli yaş olarak kabul edilir. Ortalama olarak 30 yaşında olan bir kadın 6 ay içinde hamile kalabilirken, 40 yaşın üstündeki bir kadının 1 yıl içinde hamile kalabilme şansı büyük oranda düşmektedir. Bunun nedeni 40 yaş üstünde menstrual siklusa görülen düzensizlikler, oosit kalitesindeki yetersizlikler ve endometriyum dokusunda meydana gelen problemlerdir.⁷⁴

Sağlık problemi olmayan çiftlerde gebeliğin 1 ay içinde şekillenme oranı %20-25 iken, 6 ay içinde bu oran %75 seviyelerine yükselmektedir. Bir yıllık zaman diliminde ise %90'lara çıkabilmektedir.⁷⁴

İnfertilite altında yatan sebepler toplumlar arasında değişkenlik göstermektedir. İnfertilite olgularının %40-50 oranında kadın kaynaklı, %30-40 oranında erkek kaynaklı olduğu saptanmıştır. Bu olguların %10-15'i ise nedeni bilinmeyen infertilite vakalarıdır.^{75, 76}

Cinsel olgunluktaki erkek popülasyonunun %6'sında üreme ile ilgili sorunlar görülmektedir. Bu patolojilerin %96'sını spermatogeneizde şekillenen aksaklıklar oluşturmaktadır. Ergin ve sağlıklı bir erkek bireyde günde 120 milyon kadar sperm üretilmektedir.⁷⁷ Erkek kaynaklı infertilite olguları sperm kalitesi ile doğrudan ilişkilidir

ve günümüzde ergin erkeklerdeki sperm kalitesinde düşüş olduğu bilinmektedir.⁷⁸ Erkek infertilitesi, genetik-epigenetik faktörler, kongenital veya kazanılmış ürogenital anomaliler, kanserler, ürogenital enfeksiyonlar, skrotal ısının yükselmesi, endokrin hastalıklar, immunolojik nedenler ve toksik etkilere gibi nedenlerle de oluşabilmektedir.⁷⁹ İnfertil erkek olgularının %15'inde kromozom veya tek gen mutasyonları tanımlanmaktadır.⁸⁰ Erkek infertilitesi olgularının %30'u ise idiopatik olarak şekillenmektedir.⁸¹

Nedeni bilinmeyen infertilite olgularında, çiftlere uygulanan standart tanı değerlendirme testlerinden sonuç alınma oranlarının düşük olduğu görülür.¹⁹ Bu tanıyı alan çiftlerin %15'i ilk bir yılda, %35'i ilk iki yılda bebek sahibi olabilmektedirler.⁸² Üç yıl içinde herhangi bir tedavi uygulanmayan çiftlerde ise bu oran %80'i bulmaktadır.⁸³

2.3.1. Kadın İnfertilitesi

Kadınlarda infertilite sebebi olarak bilinen birçok faktör vardır. Bunlar: %40 oranında ovulatuvar disfonksiyon, %40 oranında tubal ve pelvik patolojiler, %10 oranında açıklanamayan sebepler ve %10 oranında da sıklıkla gözlemlenmeyen sebeplerdir. Bu sıklıkla gözlemlenmeyen nedenler arasında uterus, serviks kaynaklı patolojiler, anatomik bozukluklar, enfeksiyöz hastalıklar ve endokrinolojik hastalıklar olduğu bilinmektedir.²

2.3.1.1. Endokrinolojik Hastalıklar ve Kadın İnfertilitesi

Ovaryumlar, vücuttaki diğer endokrin organlar ile devamlı olarak iletişim halindedir. Aynı şekilde uterusun da endokrin bir organ olduğu göz ardı edilemez. Ovulasyon ile uterusun gelişimi ve farklılaşmasında, Hipotalamus- Pitüiter- Over (HPO) aksının hatasız işleyişi arasında son derece önemli bir ilişki mevcuttur. Bununla birlikte böbrek üstü bezleri ve tiroid bezinin de hatasız çalışıyor olması reproduktif sistem için son derece önem arz eder. Bu ilişkiler göz önüne alındığında, kadında ortaya çıkan

endokrinolojik bir bozukluk fertilitiyi farklı şekillerde ve derecelerde olumsuz yönde etkileyebilecektir.⁵

Tüm endokrinolojik hastalıkların fertilitiyi olumsuz olarak etkilemesindeki temel faktörler ovulasyonun, korpus luteumun işlevinin ve implantasyonda çok önemli bir faktör olan endometriyal reseptivitenin azalmasıdır.⁵

İnfertiliteye neden olabilecek endokrinolojik hastalıklar Tablo 2.1’de özetlenmiştir.⁵

Tablo 2.1. İnfertiliteye neden olabilecek endokrinolojik hastalıklar

HPO aksına bağlı gelişen primer endokrinolojik hastalıklar	Diğer endokrinolojik hastalıklar
İdiopatik GnRH eksikliği veya reseptör duyarsızlığı	Aşırı egzersiz, stres, anoreksiya
Kalman sendromu	Akromegali
Hipotalamusun diğer hastalıkları (Travma, radyot tedavi v.b.)	Obezite
İdiopatik FSH veya LH eksikliği veya reseptör duyarsızlığı	Hipertiroidi
Hipofizinin diğer hastalıkları (Tümör, Sheehan sendromu v.b.)	Hipotiroidi
Prolaktinoma	Cushing sendromu
Polikistik over sendromu	Kongenital adrenal hiperplazi
Erken over yetmezliği	Addison hastalığı

2.3.1.2. Kadınlarda Hipotiroidinin İnfertilite ile İlişkisi

Tiroid patolojileri en sık rastlanan endokrinolojik hastalıkların başında gelir. Dünya çapında, iyot eksikliğine bağlı gelişen hipotiroidizm ve otoimmün tiroid hastalığı ile ilişkili hipotiroidizm en sık bildirilen tiroid bozukluklarıdır. Bu hastalıkların oranı reproduktif çağıdaki kadınlarda yaklaşık %10’dur.³

Hipotiroidi teşhisi alan hastalarda düşük SHBG (seks hormonu bağlayıcı globülin) düzeyleri ve sonuç olarak dolaşımdaki östrojen ve testosteron seviyelerinde düşme gözlemlenebilir. Hormonlardaki bu değişimler de adet düzensizliği ile sonuçlanabilir. Hipotiroidili hastalarda adet düzensizliği oranı %23 iken sağlıklı bireylerde adet

düzensizliği oranının %8 olduğu yapılan bir çalışmada bildirilmiştir.⁸⁴ Adet düzensizlikleri en çok oligomenore ve amenore olarak görülür ancak polimenore ve menoraji olarak da gözlenebilir.

Ayrıca primer hipotiroidi hastalarında TRH seviyelerinin artması aşırı düzeyde prolaktin salgılanmasına ve bu nedenle bozulan GnRH pulsatilitesi ile LH/FSH sekresyonunun bozulmasına neden olur. Bu durum da adet düzensizliklerine, anovulasyona ve infertiliteye yol açar.^{68, 85}

Gebelik sırasında da hipotiroidili kadınların %20-40'ı çeşitli komplikasyonlar yaşamaktadır. Bu komplikasyonlar implantasyon bölgesinin yeterli düzeyde kanlanamaması nedeniyle ya da yapısal anomalilere bağlı şekillenen abortuslar nedeniyle olabilmektedir.^{6, 86} Ayrıca hipotiroidizmin endometriyum kalınlığında artmaya, endometriyumda lipid granüllerinin oluşmasına, endometriyum epitelinde dejenerasyon ve vakuolizasyona, uterus bezlerinde büyümelere ve yapısal anormalliklere neden olduğunu, uterus moleküler anormallikler oluşturduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Oysa ki başarılı bir implantasyon için sağlıklı bir uterus dokusu şarttır.^{10, 87-90}

2.4. Endometriyal Reseptivite

Endometriyumun implantasyona en elverişli olduğu dönem endometriyal reseptivite olarak tanımlanır. İmplantasyon için son derece önemli olan bu reseptif dönemin şekillenmesi proliferatif endometriyumdan sekretuar endometriyuma geçişle ilişkilidir. Blastokist, endometriyumun morfolojik ve moleküler olarak değişikliğe uğradığı bu reseptif dönemde implante olabilir. Bu aşamada progesteron hormonunun varlığı da son derece önemlidir.²⁰

İmplantasyon döneminde sekresyon en üst düzeydedir ve endometriyum hücrelerinin glikojen, lipid içeriği artmıştır. Siklusun 21-22. günleri implantasyon dönemidir ve stromal ödem çok belirgindir. Bu ödem tablosuna prostaglandin ve vasküler

endotelial büyüme faktörü (VEGF) üretimine bağlı kapiller geçirgenlikteki artmanın neden olduğu düşünülmektedir.⁹¹

Endometriyum, ovulasyondan hemen hemen yedi gün sonra başlayıp en fazla iki gün süren luteal fazda blastokist implantasyonuna izin verir. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise implantasyonun döllenme oluştuktan sonraki 4. ve 5. günlerde gerçekleştiği gösterilmiştir. Endometriyal reseptivitenin oluşumu bu dönemin biyobelirteçleri olan peptitlerin ve proteinlerin varlığı ile kendini gösterir.^{15, 92}

Üreme tıbbı adına kaydedilen önemli gelişmelere rağmen, endometriyal reseptivitenin insan üremesindeki rolü hala tam olarak aydınlatılmış değildir. Özellikle IVF gebelik başarısızlıklarında en önemli etmen implantasyon aşamasındaki başarısızlıktır.^{14, 93} Endometriyal gelişmede çok sayıda protein ve molekül etkili olabilir. Ancak bunların implantasyondaki rolleri aynı zamanda da klinik kullanımdaki etkinlikleri yeterince bilinmemektedir. Bu bilgiler ışığında insan endometriyumunun fertilitede belirleyici bir etmen olduğu anlaşılabılır.⁹⁴

2.4.1. Endometriyal Reseptivite Belirteçleri

Endometriyum çok sayıda biyokimyasal faktör üreten ve vasküler yapısından dolayı değişen miktarlarda kanlanma gösteren karmaşık özellikleri olan bir dokudur.⁹⁵ Başarılı bir implantasyon için blastokist ve reseptif endometriyum arasında oluşan etkileşimlere ihtiyaç vardır. Blastokist sadece moleküler, morfolojik ve hormonal etkileşimlerin meydana geldiği bu reseptif dönemde implante olabilir.^{96, 97}

2.4.1.1. Endometriyal Reseptivitenin Morfolojik Belirteçleri

Endometriyum reseptif duruma gelebilmek için bazı morfolojik değişiklikler geçirir. Reseptivite olarak isimlendirilen bu dönem 48 saatten daha kısa bir zaman diliminde şekillenir. Bu dönemde endometriyal epitel hücrelerinin apikal yüzlerinde geniş ve düz şekilli uzantılar meydana gelir. Bu bir dizi farklılığın şekillendiği dönem

implantasyon penceresi adını alır.⁹⁸ Uterus lümenine doğru uzanan epitel hücrelerinin apikal yüzlerindeki mikrovilluslar kaybolur ve yerlerinde geniş, düz membran uzantıları şekillenir. Bu uzantılara 1973 yılında Ender ve Nelson tarafından, pinositoz özellikleri olduğu düşünülerek, “pinopod” (içen ayaklar) adı verilmiştir.⁹⁹ Daha sonraları da “uterine-dome” olarak isimlendirilmiştir.¹⁰⁰

Pinopodların fonksiyonları tam olarak anlaşılamamıştır. İçlerinde bulundurdıkları sekretuar veziküller ile embrioyu besledikleri ve blastokistin endometriyuma tutunmasını sağladıkları düşünülmektedir.¹⁰¹ Birçok çalışmada pinopodların endometriyal reseptivite için son derece önemli olduğu ve integrinler, LIF, HOXA10, L-selektin, GlyA (glikodelin A), Glrx (glutaredoksin), HB-EGF (heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü), MUC1 gibi biyolojik belirteçlerin pinopodlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir.¹⁰¹⁻¹⁰³

Yapılan bir çalışmada, endometriyal reseptivite gelişimi ile pinopod ekspresyonunun progesteron bağımlı olduğu, yüksek dozdaki östrojenin de pinopod formasyonu ve blastokist implantasyonunu engelleyeceği bildirilmiştir.¹⁰⁰ Ayrıca pinopod ekspresyonunun implantasyon penceresinin lokalizasyonunda ve endometriyal reseptivitenin belirlenmesinde çok önemli bir biyolojik belirteç olduğu düşünülmektedir.^{104, 105} Embriyo transferinden sonra pinopod sayısı ile implantasyon arasında bir ilişkinin mevcudiyeti de bildirilmiştir. Sonuç olarak implantasyon adına pinopodların varlığı spesifik bir belirteç olabilir.^{106, 107}

2.4.1.2. Endometriyal Reseptivitenin Moleküler Belirteçleri

2.4.1.2.1. Adezyon Molekülleri

Hücre adezyon molekülleri canlı organizmalarda hücre birlikteliğini sağlayan yapıştırıcı özellikteki moleküllerdir. Hücrelerin yüzeylerinde bulunan bu moleküller bazı uyarılar aracılığı ile hücre-matriks, hücre-hücre etkileşimlerinde görev alırlar.^{108, 109}

Organizmada büyüme, üreme, farklılaşma ve göç gibi hücrel olaylarda kontrolü sağlayarak hücreler arasında bağlantılar meydana getirirler.¹¹⁰ Bu moleküller kanser gelişmesi, morfogenez, endotel hasarı, enflamasyon ve embriyonal gelişme gibi pek çok süreçte görev alırlar.^{111, 112}

Adezyon molekülleri yapı ve fonksiyonlarına göre dört büyük kategoride sınıflandırılır: integrinler, kadherinler, selektinler, immünoglobulin (Ig) süper ailesi.^{109, 113, 114}

İntegrinler; kalsiyum bağımlı heterodimerik yapıda yüzey membran proteinleridir. İntraselüler ve ekstraselüler matrikslerin bütünleşmesinden sorumludurlar.¹¹⁵ Embriyonik gelişim aşamalarında hücre-hücre ve hücre-matriks yapışması olaylarında rol alırlar.¹¹⁶ Bunlar alfa (α) ve beta (β) olarak iki alt gruba ayrılırlar. İmplantasyon penceresinde aktif şekilde rol oynayan integrinler $\alpha1\beta1$, $\alpha4\beta1$, $\alpha v\beta1$, $\alpha v\beta3$, $\alpha v\beta5$, $\alpha3\beta1$, $\alpha6\beta1$ ve $\alpha4\beta3$ 'tür.¹¹⁷ Özellikle integrin $\alpha v\beta3$ endometriyal desidualizasyon ve embriyo implantasyonunda önemli role sahiptir.¹¹⁸ Aynı zamanda integrin $\alpha v\beta3$ 'ün pinopod varlığı ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir.¹¹⁹ İntegrin $\beta3$ 'te aynı şekilde pinopod varlığını gösteren belirteçlerden biridir.^{14, 15}

Kadherinler; kalsiyum bağımlı transmembran proteinleridir. Embriyonik gelişimde özgün adezyon moleküllerinin üretilmesinde, hücre göçünde ve doku diferansiyasyonunda rol alırlar. Aynı zamanda morfogenez ve farklılaşmada da görev almaktadırlar.¹²⁰ Bulundukları doku grubuna göre E-(epitelyal), P-(plasental), N-(nöral) kadherinler olarak üç gruba ayrılırlar.^{121, 122} E-kadherinlerin morula aşamasındaki embriyoda, blastomerler arasındaki ilişkilerin oluşması ve hücrel olarak bütünlüğün devamı için gerekli oldukları kanıtlanmıştır.¹²⁰

Selektinler; L-(lökosit), P-(trombosit) ve E-(endotelyal) selektinler olmak üzere içerdikleri hücre tipine göre üç gruba ayrılırlar.¹²³ Kalsiyum bağımlıdırlar ve

implantasyonda en etkin olan alt grubu L-selektinlerdir. Erken evredeki blastokistin endometriyal epitel ile ilişkisinde görevlidirler.^{14, 124, 125}

İmmünoglobulin (Ig) süper ailesi; sistemik ve nöral spesifik olarak iki bölüme ayrılmaktadır.¹⁰⁹ Bulundukları hücre tiplerine göre de sinirsel hücre adezyon molekülleri, vasküler adezyon molekülleri, hücreler arası adezyon molekülleri, lökosit fonksiyonlu adezyon molekülleri, L1-hücre adezyon molekülleri ve trombosit endotelyal hücre adezyon molekülleri olarak altı alt gruba ayrılırlar.¹¹² İmmünoglobulinler, endometriyal epitel hücrelerinden ve stromadan salınırlar ve patofizyoloji açısından önemlidirler.¹²¹ Bu ailenin üyeleri enflamasyon, immünite, homeostaz ve morfogenez sırasında hücrelerin tanınmalarında çok önemli bir rol üstlenirler.^{123, 126}

2.4.1.2.2. Anti-adezyon Molekülleri

Büyük glikozillenmiş moleküller olan musinler, endometriyal epiteldeki adeziv ligandları örterler ve hücre yüzeylerini enzimatik etkilerden korurlar. Hücreler arasındaki ilişkileri de engellerler. Ovaryan steroidlerin kontrolünde olan musinler, blastokisti endometriyal yüzeyden uzaklaştırırlar. MUC1 gibi moleküller trofoblastın invazyonuna karşı bariyer oluştururlar. Bu bariyer oluşumunu integrinlerin reseptör ligandlarına yönelmesine engel olarak sağlarlar. Fertilite üzerinde yapılan çalışmalarda MUC1 ekspresyonunun fertil ve infertil kadınlarda farklı seyrettiği kanıtlanmıştır.¹²⁷ MUC15 ve MUC16 da uterus luminal epitelinde bulunan diğer önemli anti-adeziv moleküllerdir.^{18,}

128

2.4.1.2.3. Sitokinler ve Büyüme Faktörleri

Polipeptit yapı gösteren bu moleküller farklı hücre tipleri tarafından üretilir ve salgılanırlar. Bağışıklık ve inflamatuvar yanıtı düzenlemede rol alırlar.

Monosit ve makrofajlarca üretilen interlökinler (IL) hücrelerin proliferasyonunda ve diferansiyasyonunda görev alırlar. IL-6, IL-8, TNF- α (Tümör Nekrozis Faktör Alfa),

LIF, COX-2 (Siklooksijenaz-2), PGF2 α (Prostaglandin F2 Alfa), MMP-1,9 (Matriks Metalloproteinaz-1,9) gibi çok sayıda molekülün endometriyumdan ekspresyonunu düzenler. Endometriyumdaki IL ekspresyonunda şekillenen değişiklikler infertilite ile bağlantılıdır.¹²⁹⁻¹³¹

LIF (Lösemi İnhibitör Faktör); blastokistin endometriyuma adezyonunda uyarıcı etkisi olan ve trofoblastların invazyonuna yardım eden bu moleküldür ve embriyonun sağlıklı gelişimi açısından çok önemlidir. İmplantasyon esnasında uterus bezlerinden çok yüksek konsantrasyonlarda salgılanır. İntegrinlerde olduğu gibi LIF ile pinopodların varlığı arasında da doğru orantı vardır.^{132, 133}

Bu kategoride bulunan diğer faktörlerden CSF (Koloni Stimüle Edici Faktör); blastokistin trofoektoderm hücrelerinin sayısında artış sağlar. Pre-implante sıçan embriyosunda gelişim oranlarını artırır.¹³⁴

2.4.1.2.4. Homeobox (HOX) Transkripsiyon Faktörleri

HOX gen ailesinin üyesi olan HOXA10 genetik olarak embriyonik gelişimin kontrolünü sağlar. Aynı zamanda gelişim süresince çeşitli alanlarda kontrol sağlayan bir transkripsiyon faktörüdür. İmplantasyon penceresi döneminde salgılanmaması durumunda blastokist implante olamaz. Bunun nedeni, pinopod gelişimindeki etkisi ve desidual prolaktin sentezlenmesini kontrolü altında tutmasıdır.¹³⁵ İnfertil kadınlar üzerinde yapılan bazı çalışmalarda HOXA10 ekspresyonunun susturulmasında, mid-sekretuvar evredeki endometriyumun DNA hipermetilasyonu gibi bazı mekanizmalarının etkili olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla menstrual siklusun mid-sekretuvar döneminde HOXA10 ekspresyonu azalır. Bu durum polikistik over sendromu (PCOS), endometriyozis, hidrosalfinks gibi implantasyon bozuklukları ile ilişkili durumlarda da ortaya çıkar.¹³⁶

2.4.1.2.5. Prostaglandinler

İmplantasyon penceresi döneminde zamanlamada önemli rol oynarlar. İmplantasyon aşamasında zamanlamada yaşanan gecikme sonucunda embriyonun serviste tutunması, fötal emilim veya anormal plasantasyon gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkabilir.

Endometriyumda COX-1 ekspresyonu progesteron ve östrojene yanıt olarak artar. Mid-luteal evrede ise implantasyon oluşma ihtimaline karşı hızlı bir düşüş sergiler. COX-2 ise steroid hormonlardan etkilenmez ve ekspresyonu var olan blastokistin implantasyona hazır olduğunu gösterir.¹³⁵

2.4.1.3. Endometrial Reseptivitenin Hormonal Kontrolü

Birçok hormonun organize şekilde çalışması ile başarılı bir implantasyon gerçekleşebilir. İmplantasyonun şekillenmesi için çok dar bir zaman dilimi olan reseptivite döneminde oldukça hassas bir hormonal denge vardır. Bu dönemde östrojenin düşük, progesteronun yüksek düzeylerde salgılanması önemlidir.^{137, 138}

Östrojen hormonu menstrüal siklusun ilk yarımında baskın durumdayken, endometrial reseptivite ve luteal dönemde düşük düzeyde eksprese olur. Östrojen hormonu uterus dokusunda hücre çoğalmasını uyarırken, progesteron hormonu ise hücre ve dokularda olgunlaşmadan sorumludur. Östrojen hormonunun normal seviyeler altına düşmesi ile pinopod oluşumu olumsuz etkilenir ve bu durum da endometrial reseptivitenin bozulması ile sonuçlanır.¹³⁷ Östrojen hormonu seviyesindeki yükselme hem hormonal hem de fizyolojik dengenin değişmesine böylece yeni oositlerin faaliyete geçmesine neden olur. Kadın kaynaklı infertilite sorunlarında çokça rastlanan polikistik over sendromu da östrojen hormonu ile doğrudan ilişkilidir.¹³⁸

Östrojen ve progesteron hormonları birbirlerine zıt etkiler oluşturuyor gibi görünse de düşük konsantrasyonlardaki östrojen ekspresyonunun progesteron üzerine

indükleyici etkisi olduğu da bilinmektedir. Dolayısıyla düşük düzeydeki östrojen varlığı endometriyal reseptivite açısından önem arz eder.^{139, 140}

Progesteron hormonu hamilelik hormonu olarak bilinmektedir. Bu hormon endometriyumun stroma ve epitel hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlayarak endometriyal reseptivitenin oluşmasında önemli bir role sahiptir.^{139, 141} Plasental protein 14 (PP14) insanlarda blastokistin implantasyonunun gerçekleşmesi için endometriyumun hazırlanmasından sorumludur. Bu önemli proteinin ekspresyonunda düzenleyici rol oynayan hormon ise progesterondur.¹⁴² Blastokist ile endometriyum arasında immünomodülatör etki yaparak implantasyon için kritik rol oynayan bu protein, uterusun bez epitel hücrelerinden sentezlenmektedir.¹³⁷

Progesteronun dominant olduğu dönemde LIF, HOXA10, HB-EGF gibi implantasyonda etkili olan moleküllerin sentezlerinin arttığı kanıtlanmıştır.¹⁴³ İntegrin $\beta 3$, integrin $\alpha \nu \beta 3$, kadherin-11 gibi adezyon moleküllerinin de sentezinde progesteron hormonunun düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir.¹⁵

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Deney Etik Kurulu Onayı

“Deneysel Hipotiroidi Oluşturulan Dişi Sıçanlarda Endometriyal Receptivite Durumunun Analiz Edilmesi: Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal Çalışma” başlıklı çalışmamızın, etik kurallar bakımından uygunluğu Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun (HADYEK) 27.12.2018 tarih ve 13 sayılı oturumunun, 224 no’lu kararı ile belirlenmiştir.

3.2. Deneyde Kullanılan Hayvanların Temini ve Bakımları

Çalışmamızda kullanılmak amacıyla Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM)’nden toplam 36 tane, ağırlığı 200-250 g olan, Sprague-Dawley ırkı dişi sıçan temin edildi. Temin edilen hayvanların deney öncesinde ortama adaptasyonları sağlandı ve gruplandırıldı. Deneklere, çalışma süresince, yeteri kadar (ad libitum) su ve pellet yem verildi. Hayvanlar çalışma boyunca yarım gün aydınlık, yarım gün karanlık olan, 21-23°C oda sıcaklığı ve %45-50 nem seviyesindeki laboratuvar ortamında barındırıldı.

3.3. Deney Grupları ve Deney Modeli

Deneyde normal düzende östrus döngüsü gösteren sağlıklı sıçanlar 3 gruba ayrıldı (n: 12). Her kafeste 3 hayvan olacak şekilde kafesleme yapıldı (toplam 12 kafes). Deney grupları aşağıda belirtildiği gibi dizayn edildi:

1. Grup: Kontrol-Endometriyal Receptivite (ER) (Sağlıklı)
2. Grup: Hipotiroidi-Endometriyal Receptivite (ER) (%0.05 PTU)
3. Grup: Tedavi-Endometriyal Receptivite (ER) (%0.05 PTU, 0.8µg/100g L-tiroksin)

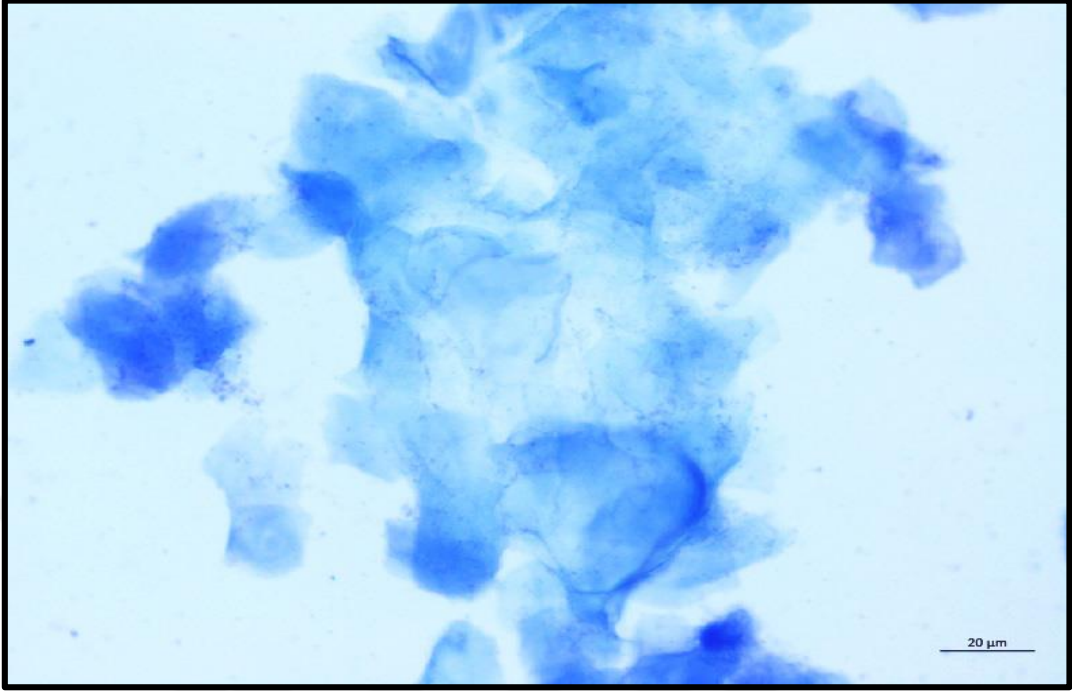
Deneyin başladığı gün hayvanların ilk ağırlık ölçümleri yapıldı ve deney boyunca haftada 1 kez düzenli aralıklarla tartımları yapıldı.

Kontrol-ER grubuna herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarına ise hipotiroidi modeli oluşturmak amacıyla %0.05 PTU (6-propil-2-tiourasil) (Sigma, P3755) 8 hafta boyunca her gün taze olarak hazırlanmak suretiyle içme suyuna karıştırılarak verildi.^{7, 144}

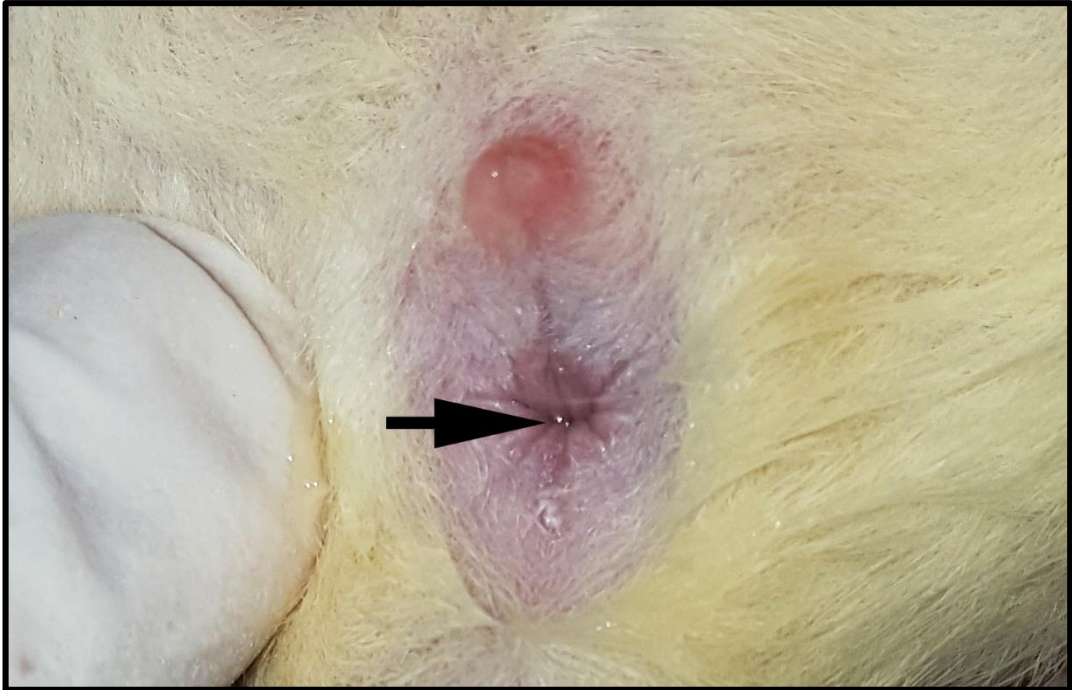
4. haftanın sonunda her gruptan rastgele seçilen iki hayvandan anestezi altında intrakardiyak kan alındı. Alınan kanlarda TSH ve sT4 seviyeleri analiz edildi. Hipotiroidi oluşumu biyokimyasal olarak tespit edilerek deneye devam edildi.

8. haftanın sonunda Kontrol-ER ve Hipotiroidi-ER gruplarındaki hayvanlarda vajinal yıkama metodu ile östrus siklusu tayini yapıldı. Bu döneme ait olan çekirdeksiz kornifiye hücrelerin görülmesi ile östrus evresindeki sıçanlar tespit edildi.^{46, 47} Östrus evresindeki hayvanlar 2 dişi ile 1 erkek sıçan olacak şekilde 1 gece boyunca çiftleşmeye bırakıldı.⁸⁸ Ertesi gün erkekler dişilerden ayrıldı. Vajinal plak gözlenen sıçanlar gebe kabul edildi¹⁴⁵ ve bugün gebeliğin 1. günü sayıldı. Yapılan çalışmalar göz önüne alınarak 5. gün endometriyal reseptivite dönemi kabul edildi ve o gün hayvanlar sakrifiye edildi.¹⁴⁶

8. haftanın sonunda Tedavi-ER grubuna ise subkutan enjeksiyon yolu ile 10 gün boyunca 0.8µg/100g L-tiroksin (Santa Cruz, sc-207813A) uygulamasına başlandı.⁷ Uygulanan tedavi sonunda hayvanlara vajinal yıkama yolu ile östrus siklusu tayini yapıldı. Bu döneme ait olan çekirdeksiz kornifiye hücrelerin görülmesi ile östrus evresindeki sıçanlar tespit edildi (Şekil 3.1).^{46, 47} Östrus evresindeki hayvanlar 2 dişi ile 1 erkek olacak şekilde 1 gece boyunca çiftleşmeye bırakıldı.⁸⁸ Ertesi gün vajinal plak oluşumu görülen sıçanların gebeliğin 1. gününde oldukları varsayıldı (Şekil 3.2).^{145, 147} Daha önce yapılan çalışmalara göre sıçanlarda gebeliğin 5. günü endometriyal reseptivite dönemi olarak kabul edildiği için hayvanlar gebeliğin 5. gününde sakrifiye edildi.¹⁴⁶



Şekil 3.1. Sıçanlarda östrus döneminde vajinal yıkamanın ışık mikroskopik görüntüsü, çekirdeksiz kornifiye hücreler (Büyütme:X400 Boyama: Toluidin Blue)



Şekil 3.2. Sıçan vajinal tıkaç görüntüsü

3.3.1. Östrus Siklusu Tayini

İlk olarak deneklerin vulva ve etrafı %70'lik etil alkol ile silinerek temizlendi. Pastör pipetlerine çekilen yaklaşık 0.5 mL izotonik tuzlu su vajina içine birkaç defa verilip çekildi. Pastör pipeti içine çekilen sıvı lam üzerine yayıldı ve oda ısısında kurumaya bırakıldı. Sonrasında lam üzerine %70 metanol damlatılarak fiksasyon sağlandı. Ardından %1 toluidin blue, damlatılan preparatlar 5 dakika boyamaya bırakıldı. Daha sonra distile su ile yıkanan preparatlar oda sıcaklığında kurutuldu. Entellan ile kapatılan preparatlar kamera destekli Zeiss AXIO Scope.A1 marka ışık mikroskobu ile incelendi ve görüntülendi.

3.4. Cerrahi İşlemler

Çalışmanın cerrahi işlemleri ATADEM Laboratuvarında uygun koşullar altında etik kurallar doğrultusunda gerçekleştirildi. Deneyin sonlandırılması amacı ile hayvanlara intraperitoneal yolla 100 mg/kg ketamin ve 15 mg/kg ksilazin anestezisi altında uygulama yapıldı. Oküler refleksleri kontrol edildikten sonra bilinçsiz durumdaki hayvanların diyafram hizasından yaklaşık 3 cm'lik transvers ve abdominal bölgenin medial hattından da 3 cm olacak şekilde iki kesi atıldı. Bağırsaklar dikkatli bir şekilde dışarıya alındı ve uterus yapısı ortaya çıkarıldı. Dışarı alınan uterin boynuzlar histopatolojik inceleme amacıyla doğrudan %10'luk formaldehit çözeltisi içine koyuldu.

3.5. Histopatolojik Analizler

Yapılan tüm histopatolojik analizler Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı bünyesindeki araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

% 10'luk formaldehit çözeltisi; % 37'lik formaldehitin 1/9 oranında distile su ile seyreltilmesiyle elde edildi. Dereceli etanol serileri (%70 ve % 80'lik etanoller); % 99'luk

etanölün uygun oranlarda distile su ile seyreltilmesiyle elde edildi. % 96 ve % 99'luk etanoller doğrudan kullanıldı.

3.5.1. Doku Takip ve Kesit Alma Prosedürü

Cerrahi işlemlerin ardından direkt %10'luk formaldehit solüsyonu içine alınan uterus dokuları, 48 saat boyunca fikse edildi. Fiksasyon işlemi için kullanılan formaldehit solüsyonu belli aralıklarla taze olarak hazırlandı ve değiştirildi. Fiksasyon aşamasını takiben dokular uygun boyutlarda küçültülerek plastik doku takip kasetleri içine alındı ve grupların karışmamasını sağlamak için etiketlendi. Akan çeşme suyu altında 4 saat boyunca yıkamaya bırakılan dokular bu işlemin ardından; %70'lik etanolde 1 saat, %80'lik etanolde 1 saat, % 96'lık etanolde 1 saat, %99'luk alkolde (absolü alkol-1) 1 saat, %99'luk alkolde (absolü alkol-2) 1 saat bekletilerek sudan kurtarma (dehidratasyon) işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra; ksilol-1'de 1 saat, ksilol-2'de 1 saat olacak şekilde şeffaflaştırma aşaması gerçekleştirildi. Son olarak da dokular 60 °C'lik sıvı parafinde 2 kez 1'er saat olacak şekilde bekletildi. Böylelikle doku takip işlemleri tamamlandı.

Doku takibinin ardından doku bloklama işlemine geçildi. Bu işlem için doku takip kasetleri açılarak alınan dokular, içine 60 °C'lik sıvı parafin doldurulan metal bloklara kesit düzlemlerine göre yerleştirildiler. Metal bloklar üzerine plastik kapaklar yerleştirilerek parafinin oda sıcaklığında donması beklendi. Daha sonra metal kalıplardan parafin bloklar ayrıldı ve kesit alma işlemine geçildi.

Hazırlanan parafin bloklar, kesitlerin rahat ve düzgün alınmaları amacıyla +4 °C'ye soğutuldu. Sıcak su havuzu 37 °C'ye ayarlandı. Leica RM2125 RTS markalı mikrotom cihazına yerleştirilen bloklardan 5 mikrometre kalınlığında olan seri kesitler alındı. Elde edilen kesitler su havuzuna alındı. Kesitlerin bir kısmı histopatolojik boyamalarda kullanılmak amacıyla polilizinli lamlara, bir kısmı da immünohistokimyasal boyamalarda kullanılmak amacıyla pozitif şarjlı lamlara alındı.

3.5.2. Boyama Prosedürü

Lam üzerine alınan uterus dokuları, parafinin uzaklaştırılması ve dokunun sabitlenmesi amacıyla 60 °C'deki etüvde 1 saat boyunca tutuldu. Kalan parafinin tam olarak uzaklaştırılması için lamalar ilk ksilolde 10 dakika, ikinci ksilolde 5 dakika bekletildi. Dokudan ksilolu uzaklaştırıp suya hazırlamak için kesitler azalan alkol serilerinde (absolü alkol-1, absolü alkol-2, % 96 alkol, % 80 alkol, % 70 alkol) 5'er dakika bekletildi. Daha sonra alkolün uzaklaştırılması amacıyla kesitler 5 dakika boyunca distile suda yıkandı.

3.5.3. Üçlü Boyama (Crosman'ın Modifiye Ettiği Mallory'nin Üçlü Boyaması) Prosedürü

Boyama için uygulanan ön işlemin ardından, polilizinli lamlardaki dokular çekirdek boyaması amacıyla hematoksilen solüsyonunda 3 dakika bekletildi ve ardından 5 dakika boyunca distile su ile yıkanarak fazla boyanın giderilmesi sağlandı. Ardından sodyum thiosülfat solüsyonunda 2 dakika tutulan preparatlar distile su ile yıkandı. Sitoplazmanın boyanması amacıyla asit fuksinde 1 dakika bekletilen preparatlar, distile su ile yıkandıktan sonra fosfotungustik asitte 5 dakika boyunca bekletildi ve bağ dokunun beyazlaşması sağlandı. Tekrar distile su ile yıkanan kesitler bağ dokunun boyanması amacıyla 30 saniye anilin blue boya solüsyonunda bekletildi. Distile su ile yıkanan preparatlar %96'lık alkolde 5 dakika, absolü alkol de iki kez 5'er dakika ardından da ksilolde 3 kez 5'er dakika bekletilerek entellan ve lamel ile kapatıldı.

3.5.4. İmmünohistokimyasal Boyama Prosedürü

Boyama ön işleminin ardından, pozitif şarjlı lamlardaki dokulara antijen retrieval işlemi uygulandı, 110 °C'ye ayarlanmış etüvde 20 dakika EDTA içerisinde bekletildi (ağzı kapalı şalede olacak şekilde). (EDTA buffer; 0,37 gram EDTA tartılarak 1000 mL distile su içinde çözüldü ve pH'sı 8'e ayarlandı. İyice karıştırılıp 0,5 mL tween 20

eklendi.) 20 dakika sonunda etüvden çıkarılan şale oda ısısında 5 dakika bekletildi. Daha sonra lamalar dik şaleye alınarak distile su ile yıkandı. Ardından % 3'lük hidrojen peroksit içinde 18 dakika bekletildi. Sonrasında PBS (phosphate buffered saline) içinde 10 dakika bekletilen preparatlar, PAP pen ile çizilerek protein blok ile 10 dakika muamele edildi. Bu arada antikorlar 1'e 50 oranında, PBS ile dilüe edilerek hazırlandı. Protein bloktan sonra her preparata 100 mikrolitre antikor damlatıldı ve karanlık ortamda 1 saat bekletildi. Ardından PBS ile 2 defa 5'er dakika yıkandı. Sekonder antikor ile 20 dakika muamele edildi. PBS ile 2 defa 5'er dakika yıkandı. Strepto Biotin damlatılarak 20 dakika beklendi. PBS ile 3 kez 5'er dakika yıkanarak, DAB solüsyonu damlatıldı. Preparatlarda kahverengileşme görülene kadar beklendi ve PBS ile yıkandı. Mayer's hematoksilin ile 2 dakika muamele edilen preparatlar tekrar PBS ile yıkandı. Ardından preparatlar % 96 alkolde 1 dakika, absolü alkolde 2 defa 5'er dakika ve ksilolde 2 defa 5'er dakika bekletilerek entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal boyamalar için kullanılan antikorlar: İntegrin $\beta 3$ (Santa Cruz, 200 $\mu\text{g/mL}$, sc-365679), İntegrin $\alpha\beta 3$ (Santa Cruz, 200 $\mu\text{g/mL}$, sc-7312), HOXA10 (Biorbyt, 100 $\mu\text{g/mL}$, orb-13476), MUC1 (Santa Cruz, 200 $\mu\text{g/mL}$, sc-53381), LIF (Santa Cruz, 200 $\mu\text{g/mL}$, sc-515931). Kullanılan primer antikorlar 1:50 oranında sulandırıldı.

3.6. Mikroskopik Görüntüleme ve Fotoğraflama

Bütün boyama işlemleri sonrasında mikroskopik inceleme bilgisayar ve kamera eklentili Zeiss AXIO Scope.A1 marka mikroskop ile yapıldı ve fotoğraflandı. Elde edilen fotoğraflar Adobe Photoshop CS6 programı ile bir araya getirildi.

3.7. Biyokimyasal Analizler

Deney sonunda kalpten enjektör ile alınan kanlar vakumlu serum tüplerine aktarılarak 3000 rpm'de, +4 °C'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serumlar eppendorf

tüplerine aktarıldı ve biyokimyasal analizler yapılncaya kadar -80 °C’de derin dondurucuda muhafaza edildi. Biyokimyasal analizler Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.7.1. TSH Ölçümü

Serum TSH tayini Rat TSH ELISA ticari kitinde (SunRed, Cat. No: 201-11-0181) belirtilen protokole uygun olarak yapılarak Biotek ELISA Reader (Bio Tek µQuant MQX200 Elisa reader/USA) cihazında okundu.

TSH analizinde kullanılan çözeltiler:

1. Standart (640µmol/L)
2. Standart diluent
3. TSH antikor
4. Chromogen solution A
5. Chromogen solution B
6. Stop solution
7. Str-HRP- Conjugate Reagent
8. 30 x wash solution

Prensibi: Sıçan kan serumlarından TSH analizi için örneklerde çift antikorlu sandwich ELISA kiti kullanılmaktadır. İnkübasyon ile önceden sıçan TSH monoklonal antikorlu ile kaplanmış enzim kuyusuna TSH eklendi. Daha sonra biyotin ile etiketlenmiş ve bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilen TSH antikorları eklendi. Ardından inkübasyon gerçekleştirildi ve birleştirilmemiş enzimi uzaklaştırmak için tekrar yıkandı. Daha sonra Kromojen Solüsyonu A, B eklendi, sıvının rengi maviye dönüştü ve asidin etkisiyle renk sarı oldu. Rengin kroması ve sıçan maddesinin konsantrasyonu numunenin TSH ile pozitif korelasyon gösterdi.

Analizin yapılışı: Kit protokolünde belirtildiği gibi analiz yapıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Serum örneklerinden TSH tayini

	Örnek	Standart	Blank
Serum	40 µL	-	-
Standart	-	50 µL	-
TSH-antikör	10 µL	-	-
Streptavidin-HRP	50 µL	50 µL	-
Membran kapatılarak shaker (Heidolph Rotamax 120) ile hafifçe çalkalandı. 60 dk 37 °C’de inkübe edildi. Membran dikkatlice ayrılarak sıvı boşaltıldı. Kalan sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 350 µL yıkama solüsyonu konularak 5 kez kuyucuklar Biotek ELISA yıkayıcısı (BIO-TEK ELx50) ile yıkandı.			
Kromojen A	50 µL	50 µL	50 µL
Kromojen B	50 µL	50 µL	50 µL
10 dk 37 °C’de karanlıkta inkubasyona bırakıldı.			
Stop solüsyonu	50 µL	50 µL	50 µL
Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm’de Biotek ELISA Reader ile absorbanlar okundu. Sonuçlar standart konsantrasyonuna göre hesaplanarak mLU/L olarak verildi.			

3.7.2. sT4 Ölçümü

Serum sT4 tayini Rat T4 ELISA ticari kitinde (SunRed, Cat. No: 201-11-0338) belirtilen protokole uygun olarak yapılarak Biotek ELISA Reader (Bio Tek µQuant MQX200 Elisa reader/USA) cihazında okundu.

sT4 analizinde kullanılan çözeltiler:

1. Standart (640µmol/L)
2. Standart diluent
3. T4 antikör
4. Chromogen solution A

5. Chromogen solution B
6. Stop solution
7. Str-HRP- Conjugate Reagent
8. 30 x wash solution

Prensibi: Sıçan kan serumlarından sT4 analizi için örneklerde çift antikorlu sandwich ELISA kiti kullanılmaktadır. Sıçan kan serumlarından sT4 analizi için örneklerde çift esterli sandviç ELISA kiti kullanılmaktadır. İnkübasyon ile önceden sıçan T4 monoklonal antikoruna ile kaplanmış enzim kuyusuna T4 eklendi Daha sonra biyotin ile etiketlenmiş ve bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilen T4 antikorları eklendi. Ardından inkübasyon gerçekleştirildi ve birleştirilmemiş enzimi uzaklaştırmak için tekrar yıkandı. Daha sonra Kromojen Solüsyonu A, B eklendi, sıvının rengi maviye dönüştü ve asidin etkisiyle renk sarı oldu. Rengin kroması ve sıçan maddesinin konsantrasyonu numunenin sT4 hormonu ile pozitif korelasyon gösterdi.

Analizin yapılışı: Kit protokolünde belirtildiği gibi analiz yapıldı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Serum örneklerinden sT4 tayini

	Örnek	Standart	Blank
Serum	40 µL	-	-
Standart	-	50 µL	-
T4-antikor	10 µL	-	-
Streptavidin-HRP	50 µL	50 µL	-
Membran kapatılarak shaker (Heidolph Rotamax 120) ile hafifçe çalkalandı. 60 dk 37 °C' de inkübe edildi. Membran dikkatlice ayrılarak sıvı boşaltıldı. Kalan sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 350 µL yıkama solüsyonu konularak 5 kez kuyucuklar Biotek ELISA yıkayıcısı (BIO-TEK ELx50) ile yıkandı.			
Kromojen A	50 µL	50 µL	50 µL

Tablo 3.2. (Devamı)

Kromojen B	50 µL	50 µL	50 µL
10 dk 37 °C’de karanlıkta inkübasyona bırakıldı.			
Stop solüsyonu	50 µL	50 µL	50 µL
Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm’de Biotek ELISA Reader ile absorbanlar okundu. Sonuçlar standart konsantrasyonuna göre hesaplanarak ng/mL olarak verildi.			

3.7.3. Progesteron Ölçümü

Serum progesteron tayini rat progesteron ELISA ticari kitinde (SunRed, Cat. No: 201-11-0742) belirtilen protokole uygun olarak yapılarak Biotek ELISA Reader (Bio Tek µQuant MQX200 Elisa reader/USA) cihazında okundu.

Progesteron analizinde kullanılan çözeltiler:

1. Standart (640µmol/L)
2. Standart diluent
3. Progesteron antikor
4. Chromogen solution A
5. Chromogen solution B
6. Stop solution
7. Str-HRP- Conjugate Reagent
8. 30 x wash solution

Prensibi: Sıçan kan serumlarından progesteron analizi için örneklerde çift antikorlu sandwich ELISA kiti kullanılmaktadır. İnkübasyon ile önceden sıçan progesteron monoklonal antikoruna ile kaplanmış enzim kuyusuna progesteron eklendi. Daha sonar biyotin ile etiketlenmiş ve bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilen progesteron antikorları eklendi. Ardından inkübasyon

gerçekleştirildi ve birleştirilmemiş enzimi uzaklaştırmak için tekrar yıkandı. Daha sonra Kromojen Solüsyonu A, B eklendi, sıvının rengi maviye dönüştü ve asidin etkisiyle renk sarı oldu. Rengin kroması ve sıçan maddesinin konsantrasyonu numunenin Progesteron hormonu ile pozitif korelasyon gösterdi.

Analizin yapılışı: Kit protokolünde belirtildiği gibi analiz yapıldı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Serum örneklerinden Progesteron tayini

	Örnek	Standart	Blank
Serum	40 µL	-	-
Standart	-	50 µL	-
Prog-antikor	10 µL	-	-
Streptavidin-HRP	50 µL	50 µL	-
Membran kapatılarak shaker (Heidolph Rotamax 120) ile hafifçe çalkalandı. 60 dk 37 °C’de inkübe edildi. Membran dikkatlice ayrılarak sıvı boşaltıldı. Kalan sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 350 µL yıkama solüsyonu konularak 5 kez kuyucuklar Biotek ELISA yıkayıcısı (BIO-TEK ELx50) ile yıkandı.			
Kromojen A	50 µL	50 µL	50 µL
Kromojen B	50 µL	50 µL	50 µL
10 dk 37 °C’de karanlıkta inkubasyona bırakıldı.			
Stop solüsyonu	50 µL	50 µL	50 µL
Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm’de Biotek ELISA Reader ile absorbanslar okundu. Sonuçlar standart konsantrasyonuna göre hesaplanarak ng/mL olarak verildi.			

3.7.4. Östrojen Ölçümü

Serum Östrojen (E2) tayini Rat E2 ELISA ticari kitinde (SunRed, Cat. No: 201-11-0175) belirtilen protokole uygun olarak yapılarak Biotek ELISA Reader (Bio Tek µQuant MQX200 Elisa reader/USA) cihazında okundu.

Östrojen analizinde kullanılan çözeltiler:

1. Standart (640µmol/L)
2. Standart diluent
3. Östrojen (E2) antikor
4. Chromogen solution A
5. Chromogen solution B
6. Stop solution
7. Str-HRP- Conjugate Reagent
8. 30 x wash solution

Prensibi: Sıçan kan serumlarından E2 analizi için örneklerde çift antikorlu sandwich ELISA kiti kullanılmaktadır. İnkübasyon ile önceden sıçan E2 monoklonal antikorlu ile kaplanmış enzim kuyusuna E2 eklendi. Daha sonra biyotin ile etiketlenmiş ve bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilen E2 antikorları eklendi. Ardından inkübasyon gerçekleştirildi ve birleştirilmemiş enzimi uzaklaştırmak için tekrar yıkandı. Daha sonra Kromojen Solüsyonu A, B eklendi, sıvının rengi maviye dönüştü ve asidin etkisiyle renk sarı oldu. Rengin kroması ve sıçan maddesinin konsantrasyonu numunenin E2 hormonu ile pozitif korelasyon gösterdi.

Analizin yapılışı: Kit protokolünde belirtildiği gibi analiz yapıldı (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Serum örneklerinden E2 tayini

	Örnek	Standart	Blank
Serum	40 µL	-	-
Standart	-	50 µL	-
E2-antikör	10 µL	-	-
Streptavidin-HRP	50 µL	50 µL	-
Membran kapatılarak shaker (Heidolph Rotamax 120) ile hafifçe çalkalandı. 60 dk 37 °C’ de inkübe edildi. Membran dikkatlice ayrılarak sıvı boşaltıldı. Kalan sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 350 µL yıkama solüsyonu konularak 5 kez kuyucuklar Biotek ELISA yıkayıcısı (BIO-TEK ELx50) ile yıkandı.			
Kromojen A	50 µL	50 µL	50 µL
Kromojen B	50 µL	50 µL	50 µL
10 dk 37 °C’de karanlıkta inkubasyona bırakıldı.			
Stop solüsyonu	50 µL	50 µL	50 µL
Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm’de Biotek ELISA Reader ile absorbanslar okundu. Sonuçlar standart konsantrasyonuna göre hesaplanarak ng/L olarak verildi.			

3.7.5. FSH Ölçümü

Serum FSH tayini Rat FSH ELISA ticari kitinde (SunRed, Cat. No: 201-11-0183) belirtilen protokole uygun olarak yapılarak Biotek ELISA Reader (Bio Tek µQuant MQX200 Elisa reader/USA) cihazında okundu.

FSH analizinde kullanılan çözeltiler:

1. Standart (640µmol/L)
2. Standart diluent
3. FSH antikör
4. Chromogen solution A

5. Chromogen solution B
6. Stop solution
7. Str-HRP- Conjugate Reagent
8. 30 x wash solution

Prensibi: Sıçan kan serumlarından FSH analizi için örneklerde çift antikorlu sandwich ELISA kiti kullanılmaktadır. İnkübasyon ile önceden sıçan FSH monoklonal antikorlu ile kaplanmış enzim kuyusuna FSH eklendi. Daha sonra, biyotin ile etiketlenmiş ve bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilen FSH antikorları eklendi. Ardından inkübasyon gerçekleştirildi ve birleştirilmemiş enzimi uzaklaştırmak için tekrar yıkandı. Daha sonra Kromojen Solüsyonu A, B eklendi, sıvının rengi maviye dönüştü ve asidin etkisiyle renk sarı oldu. Rengin kroması ve sıçan maddesinin konsantrasyonu numunenin FSH hormonu ile pozitif korelasyon gösterdi.

Analizin yapılışı: Kit protokolünde belirtildiği gibi analiz yapıldı (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Serum örneklerinden FSH tayini

	Örnek	Standart	Blank
Serum	40 µL	-	-
Standart	-	50 µL	-
FSH-antikor	10 µL	-	-
Streptavidin-HRP	50 µL	50 µL	-
Membran kapatılarak shaker (Heidolph Rotamax 120) ile hafifçe çalkalandı. 60 dk 37 °C’ de inkübe edildi. Membran dikkatlice ayrılarak sıvı boşaltıldı. Kalan sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 350 µL yıkama solüsyonu konularak 5 kez kuyucuklar Biotek ELISA yıkayıcısı (BIO-TEK ELx50) ile yıkandı.			
Kromojen A	50 µL	50 µL	50 µL
Kromojen B	50 µL	50 µL	50 µL

Tablo 3.5. (Devamı)

10 dk 37 °C’de karanlıkta inkübasyona bırakıldı.			
Stop solüsyonu	50 µL	50 µL	50 µL
Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm’de Biotek ELISA Reader ile absorbanslar okundu. Sonuçlar standart konsantrasyonuna göre hesaplanarak IU/L olarak verildi.			

3.7.6. LH Ölçümü

Serum LH tayini Rat LH ELISA ticari kitinde (SunRed, Cat. No: 201-11-0180) belirtilen protokole uygun olarak yapılarak Biotek ELISA Reader (Bio Tek µQuant MQX200 Elisa reader/USA) cihazında okundu.

LH analizinde kullanılan çözeltiler:

1. Standart (640µmol/L)
2. Standart diluent
3. LH antikor
4. Chromogen solution A
5. Chromogen solution B
6. Stop solution
7. Str-HRP- Conjugate Reagent
8. 30 x wash solution

Prensibi: Sıçan kan serumlarından LH analizi için örneklerde çift antikorlu sandwich ELISA kiti kullanılmaktadır. İnkübasyon ile önceden sıçan LH monoklonal antikoru ile kaplanmış enzim kuyusuna LH eklendi. Daha sonra, biyotin ile etiketlenmiş ve bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilen LH antikorları eklendi. Ardından inkübasyon gerçekleştirildi ve birleştirilmemiş enzimi uzaklaştırmak için tekrar yıkandı. Daha sonra Kromojen Solüsyonu A, B eklendi, sıvının rengi maviye

dönüştü ve asidin etkisiyle renk sarı oldu. Rengin kroması ve sıçan maddesinin konsantrasyonu numunenin LH hormonu ile pozitif korelasyon gösterdi.

Analizin yapılışı: Kit protokolünde belirtildiği gibi analiz yapıldı (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Serum örneklerinden LH tayini

	Örnek	Standart	Blank
Serum	40 µL	-	-
Standart	-	50 µL	-
LH-antikör	10 µL	-	-
Streptavidin-HRP	50 µL	50 µL	-
Membran kapatılarak shaker (Heidolph Rotamax 120) ile hafifçe çalkalandı. 60 dk 37 °C’de inkübe edildi. Membran dikkatlice ayrılarak sıvı boşaltıldı. Kalan sıvı boşaltılarak her kuyucuğa 350 µL yıkama solüsyonu konularak 5 kez kuyucuklar Biotek ELISA yıkayıcısı (BIO-TEK ELx50) ile yıkandı.			
Kromojen A	50 µL	50 µL	50 µL
Kromojen B	50 µL	50 µL	50 µL
10 dk 37 °C’de karanlıkta inkubasyona bırakıldı.			
Stop solüsyonu	50 µL	50 µL	50 µL
Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm’de Biotek ELISA Reader ile absorbanlar okundu. Sonuçlar standart konsantrasyonuna göre hesaplanarak mLU/mL olarak verildi.			

3.8. İstatistiksel Analizler

Çalışmadaki gruplar arasındaki farklılığın önemi için SPSS 22.0 paket programı kullanılarak OneWay ANOVA varyans analizi yapıldı. Çoklu karşılaştırma için ise Tukey testi yapıldı ve istatistiksel önem $p < 0,05$ için *, $p < 0,001$ için ** ve $p < 0,0001$ için ise *** ve ^{a,b,c} şeklinde ifade edildi. Grup içi ikili karşılaştırmalar ise Student t testi kullanılarak yapıldı.

Çalışmamızın immünohistokimyasal değerlendirmesinde yarı kantitatif skorlama yöntemi kullanıldı. Bu yöntem esasına göre her bir uterus dokusundan en az 5 farklı bölgenin ortalama boyanma yoğunluğuna dikkat edilmek suretiyle skorlama işlemi yapıldı.¹⁴⁸ Yapılan değerlendirmelere göre immün pozitif ve immün negatif boyama skorlamaları; boyanma çok az ya da yok ise – (% 0), hafif yoğun ise + (% 0–30), orta yoğunluktaysa ++ (% 30–60), yoğun boyanma var ise +++ (% 60–100) şeklinde belirlendi.¹⁴⁹

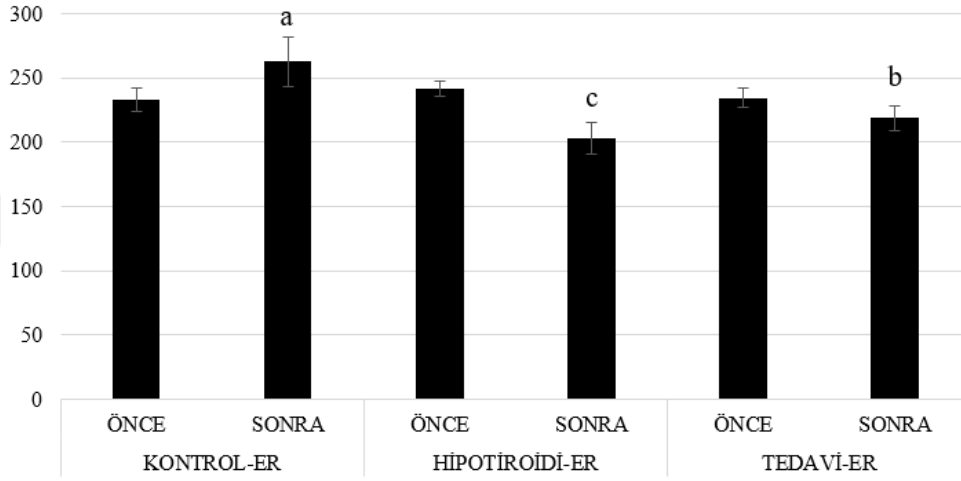


4. BULGULAR

4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları

Tüm grupların deney öncesi ve sonrasındaki vücut ağırlık ölçümlerine ilişkin sonuçlar Şekil 4.1’de gösterilmektedir.

Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları (Gram)



Şekil 4.1. Deney öncesi ve sonrasında sıçan vücut ağırlıklarının grup içi ve gruplar arası değerlendirilmesi

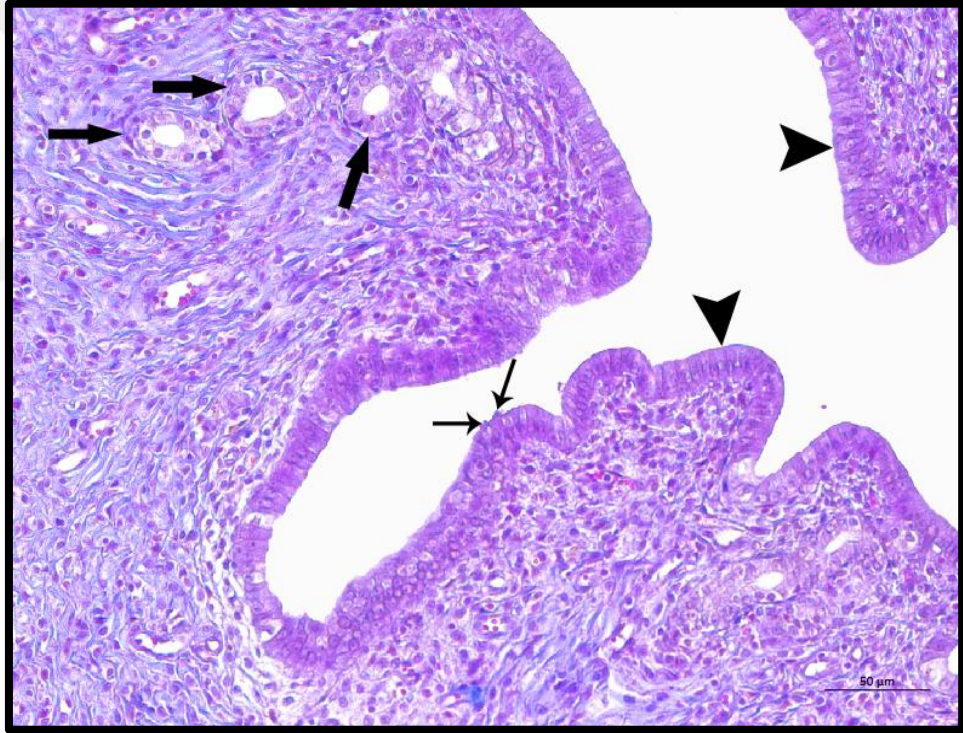
Deney öncesinde ve sonrasında sıçanların vücut ağırlıklarını karşılaştırmak için SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. One Way ANOVA varyans analizi yapıldı. Çoklu karşılaştırma Tukey testi ile değerlendirildi. Grup içi ikili karşılaştırmalar Student t testi ile yapıldı. Elde edilen veriler $p < 0.05$ ise anlamlı kabul edildi.

Deneyin başlangıcında gruplar arasında vücut ağırlıkları açısından anlamlı bir fark yoktu. Deney sonunda gruplar arası incelemede Kontrol-ER grubuna kıyasla, Hipotiroidi-ER grubunda anlamlı bir azalma görülürken, Tedavi-ER grubunda da Hipotiroidi-ER grubuna kıyasla anlamlı bir artış olduğu ve değerlerin Kontrol-ER grubuna yaklaştığı tespit edildi.

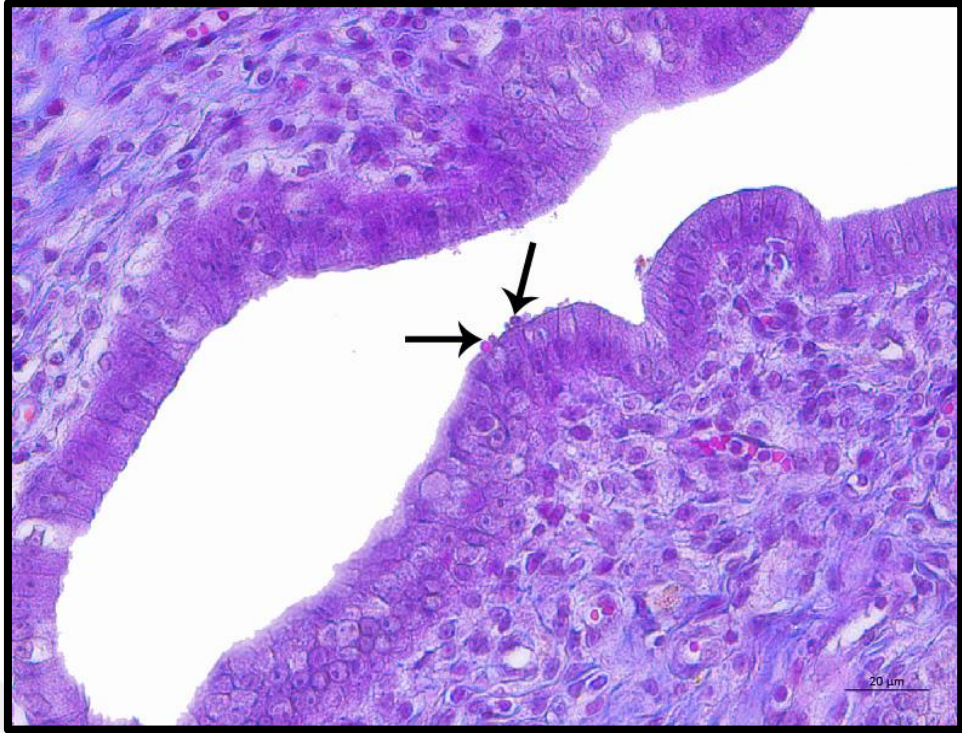
4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Uterus Dokularında Üçlü Boyama Bulguları

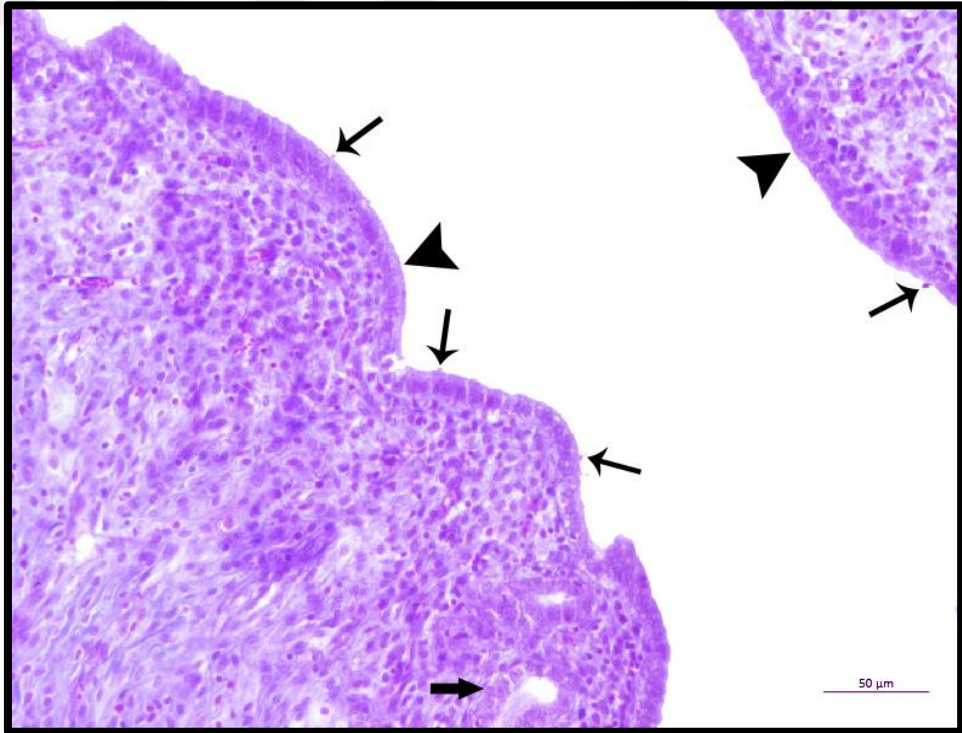
Kontrol-ER grubuna ait uterus dokularının histopatolojik incelemesinde; endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum yapıları sağlıklı olarak gözlemlendi. Endometriyumun lamina epitelyalis tabakasında bol miktarda pinopod gözlemlendi. Endometriyumun lamina propria tabakasında bulunan uterus bezlerinin yapıları normal görünümdeydi (Şekil 4.2-4.5).



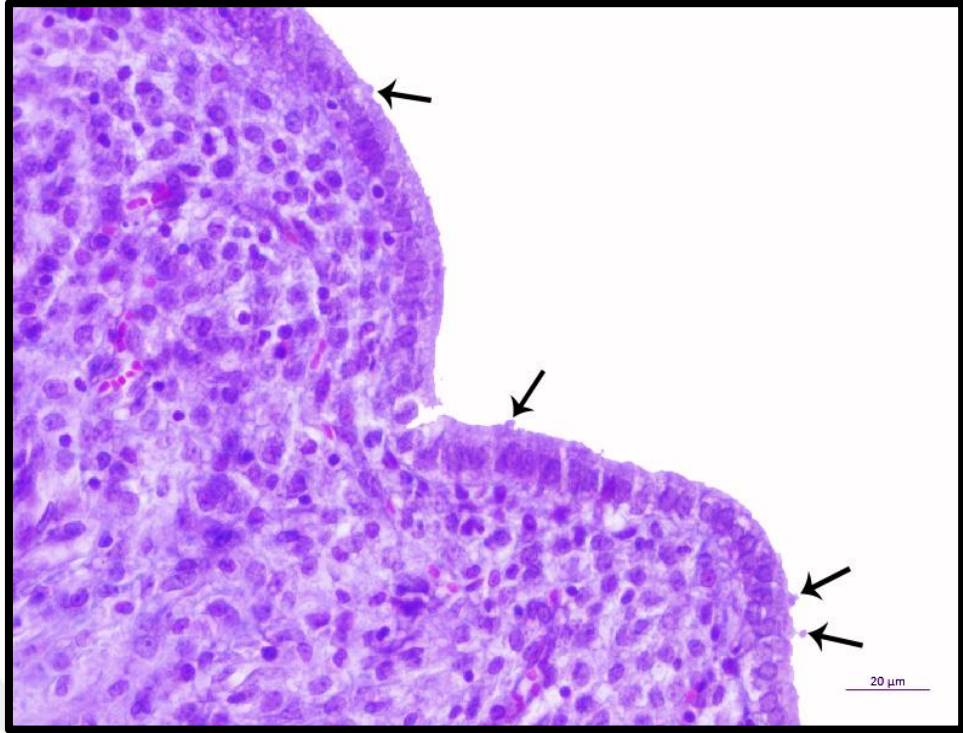
Şekil 4.2. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X200 Boyama: Üçlü Boyama. **Ok başı:** Lamina epitelyalis, **Kalın ok:** Uterus bezi, **İnce ok:** Pinopod)



Şekil 4.3. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X400
Boyama: Üçlü Boyama. **Ok:** Pinopod)

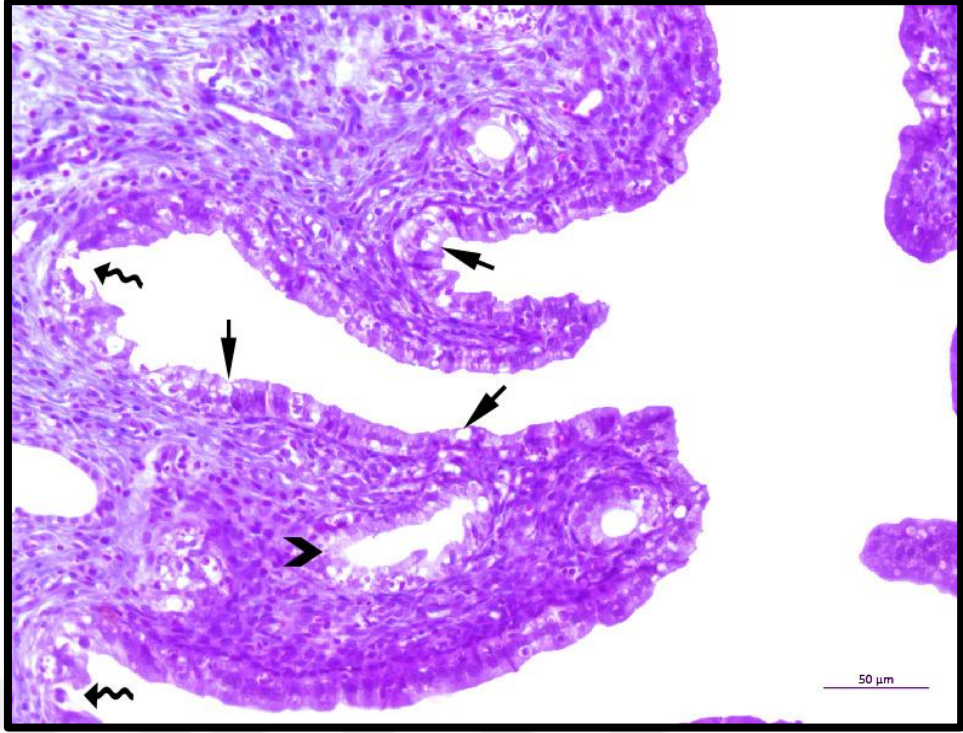


Şekil 4.4. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X200
Boyama: Üçlü Boyama. **Ok başı:** Lamina epitelyalis, **Kalın ok:** Uterus bezi,
İnce ok: Pinopod)

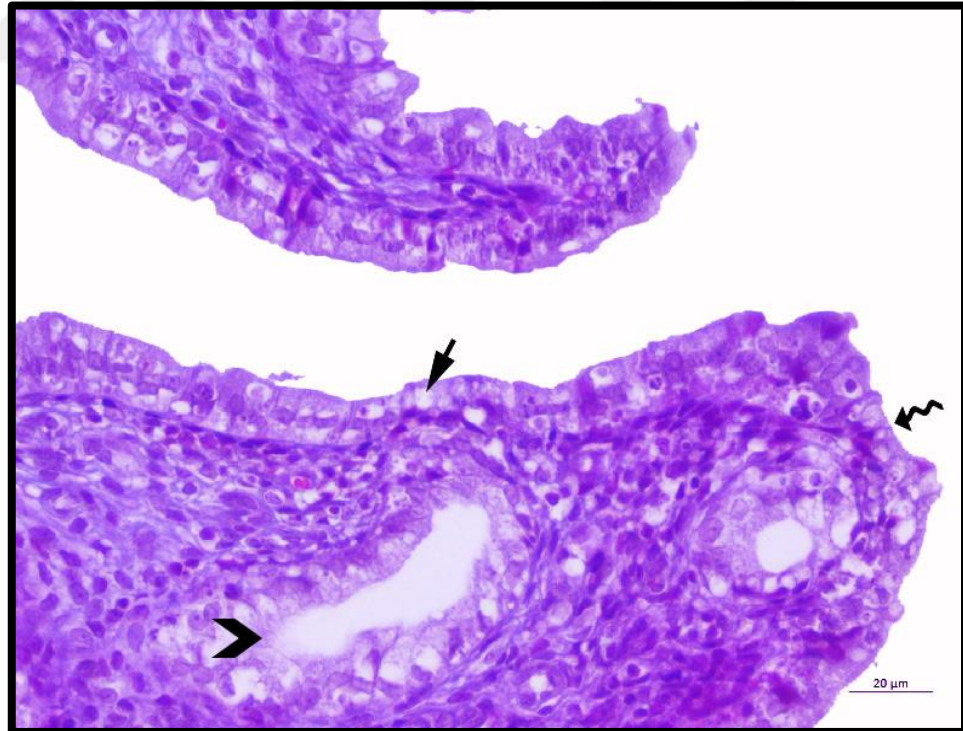


Şekil 4.5. Kontrol-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X400
Boyama: Üçlü Boyama. **Ok:**Pinopod)

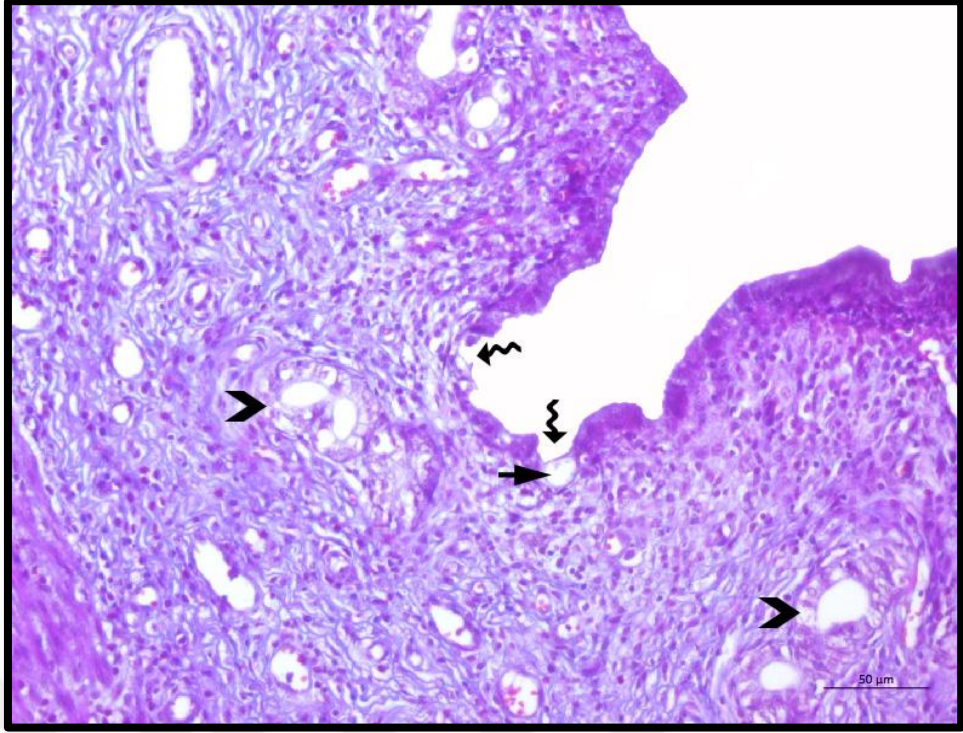
Hipotiroidi-ER grubuna ait uterus dokularındaki histopatolojik incelemeye göre; endometriyumun lamina epitelyalis tabakasında yaygın olarak vakuolizasyon ve dejenerasyon izlenirken pinopod oluşumları ise görülmedi. Bu grupta uterus bez epitellerinde dejenerasyon ve bezlerde genişlemeler tespit edildi (Şekil 4.6-4.9).



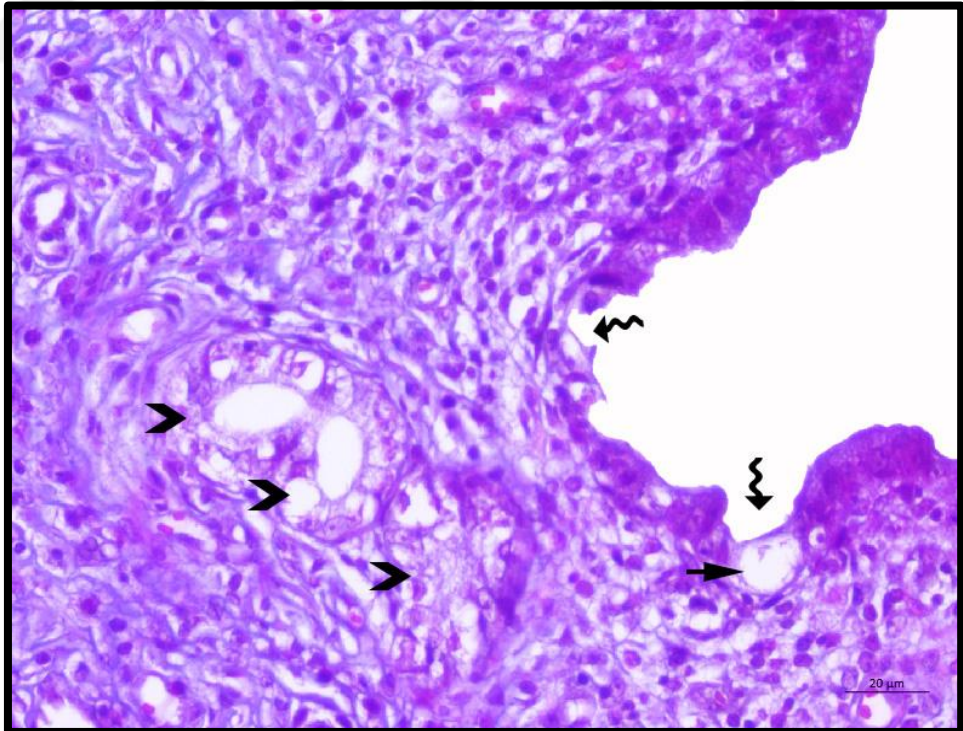
Şekil 4.6. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme:X200
Boyama: Üçlü Boyama. **Düz ok:** Vakuolizasyon, **Kıvrımlı ok:** Dejenerasyon,
Ok başı: Uterus bezlerinde genişleme ve dejenerasyon)



Şekil 4.7. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme:X400
Boyama: Üçlü Boyama. **Düz ok:** Vakuolizasyon, **Kıvrımlı ok:** Dejenerasyon,
Ok başı: Uterus bezlerinde genişleme ve dejenerasyon)

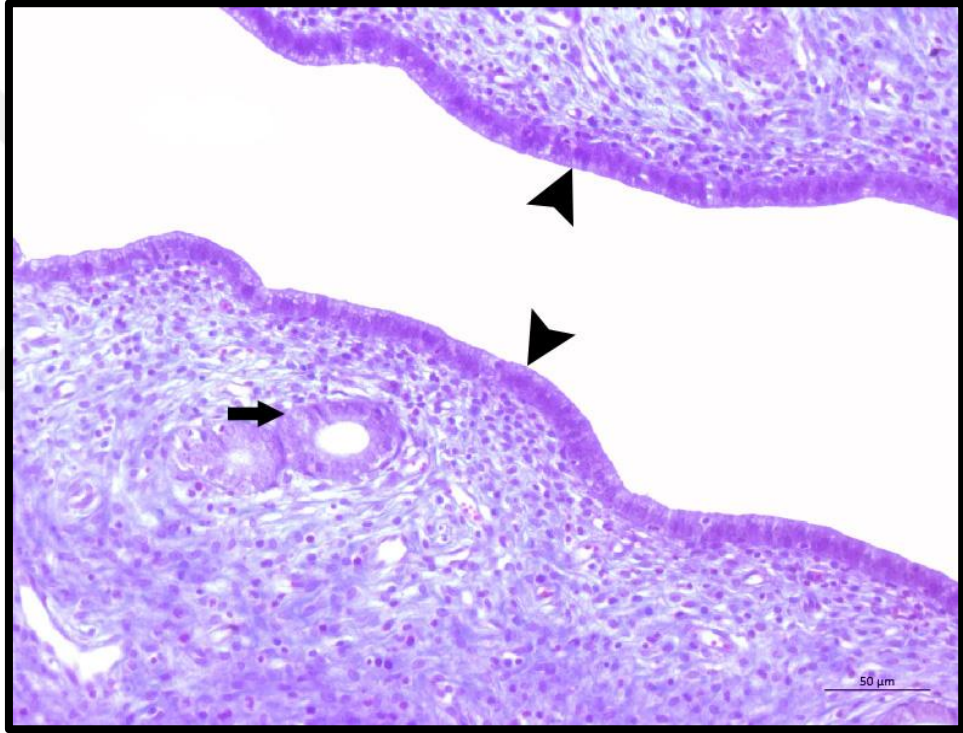


Şekil 4.8. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X200
Boyama: Üçlü Boyama. **Düz ok:** Vakuolizasyon, **Kıvrımlı ok:** Dejenerasyon,
Ok başı: Uterus bezlerinde genişleme ve dejenerasyon)

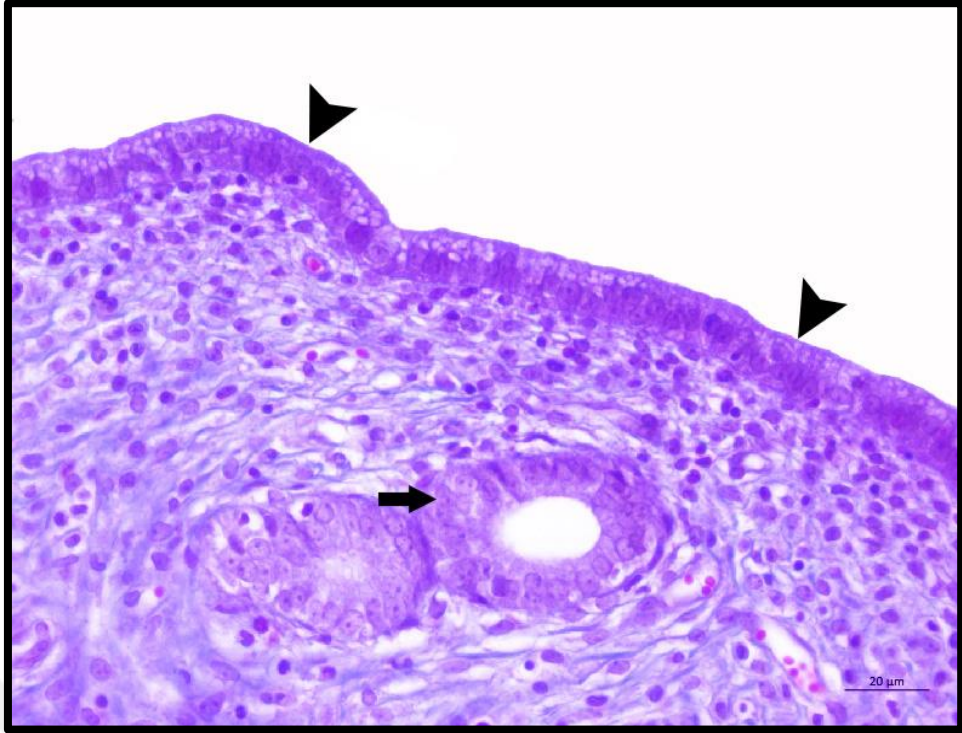


Şekil 4.9. Hipotiroidi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X400
Boyama: Üçlü Boyama. **Düz ok:** Vakuolizasyon, **Kıvrımlı ok:** Dejenerasyon,
Ok başı: Uterus bezlerinde genişleme ve dejenerasyon)

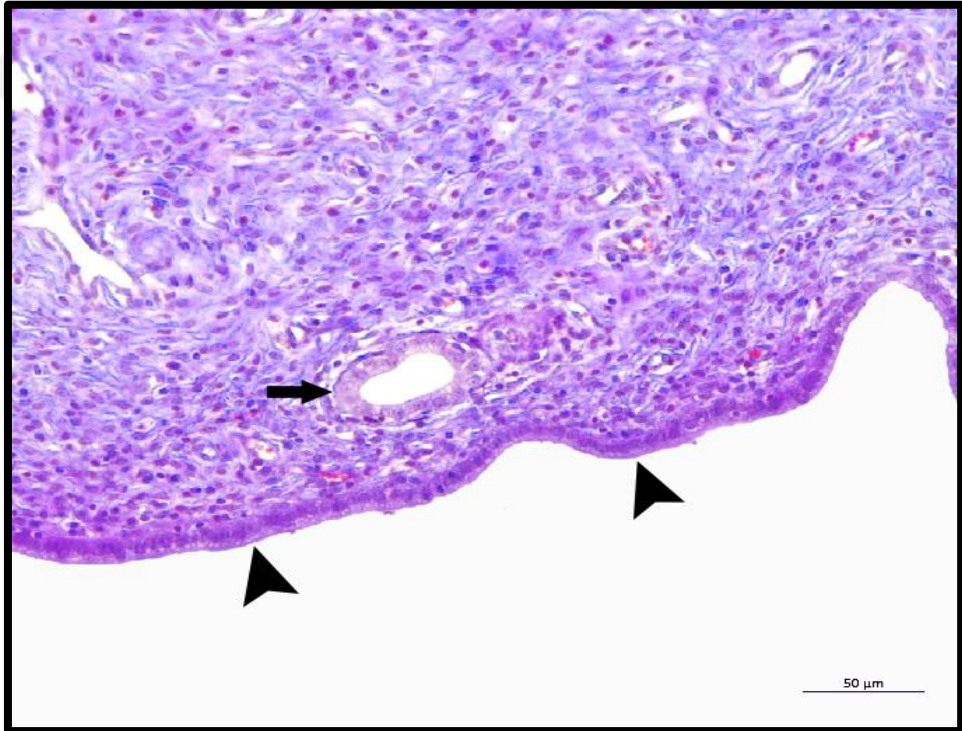
Tedavi-ER grubundaki uterus dokularının histopatolojik incelemesine göre ise; endometriyumun lamina epitelyalis katmanında oluşan dejenerasyon ve vakuolizasyonların büyük oranda azaldığı ve pinopod oluşumlarının arttığı görüldü. Bu gruptaki uterus bezlerinin büyüklük olarak normal oldukları ve epitel dejenerasyonlarının azaldığı gözlemlendi. Genel olarak Kontrol-ER grubuna daha yakın bir histopatolojik görüntü tespit edildi (Şekil 4.10-4.13).



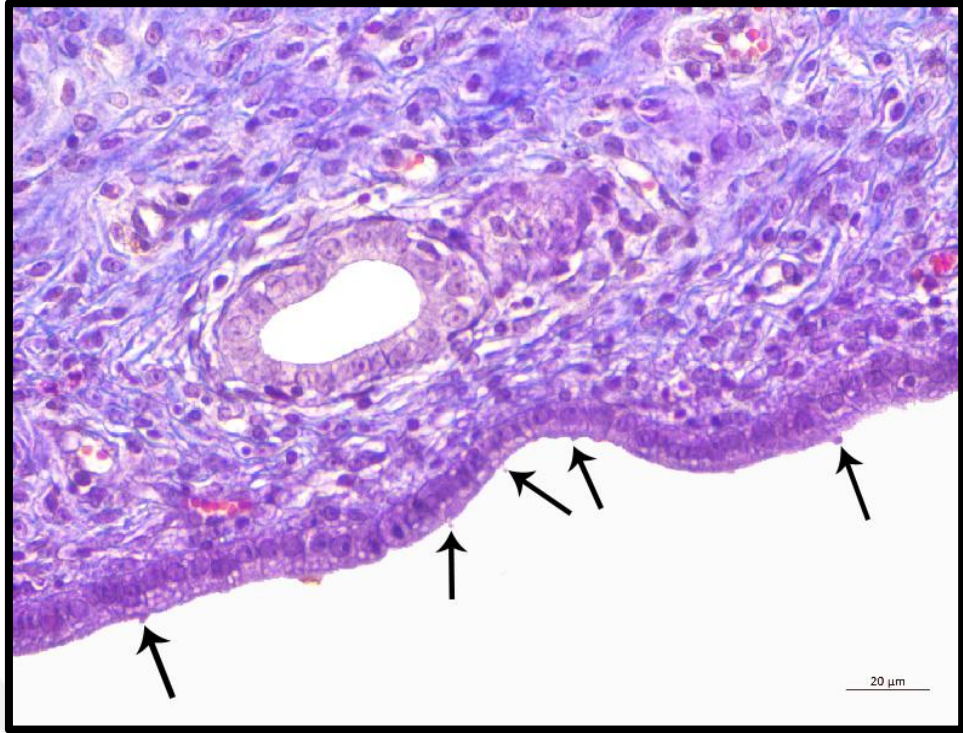
Şekil 4.10. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X200 Boyama: Üçlü Boyama. **Ok başı:** Lamina epitelyalis, **Ok:** Uterus bezi)



Şekil 4.11. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X400
Boyama: Üçlü Boyama. **Ok başı:** Lamina epitelyalis, **Ok:** Uterus bezi)



Şekil 4.12. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X200
Boyama: Üçlü Boyama. **Ok başı:** Lamina epitelyalis, **Ok:** Uterus bezi)



Şekil 4.13. Tedavi-ER grubuna ait histopatolojik bulgular (Büyütme: X400
Boyama: Üçlü Boyama. **Ok:** Pinopod)

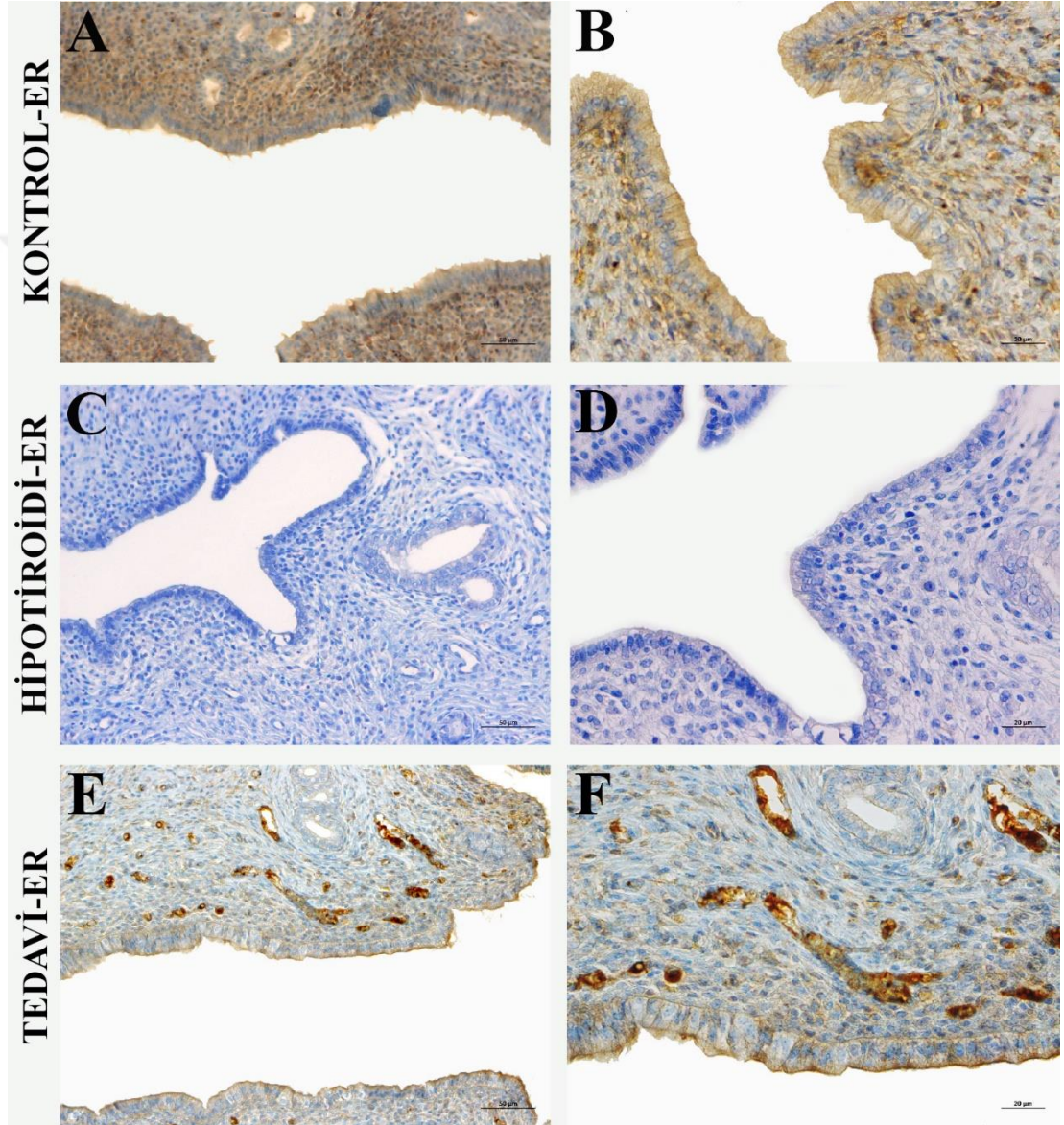
4.2.2. Uterus Dokularında İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları

İmmünohistokimyasal boyama için İntegrin $\beta 3$, İntegrin $\alpha \nu \beta 3$, HOXA10 , LIF ve MUC1 antikorları kullanıldı. Epitelyal yüzeyde immünpozitifliğin yoğunluğu bakımından yapılan değerlendirmeler ise şöyledir (Tablo 4.1):

Tablo 4.1. İmmünohistokimyasal Boyama Skorları

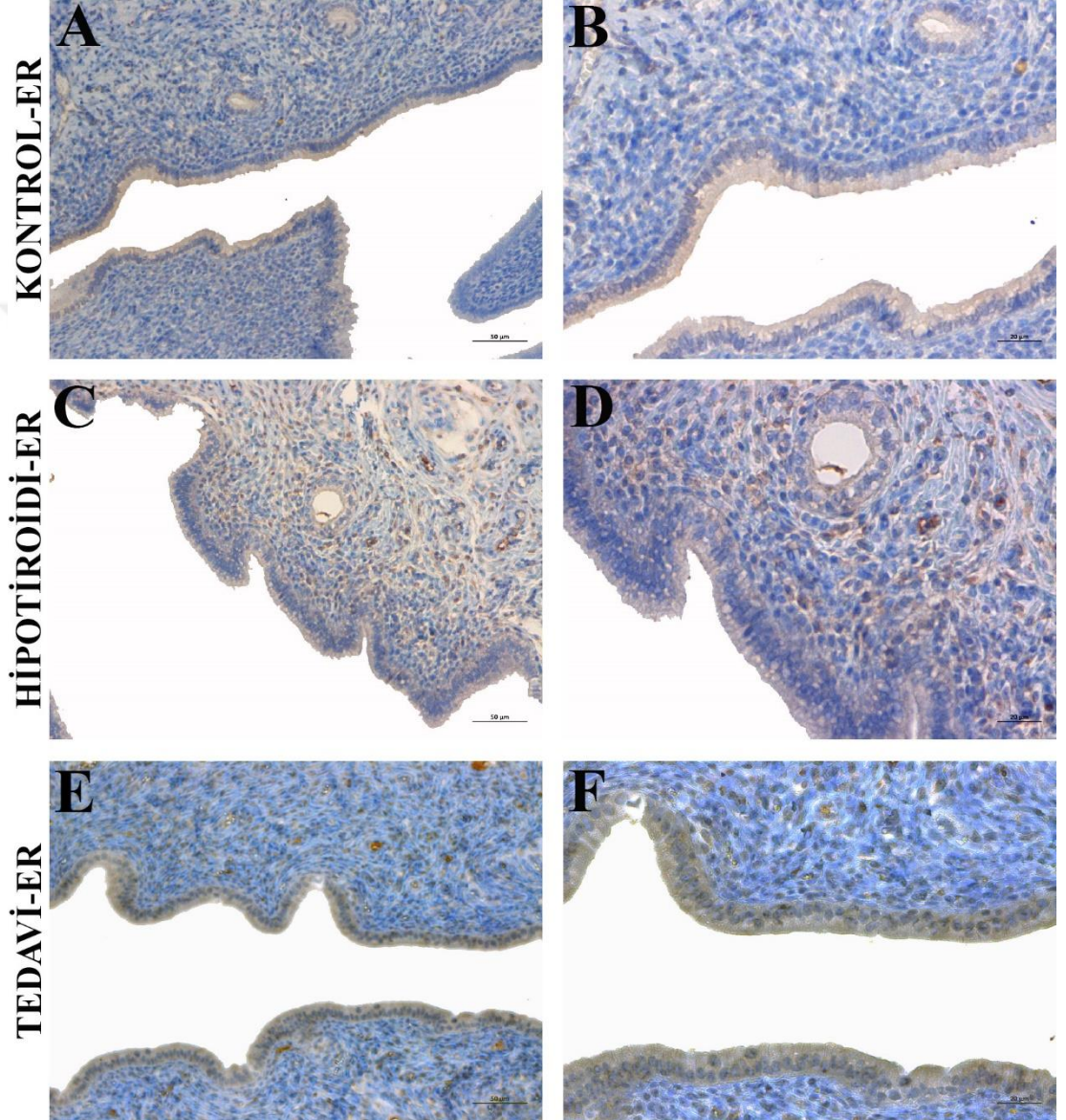
Antikorlar	Kontrol-ER	Hipotiroidi-ER	Tedavi-ER
İntegrin $\beta 3$	+++	-	++
İntegrin $\alpha \nu \beta 3$	+	-	+
HOXA10	+++	-	+++
LIF	+++	-	+++
MUC1	-	+++	-

İntegrin $\beta 3$ antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama neticesinde; Kontrol-ER grubunda yoğun immünpozitiflik (+++), Hipotiroidi-ER grubunda immünnegatif (-) boyanma görülürken, Tedavi-ER grubunda ise orta yoğunlukta (++) immünpozitiflik belirlendi (Şekil 4.14).



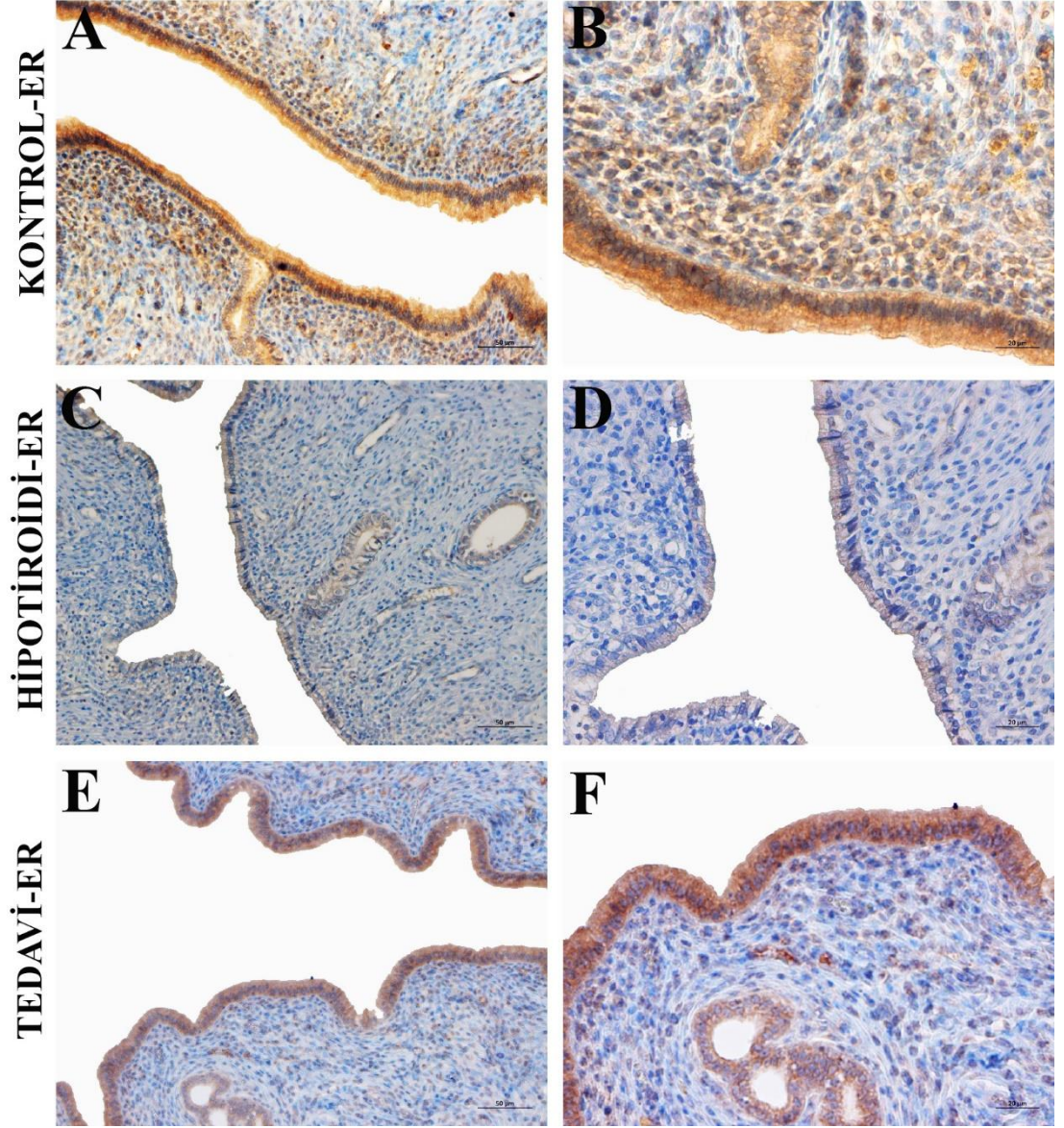
Şekil 4.14. İntegrin $\beta 3$ immünohistokimyasal boyama bulguları
(Büyütme: A, C, E: X200, B, D, F: X400. Boyama: Avidin-biotin Metot)

İntegrin $\alpha\beta3$ antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama neticesinde; Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında immünpozitiflik hafif yoğun (+), Hipotiroidi-ER grubunda ise immünnegatif (-) olarak gözlemlendi (Şekil 4.15).



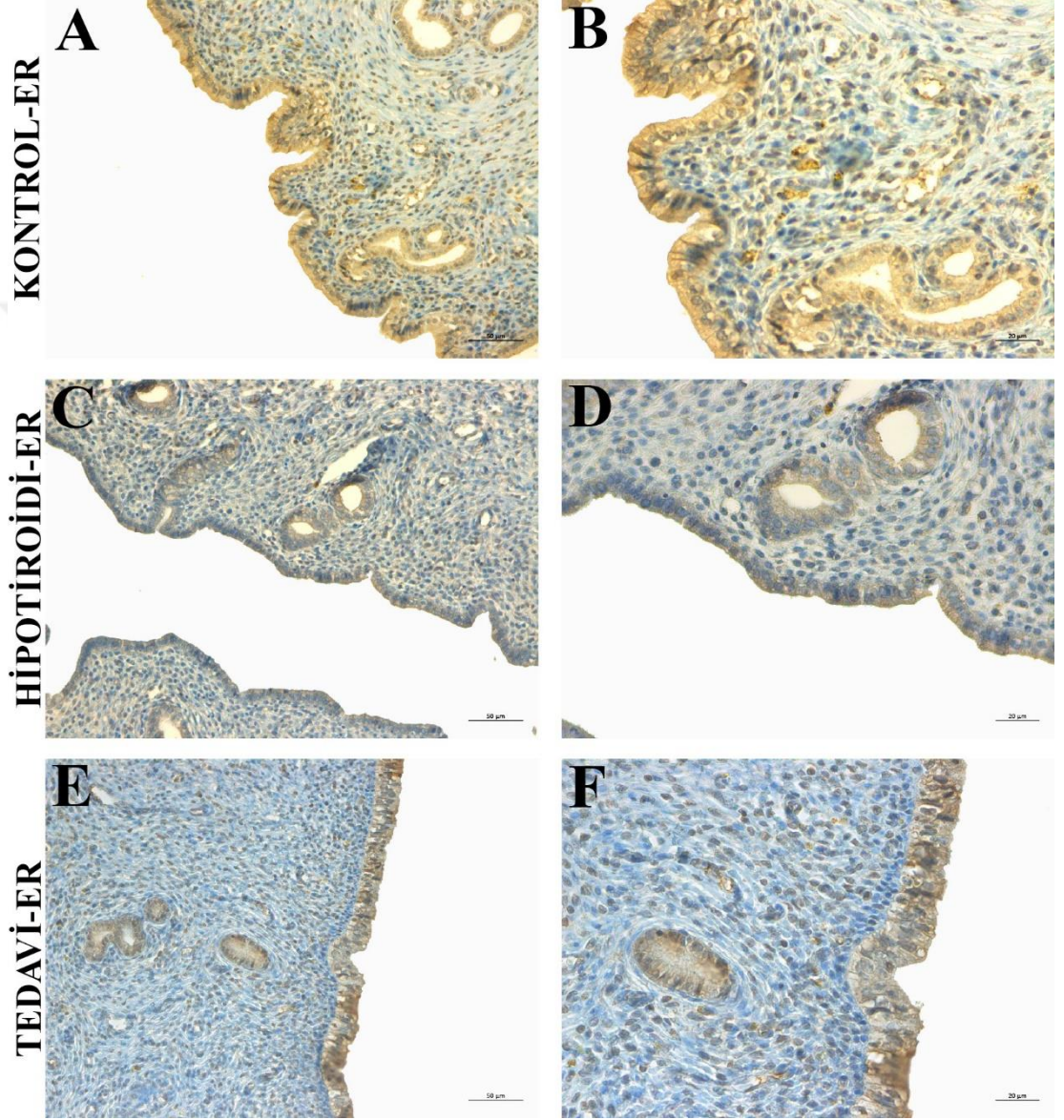
Şekil 4.15. İntegrin $\alpha\beta3$ immünohistokimyasal boyama bulguları (Büyütme: A, C, E: X200, B, D, F: X400. Boyama: Avidin-biotin Metot)

HOXA10 antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama neticesinde; Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında yoğun (+++) derecede immünpozitiflik görülürken, Hipotiroidi-ER grubunda ise immünnegatif (-) boyanma gözlemlendi (Şekil 4.16).



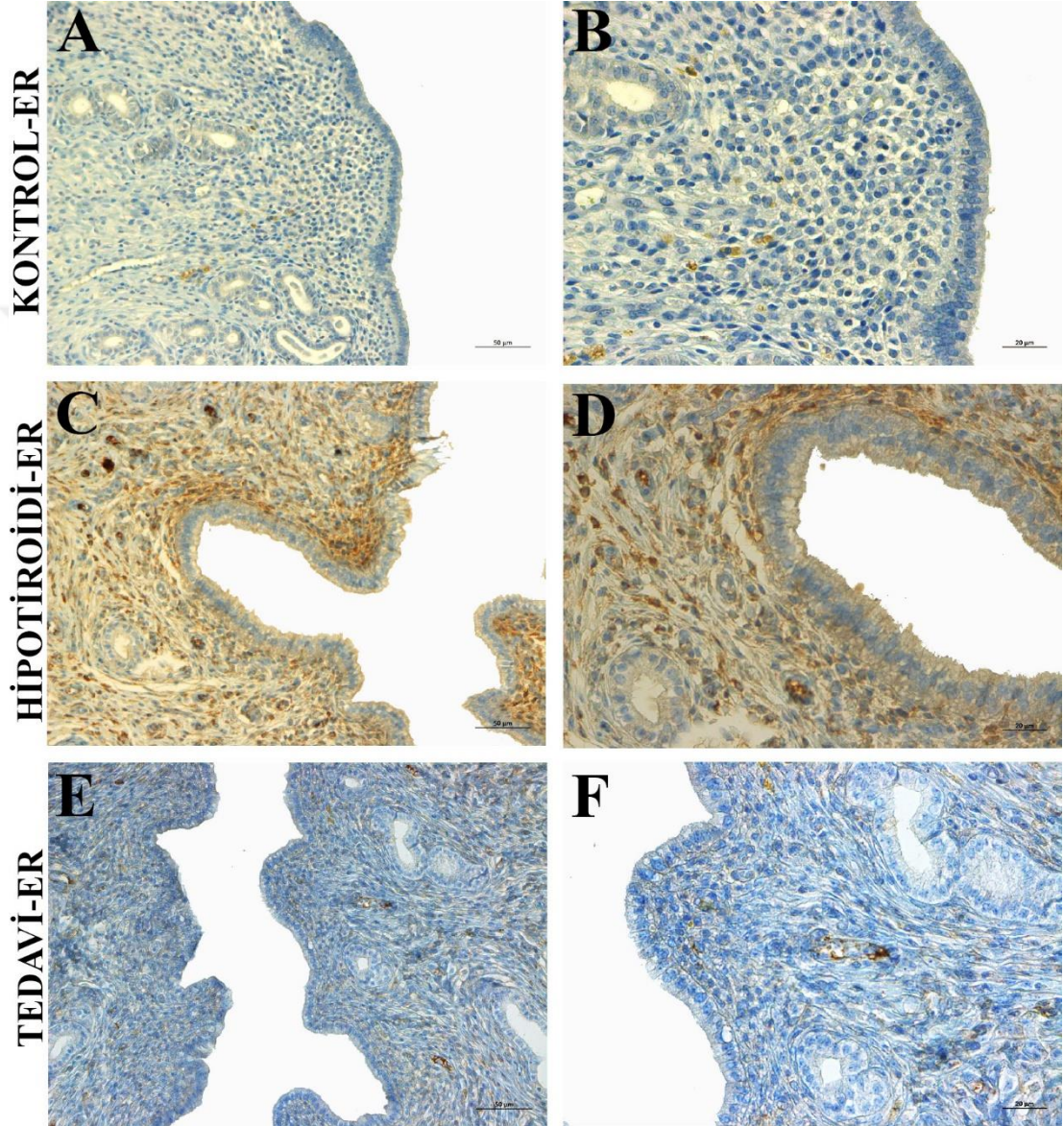
Şekil 4.16. HOXA10 immünohistokimyasal boyama bulguları (Büyütme: A, C, E: X200, B, D, F: X400. Boyama: Avidin-biotin Metot)

LIF antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama neticesinde; Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında yoğun (+++) derecede immünpozitif boyanma gözlenirken, Hipotiroidi-ER grubunda ise immünnegatif (-) boyanma gözlemlendi (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. LIF immünohistokimyasal boyama bulguları (Büyütme: A, C, E: X200, B, D, F: X400. Boyama: Avidin-biotin Metot)

MUC1 antikoruyla yapılan immünohistokimyasal boyama neticeside; Hipotiroidi-ER grubunda yoğun immünpozitiflik (+++) görülürken, Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında ise immünnegatif (-) boyanma görüldü (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. MUC1 immünohistokimyasal boyama bulguları (Büyütme: A, C, E: X200, B, D, F: X400. Boyama: Avidin-biotin Metot)

4.3. Biyokimyasal Bulgular

PTU ile hipotiroidizm oluşturulan dişi sıçanların serumlarında bakılan TSH, sT4, progesteron, östrojen (E2), FSH ve LH hormon düzeyleri Tablo 4.2.'de gösterildi. Tüm değerler ortalama ve standart hata olarak verildi ($\bar{x} \pm \text{SEM}$). Tablo 4.2'de verilen Kontrol-

ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarının serumlarındaki tüm parametrelerin değişimleri Şekil 4.16-4.21’de grafiksel olarak gösterildi.

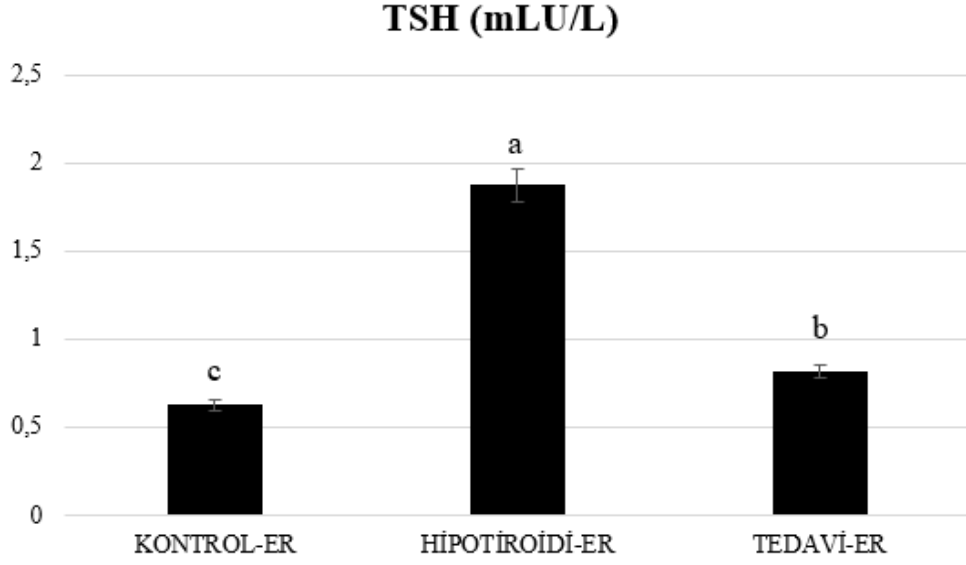
Tablo 4.2. Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarının serumlarındaki bazı biyokimyasal parametreler.

Gruplar	Kontrol-ER	Hipotiroidi-ER	Tedavi-ER	P Değeri
TSH	0.62 ±0.01 ^c	1.87 ±0.03 ^a	0.82 ±0.01 ^b	***
sT4	15.63 ±0.34 ^a	5.91 ±0.23 ^c	12.37 ±0.51 ^b	***
Progesteron	8.03 ± 0.21 ^c	14.87 ±0.18 ^a	11.15 ±0.11 ^b	***
Östrojen (E2)	63.21 ± 0.69 ^a	46.29 ±0.42 ^c	57.03 ±0.44 ^b	***
FSH	6.01 ± 0.22 ^a	3.70 ±0.12 ^c	4.83 ±0.23 ^b	***
LH	5.61 ±0.18 ^a	2.51 ±0.10 ^c	4.38 ±0.12 ^b	***

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 ve ^{a,b,c}: Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önem teşkil eder (p< 0.05) ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, n=10).

4.3.1. Serum TSH Düzeyleri

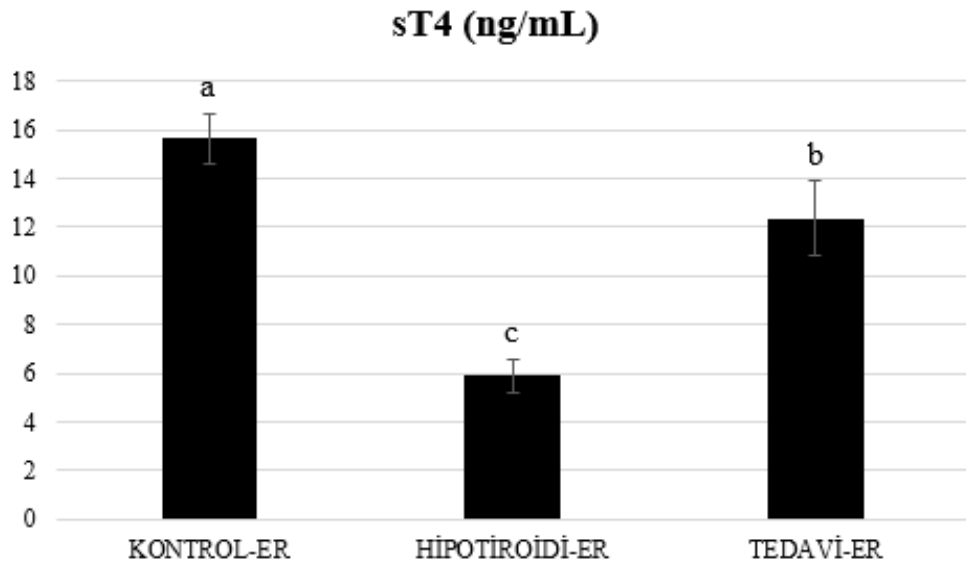
Serum TSH düzeyleri karşılaştırıldığında Hipotiroidi-ER grubunda TSH düzeyinin Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarına göre yükseldiği, Tedavi-ER grubunda ise Hipotiroidi-ER grubuna göre TSH düzeyinde azalmanın olduğu ve Kontrol-ER grubuna yaklaştığı belirlendi (p<0.001). Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarında sırasıyla TSH düzeyinin, 0.62, 1.87, 0.82 mLU/L olduğu ve bu farkın p<0.001 önem teşkil ettiği saptandı (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Serum TSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

4.3.2. Serum sT4 Düzeyleri

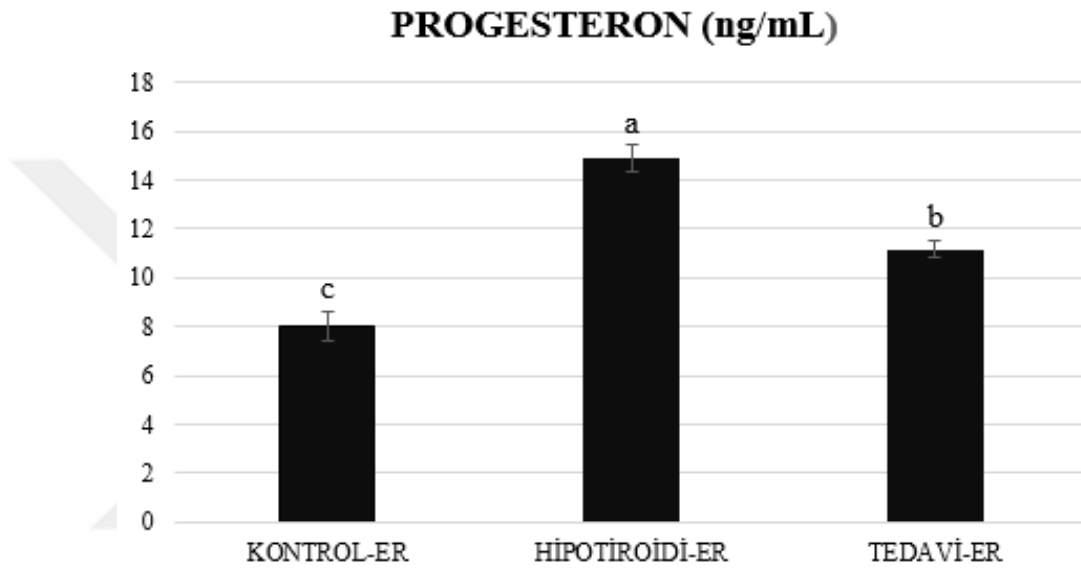
Hipotiroidi-ER grubunda tüm gruplara göre serum sT4 düzeyinde azalış tespit edilirken, Tedavi-ER grubunda Hipotiroidi-ER grubuna göre sT4 düzeyinde artışın olduğu belirlendi ($p<0.001$). Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarında sırasıyla sT4 düzeyinin, 15.63, 5.91 ve 12.37 ng/mL olduğu ve bu farkın $p<0.001$ önem teşkil ettiği saptandı (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Serum sT4 düzeylerinin gruplara göre dağılımı

4.3.3. Serum Progesteron Düzeyleri

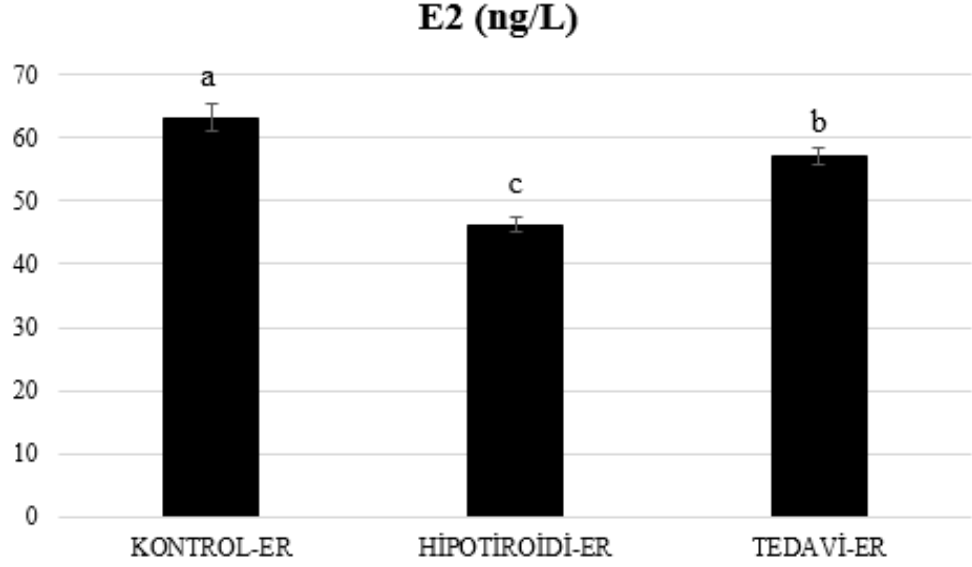
Hipotiroidi-ER grubunda tüm gruplara göre serum progesteron düzeyinde artış tespit edilirken, Tedavi-ER grubunda Hipotiroidi-ER grubuna göre progesteron düzeyinde azalış olduğu belirlendi ($p<0.001$). Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarında sırasıyla progesteron düzeyinin, 8.03, 14.87 ve 11.15 ng/mL olduğu ve bu farkın $p<0.001$ önem teşkil ettiği saptandı (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Serum progesteron düzeylerinin gruplara göre dağılımı

4.3.4. Serum Östrojen (E2) Düzeyleri

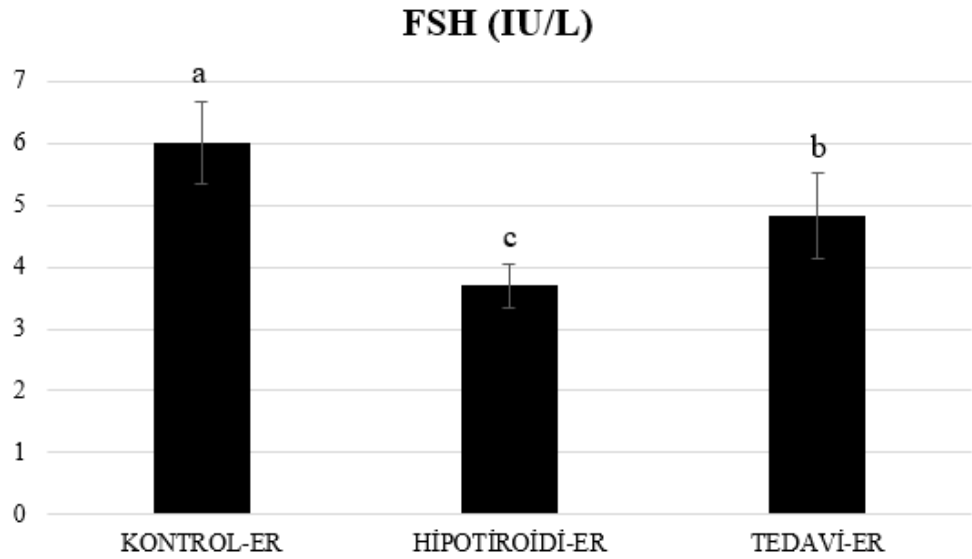
Hipotiroidi-ER grubunda tüm gruplara göre serum östrojen düzeyinde azalış tespit edilirken, Tedavi-ER grubunda Hipotiroidi-ER grubuna göre östrojen düzeyinde artış olduğu belirlendi ($p<0.001$). Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarında sırasıyla östrojen (E2) düzeyinin, 63.21, 46.29, 57.03 ng/L olduğu ve bu farkın $p<0.001$ önem teşkil ettiği saptandı (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Serum östrojen düzeylerinin gruplara göre dağılımı

4.3.5. Serum FSH Düzeyleri

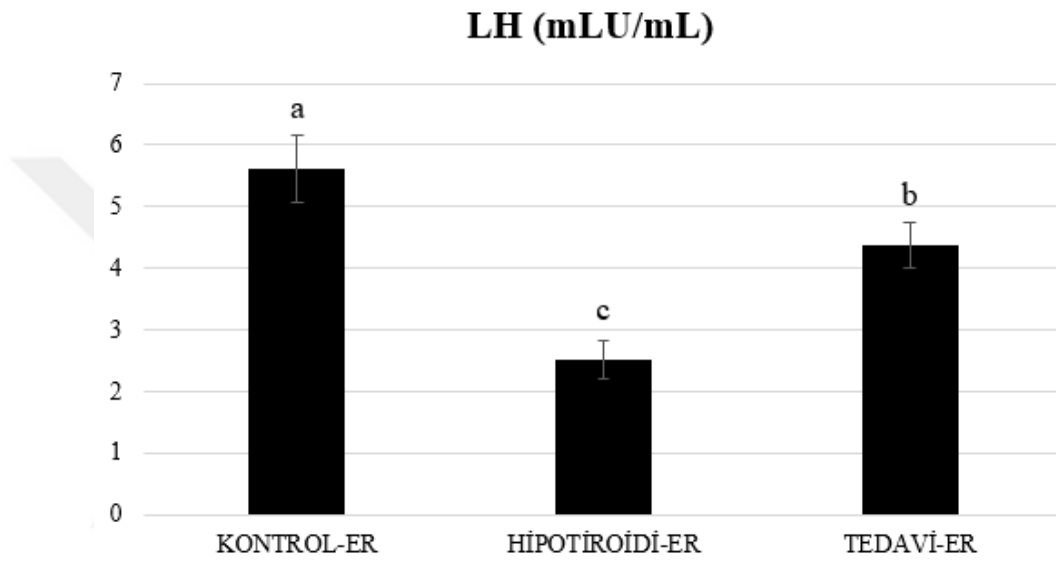
Hipotiroidi-ER grubunda tüm gruplara göre serum FSH düzeyinde azalış tespit edilirken, Tedavi-ER grubunda Hipotiroidi-ER grubuna göre FSH düzeyinde artış olduğu belirlendi ($p<0.001$). Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarında sırasıyla FSH düzeyinin, 6.01, 3.70, 4.83 IU/L olduğu ve bu farkın $p<0.001$ önem teşkil ettiği saptandı (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Serum FSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

4.3.6. Serum LH Düzeyleri

Hipotiroidi-ER grubunda tüm gruplara göre serum LH düzeyinde azalış tespit edilirken, Tedavi-ER grubunda Hipotiroidi-ER grubuna göre LH düzeyinde artış olduğu belirlendi ($p<0.001$). Kontrol-ER, Hipotiroidi-ER ve Tedavi-ER gruplarında sırasıyla LH düzeyinin, 5.61, 2.51, 4.38 mLU/mL olduğu ve bu farkın $p<0.001$ önem teşkil ettiği saptandı (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Serum LH düzeylerinin gruplara göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Tiroid hastalıkları bağırsaklar, beyin, kalp ve üreme sistemi gibi birçok sistem ve organa zarar vermektedir.¹⁵⁰ Tiroid bezi hastalıkları, üreme çağındaki kadınlarda oldukça fazla görülmektedir. Bu hastalık gebeliğin oluşumunu, gidişatını, fetüsü ve yeni doğanı etkileyebileceği gibi, gebelik de tiroid bezi hastalıklarının seyrini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.¹⁵¹⁻¹⁵³

Hipotiroidili kadınlarda anovulasyon sık bir şekilde görülmektedir. Tedavi olmamış hipotiroidili kadınlarda gebeliğin az olduğu belirtilmiştir. Gebe kalan hipotiroidi hastalarında ise düşük riski yüksektir. Tedavi edilmeyen hipotiroidi hastalarının gebelik dönemlerinde erken plasenta ayrılması, düşükler, ölü doğum, konjenital malformasyon, preeklampsi, postpartum kanama, düşük doğum ağırlığı ve fetal distres gibi ciddi problemler görülebilmektedir.^{154, 155}

Hipotiroidizm, tiroid hormonunun yetersizliğine bağlı olarak ya subklinik hipotiroidizm (normal serum T₄ ve yüksek serum TSH) veya klinik hipotiroidizm (serum T₄ düşük ve serum TSH yüksek) şeklinde tanımlanmaktadır.¹⁵⁶ Hipotiroidizm, gebe kalmamış sıçanların uterusunda spontan ritmik kasılmaların sıklığını azaltmaktadır. Hipotiroidili sıçanlarda miyometriyum ile endometriyumun hacimleri ve dolayısıyla uterus ağırlıkları da daha düşüktür.^{4, 157}

Mevcut çalışmamızda deney gruplarındaki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında; deney öncesinde gruplar arasında ağırlık değişimleri anlamlı bir farklılık göstermedi. Deney sonrasındaki gruplar arası değerlendirmede ise Kontrol-ER grubuna göre, Hipotiroidi-ER grubunda anlamlı bir düşme görülürken, Tedavi-ER grubunda da Hipotiroidi-ER grubuna kıyasla anlamlı bir artış olduğu ve değerlerin Kontrol-ER grubuna yaklaştığı tespit edildi. Mangge ve ark.¹⁵⁸ yapmış oldukları bir çalışmada, bizim bulgularımıza paralel şekilde PTU ile hipotiroidi oluşturdukları gruplarda, kontrol

grubuna göre ağırlık kaybı şekillendiğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada metabolizma ve büyümeyle ilgili subakut hipotiroidinin etkisi incelenmiş ve canlı ağırlık kaybı olduğu saptanmıştır.¹⁵⁹

İmplantasyonun gerçekleştiği en elverişli dönem endometriyal reseptivite dönemidir. Blastokist, endometriyumun morfolojik ve moleküler olarak değişikliğe uğradığı bu reseptif dönemde implante olabilir.²⁰ Endometriyal reseptivite esnasında uterusun özellikle endometriyum katmanında önemli biyokimyasal, morfolojik ve moleküler değişiklikler meydana gelmektedir. Endometriyal reseptiviteyle ilgili morfolojik biyobelirteçlerin en önemlisi pinopodlardır. Pinopodlar, menstrual siklusun 20-22. günleri arasında ortaya çıkarak implantasyonda görev almaktadır.¹⁶⁰ Bagot ve ark.¹⁶¹ yaptıkları bir çalışmada implantasyonu azalmış kadınlarda az sayıda pinopod oluştuğunu veya hiç pinopod oluşmadığını göstermiştir. Afami¹⁶² yaptığı bir çalışmada endometriyal reseptiviteyle alakalı birçok molekülün pinopodlarla bağlantılı olduğunu ve pinopodların uterus lümenindeki fazla sıvıyı azaltarak implantasyona yardımcı olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda yapılan histopatolojik incelemelerde Kontrol-ER grubuna ait uterus endometriyumunun lamina epitelyalis tabakasında bol miktarda pinopod oluşumu tespit edildi. Hipotiroidi-ER grubuna ait uterus dokularında yapılan histopatolojik inceleme sonucunda; endometriyumun lamina epitelyalis katmanında yaygın olarak vakuolizasyon ve dejenerasyon gözlenirken pinopod oluşumları gözlenmedi. Ayrıca Hipotiroidi-ER grubunda uterus bezlerinde genişlemeler ve bez epitellerinde dejenerasyon da tespit edildi. Tedavi-ER grubuna ait olan uterus dokularının histopatolojik incelemesi sonucunda ise; endometriyumun lamina epitelyalis tabakasında oluşan dejenerasyon ve vakuolizasyonların büyük oranda azaldığı ve pinopod oluşumlarının varlığı gözlemlendi. Kayhan⁸⁷ ratlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada bizim bulgularımıza paralel olarak hipotiroidi gruplarında uterus epitelinde vakuolizasyon ve

yoğun dejenerasyon olduğunu bildirmiştir. Haşimato tiroidi olan farelerde yapılan bir araştırmada da, uterus endometriyum tabakasının lamina epitelyalisinde pinopodların seyrek ve anormal şekilde olduğu tespit edilmiştir.¹⁶³

İntegrinler adezyon molekülleri olup endometriyumda bol miktarda bulunmaktadır. İmplantasyon, fertilizasyon ve ilk blastula oluşumunu içeren erken embriyonik olaylarda rol oynamaktadırlar.¹⁶⁴ İnsan, tavşan, fare, koyun ve sıçan gibi türlerin implantasyonu sırasında endometriyum ile embriyonik yüzeyde karakterize olurlar ve uterusun reseptivite belirteci olarak tanımlanmaktadırlar.¹⁶⁵ İntegrin $\beta 3$ ve integrin $\alpha \beta 3$ molekülleri endometriyal reseptiviteyle ilgili çalışmalarda destekleyici bulgu olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda implantasyon başarısızlıklarında bu moleküllerin önemli görevleri olduğu bildirilmiştir.^{14, 166} Mevcut çalışmamızda endometriyal reseptivite durumunu göstermek için integrin $\beta 3$ ve integrin $\alpha \beta 3$ molekülleri kullanıldı. İntegrin $\beta 3$ antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda; Kontrol-ER grubunda şiddetli (+++) immün pozitiflik, Hipotiroidi-ER grubunda immün negatif (-) boyanma görülürken, Tedavi-ER grubunda ise orta şiddetli (++) immün pozitiflik tespit edildi. İntegrin $\alpha \beta 3$ antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda ise; Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında immünpozitiflik hafif (+), Hipotiroidi-ER grubunda ise immün negatif (-) boyanma gözlemlendi. Wu ve ark.¹⁶³ Haşimato tiroidili farelerde yapmış oldukları çalışmada bizim bulgularımıza paralel olarak, haşimato tiroidi olan farelerin kontrol grubuna kıyasla integrin $\beta 3$ ekspresyon seviyelerinin azaldığını bildirmiştir. Yapılan bir çalışmada fertil ve infertil kadınlarda integrin $\alpha \beta 3$ 'ün immünohistokimyasal boyama sonuçları karşılaştırılmış ve infertil kadınlarda integrin $\alpha \beta 3$ ekspresyonunun ciddi şekilde azaldığı tespit edilmiştir.¹⁶⁷ Başka bir çalışmada nikotinin endometriyal reseptivite üzerindeki etkilerini göstermek için integrin $\beta 3$ seviyelerine bakılmıştır.¹⁴⁶ Bu çalışmaya benzer

şekilde Çekmez ve ark.¹⁶⁸ tarafından ratlar üzerinde yapılan bir araştırmada metoklopramid maruziyetinin endometrial reseptivite üzerindeki etkilerini göstermek için integrin $\beta 3$ biyomarkırı kullanılmış ve metoklopramid maruziyeti sonucunda endometrial epitel ve stroma integrin $\beta 3$ ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir.

Embriyonun implante olabilmesi için gerekli moleküllerden bir tanesi de HOXA10 transkripsiyon faktörüdür. HOXA10 molekülü uterus, endometriyum ve endometrial stroma tabakasının gelişiminde görev almaktadır. Bu molekülün salgılanması progesteron ve östrojen hormonları tarafından düzenlenmektedir. Ekspresyonu insanlarda endometriyumun hem stromal hem de epitelyal hücrelerinde menstrual siklus süresince devam etmekte olup, endometrial reseptivite döneminde pik yapmaktadır.¹⁶⁹ Bu durum HOXA10 geninin embriyo implantasyonunda görev alabileceğini ve endometrial reseptivite için muhtemel bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.¹⁷⁰ Araştırmamızda HOXA10 antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda; Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında şiddetli (+++) immün pozitiflik, Hipotiroidi-ER grubunda ise immün negatif (-) boyanma olduğu tespit edildi. Farelerde yapılan bir çalışmada HOXA10'un fertilite için önemli olduğu bildirilmiştir.¹⁷¹ Benzer şekilde PCOS vakalarının endometrial incelemesinde de HOXA10 gen ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir.¹⁷² Matsuzaki ve ark.¹³⁶ uterus miyomu, açıklanamayan infertilitesi ve endometriyozisi olan vakaların endometrial örneklerinde HOXA10 ekspresyonlarının tüm hasta gruplarında azaldığını ortaya koymuştur. Çalışmalarda HOXA10 antikorunun progesteron baskın dönemde, uterusun stromal hücrelerinin farklılaşmasında ve çoğalmasında görev alan genlerin indüklenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir.¹⁶

Lösemi inhibitör faktör (LIF), polifonksiyonel bir glikoprotein olan interlökin 6 ailesinin üyesi olup, embriyo implantasyonu için gerekli moleküllerden bir tanesidir.^{173,}

¹⁷⁴ Kan hücrelerinin farklılaşması için kemik iliğinde inhibitör olarak görev alan LIF'ın, blastokistte embriyonik kök hücrelerinin farklılaşmasında ve özellikle iç hücre kitlesinin düzenlenmesinde görev aldığı belirtilmiştir.¹⁷ LIF'ın implantasyondaki göreviyle ilgili ilk kanıt Steawart ve ark.¹⁷⁵ tarafından LIF eksikliği olan dişi farelerde embriyoların implante olamaması ve aynı fare modelinde LIF desteğiyle beraber implantasyon şekillenmesiyle elde edildi. Çalışmamızda LIF antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda; Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında şiddetli (+++) derecede immün pozitif boyanma, Hipotiroidi-ER grubunda ise immün negatif (-) boyanma olduğu tespit edildi. Wu ve ark.¹⁶³ haşimato tiroidili farelerde yapmış oldukları çalışmada, WB ve RT-PCR sonuçları bizim bulgularımıza benzer şekilde, haşimato tiroidili olan farelerin kontrol grubuna oranla LIF ekspresyon seviyelerinin azaldığını göstermektedir. Yapılan bir çalışmada açıklanamayan infertilite tanısı alan 25 kadın ile fertilitesi olan 20 kadının biyopsi örnekleri LIF ekspresyonu açısından karşılaştırılmış ve infertil grubun %12'sinde LIF ekspresyonu saptanırken, kontrol grubunun hepsinde LIF ekspresyonu olduğu bildirilmiştir.¹⁷⁶ Yine başka bir çalışmada Steck ve ark.¹⁷⁷ açıklanamayan infertilite ve tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları görülen kadınlarda LIF geni mutasyonunu göstermişlerdir. Serafini ve ark.¹⁷⁸ da microarray ve immünohistokimyasal yöntemleri kullanarak implantasyon penceresi esnasında daha zayıf LIF immünoreaktivitesi olan kadınlarda, daha yüksek ekspresyon gösteren kadınlara oranla hamilelik ihtimalinin düşük olduğunu saptamışlardır.

Çalışmamızda kullanılan bir diğer biyobelirteç de MUC1'dir. Müsinler, glikoprotein yapıda olup yüksek molekül ağırlığına sahiptir. Müsinler yüksek su tutma kapasitelerinden dolayı üreme, sindirim ve solunum sisteminin lümenli organlarının yüzeylerinde ortamı nemlendirmek ve kayganlaştırmak için salgılanmaktadır. MUC1 bu özelliklerinden ötürü anti-adeziv molekül olarak bilinmektedir. İnsanlarda 14'ten fazla

müsin çeşidi bilinmesine rağmen özellikle MUC1 endometriyum ile bağlantılıdır.¹⁷⁹ MUC1, endometriyumda kalın glikokaliks yapıda olup, embriyo implantasyonunda uterus için doğru yer ve zamanın ayarlanmasında görev almaktadır.^{18, 180} Mevcut çalışmamızda MUC1 antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda; Hipotiroidi-ER grubunda yoğun immün pozitiflik (+++), Kontrol-ER ve Tedavi-ER gruplarında ise immün negatif (-) boyanma tespit edildi. Yapılan bir çalışmada taramalı elektron mikroskobu ile endometriyal epitel üzerinde bulunan epitoplara araştırılmış ve pinopodlarda MUC1'in bulunmadığı saptanmıştır. Bu bilgi bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir.¹⁸¹ Yapılan başka bir çalışmada tekrarlayan gebelik kayıpları olan kadınların endometriyumlarında MUC1 ekspresyonlarında azalma gösterilmiştir.¹⁸² Bastu ve ark.¹⁸³ yaptıkları bir çalışmada implantasyon penceresi döneminde tekrar eden düşükler yapan fertil ve infertil kadınlarda MUC1 düzeylerini araştırmış ve sonuçta MUC1 düzeyinin tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda sağlıklılara göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermişlerdir. MUC1'in implantasyondaki kesin rolü hala tartışılıyor olsa da çok sayıda çalışma düşük MUC1 ekspresyonunun endometriyumun bozulmuş alıcılığı ile bağlantılı olduğunu bildirmiştir.^{102, 184, 185}

Hipotiroidi tanısı, genellikle serumda T4 ve T3 hormonlarının azalması, TSH hormonunun ise artması ve klinik bulgularla beraber konmaktadır.¹⁸⁶ Çalışmamızdaki deney gruplarında hormon seviyeleri biyokimyasal olarak değerlendirildiğinde; Hipotiroidi-ER grubunda TSH ve progesteron hormonlarının anlamlı derecede yüksek olduğu, sT4, östrojen (E2), FSH ve LH hormonlarının ise anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi. Tedavi-ER grubunda ise TSH ve progesteron hormonlarının Hipotiroidi-ER grubuna göre anlamlı düzeyde düştüğü, sT4, östrojen (E2), FSH ve LH hormonlarının ise anlamlı derecede yükseldiği belirlendi. Hatsuta ve ark.¹⁸⁷ yapmış oldukları bir çalışmada olgun dişi sıçanlarda hipotiroidizmin hormonlar üzerine etkilerini incelemiş ve PTU

grubunun progesteron seviyelerinde anlamlı bir artış olduğunu, hipotiroidili sıçanlarda LH seviyesinin anlamlı derecede düşük olduğunu, tiroidektomi grubunda östrojen (E2) ile FSH seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla düşme eğiliminde olduğunu fakat PTU uygulanan grupta FSH seviyesi ile kontrol grubu arasında fark olmadığını bildirmiştir. Nitekim Saleh'in de,¹⁸⁸ sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada deneysel hipotiroidi grubunun kontrol grubuna göre T3 ve T4 hormonlarının anlamlı derecede düşük, TSH hormonunun ise anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çalışma da bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir. Başka bir çalışmada ise hipotiroidi grubunun serum TSH düzeylerinin kontrol grubuna göre 10 kat fazla olduğu fakat serum LH, FSH, progesteron ve östrojen seviyelerinin kontrol grubuyla arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.⁷ Wei ve ark.¹⁸⁹ tiroid hormonlarının sıçanların yumurtalıklarında östrojen döngüsüne ve antioksidan duruma etkilerini inceledikleri çalışmalarında, hipotiroidi grubunda bizim bulgularımıza benzer şekilde T4, östrojen, FSH ve LH serum konsantrasyonlarının azaldığını, fakat serum progesteron seviyesinin de bizim bulgularımızdan farklı olarak azaldığını bildirmiştir. Salleh ve ark.⁹⁰ yaptıkları benzer bir çalışmada hipotiroidi oluşturulan gruplarda serum T4 seviyelerinin düştüğünü, serum östrojen (E2) seviyelerinde hafif düşme eğilimi görülürken anlamlı bir farklılık olmadığını, serum progesteron seviyelerinde ise anlamlı bir artışın olduğunu tespit etmişlerdir. Fedail ve ark.¹⁹⁰ yenidoğan ve olgunlaşmamış sıçanların yumurtalıklarının foliküler gelişiminde, tiroid hormonlarının rollerini incelediklerinde Hipotiroidi gruplarında T4 ve östrojen (E2) serum konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre azaldığını göstermiştir. Meng ve ark.¹⁹¹ uzun süreli hipotiroidizmlili sıçanlarda yumurta folikül rezervlerinin durumunu inceledikleri çalışmada hipotiroidi gruplarının serum TSH konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış şekillendiğini, serum T4, FSH ve LH hormon seviyelerinin ise anlamlı bir şekilde azaldığını gözlemlemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda dişi sıçanlarda oluşturulan deneysel hipotiroidinin endometriyal reseptivite üzerine olan etkileri histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak araştırıldı. Bu amaç ile Kontrol-ER grubu haricindeki diğer tüm gruplarda %0.05 PTU içme suyuna her gün taze olarak karıştırıldı ve 8 hafta süreyle uygulandı. Tedavi-ER grubuna ise bu 8 hafta sürenin sonunda oluşan hipotiroidinin tedavisi amacıyla L-tiroksin 0.8µg/100g dozunda subkutan yolla 10 gün süreyle uygulandı. İlaç uygulamaları sonunda endometriyal reseptivite modeli de uygulanan sıçanlardan deney sonunda elde ettiğimiz uterus dokularına, morfolojik ve histopatolojik olarak meydana gelen değişiklikleri incelemek amacıyla, üçlü boyama uygulandı. Histopatolojik bulgular değerlendirildi ve; Hipotiroidi-ER grubunda endometriyal hasarın göstergelerinden olan epitelyal dejenerasyon ve vakuolizasyon ile uterus bezlerinde genişlemeler ve morfolojik bozukluklar tespit edildi. Tedavi-ER grubunda ise hasar bulgularında önemli düzeyde iyileşmeler olduğu ve Kontrol-ER grubundaki görüntüye daha yakın bir morfolojide olduğu gözlemlendi. Ayrıca özellikle Kontrol-ER grubunda olmak üzere Tedavi-ER grubunda da uterus epitel yüzeyinde pinopod varlıkları belirgin olarak gözlemlendi. Ancak Hipotiroidi-ER grubunda pinopodlara neredeyse rastlanmadı. Endometriyal reseptivite ile ilişkili olan moleküler belirteçleri immünohistokimyasal olarak göstermek amacıyla integrin $\beta 3$, integrin $\alpha v\beta 3$, LIF, HOXA10 ve MUC1 antikorları kullanılarak boyamalar yapıldı. İmmünohistokimyasal boyama bulgularında; özellikle integrin $\beta 3$, integrin $\alpha v\beta 3$, LIF, HOXA10 antikorlarında immünpozitifliğin Hipotiroidi-ER grubunda azaldığı hatta immün negatif boyamaların olduğu gözlemlendi. Aksine MUC1 antikoruna ile yapılan boyamalarda ise Hipotiroidi-ER grubunda immünpozitifliğin belirgin şekilde arttığı tespit edildi. Tedavi-ER grubunda ise tüm antikorlardaki ekspresyon seviyesinin, Kontrol-ER

grubundaki düzeye yaklaşmış olduğu tespit edildi. Bu bulgular bize hipotiroidi olgusunun endometriyal reseptivitenin gelişimindeki negatif etkisini açıkça gösterdi.

Biyokimyasal analizlerin sonucunda ise; Hipotiroidi-ER grubunda serum TSH ve progesteron düzeylerinde anlamlı bir yükselme varken, östrojen (E2), progesteron, FSH ve LH seviyelerinde anlamlı bir düşme olduğu tespit edildi. Tedavi-ER grubunda ise tüm bu hormonların düzeyinde anlamlı bir iyileşme tespit edildi ve sonuçların Kontrol-ER grubundaki düzeylere yaklaştığı gözlemlendi. Bu sonuçlar bize dişilerde gözlenen hipotiroidi olgularında hormonal dengenin bozulduğunu ve endometriyal reseptivite üzerinde çok önemli etkileri olan bu hormonların seviyelerindeki anormalliklerin reseptif dönemi oldukça etkilediğini açıkça gösterdi.

Çalışmamızın sonunda elde ettiğimiz veriler deneysel hipotiroidi modelinde meydana gelen hasarların endometriyal reseptivite dönemi üzerinde oldukça etkili olduğunu ve bu durumun hipotiroidi tedavilerinin uygulanması ile normale döndürülebileceğini göstermiştir. Kısacası hipotiroidiye bağlı infertilite görülen bireylerde öncelikle hipotiroidi tedavisi yapılmasını aynı zamanda bu sorunun altında yatan moleküler ve biyokimyasal nedenlerin daha kapsamlı olarak araştırılmasını önermekteyiz. Bu noktada daha detaylı bilimsel araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Çelik Ö. *Yardımcı üreme teknikleri: Temel klinik ve embriyolojik uygulamalar*. Baskı. Nobel Kitabevi, 2011.
2. Speroff L, Fritz MA. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. Baskı. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
3. Unuane D, Poppe K. Female infertility: do we forget the thyroid? *Journal of endocrinological investigation*, 2015, 38: 571-574.
4. Dunn D, Turner C. Hypothyroidism in women. *Nursing for women's health*, 2016, 20: 93-98.
5. Boyar Hİ. Kadın infertilitesi ve endokrinolojik hastalıklar. *Dicle Tıp Dergisi*, 2013, 40: 700-703.
6. Panciera D, Purswell B, Kolster K. Effect of short-term hypothyroidism on reproduction in the bitch. *Theriogenology*, 2007, 68: 316-321.
7. Armada-Dias L, Carvalho J, Breitenbach M, Franci C, Moura E. Is the infertility in hypothyroidism mainly due to ovarian or pituitary functional changes? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2001, 34: 1209-1215.
8. Lutsyk A, Sogomonian E. Structural, functional, and lectin histochemical characteristics of rat ovaries and endometrium in experimental hyper-and hypothyroidism. *Folia histochemica et cytobiologica*, 2012, 50: 331-339.
9. Saran S, Gupta BS, Philip R, Singh KS, Bende SA, Agroiya P, Agrawal P. Effect of hypothyroidism on female reproductive hormones. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 2016, 20: 108.
10. Inuwa I, Williams M. A morphometric study on the endometrium of rat uterus in hypothyroid and thyroxine treated hypothyroid rats. *Upsala journal of medical sciences*, 2006, 111: 215-226.

11. Lessey BA. The role of the endometrium during embryo implantation. *Human reproduction (Oxford, England)*, 2000, 15: 39-50.
12. Narvekar SA, Gupta N, Shetty N, Kottur A, Srinivas M, Rao KA. Does local endometrial injury in the nontransfer cycle improve the IVF-ET outcome in the subsequent cycle in patients with previous unsuccessful IVF? A randomized controlled pilot study. *Journal of human reproductive sciences*, 2010, 3: 15.
13. Wang L, Qiao J, Li R, Zhen X, Liu Z. Role of endometrial blood flow assessment with color Doppler energy in predicting pregnancy outcome of IVF-ET cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2010, 8: 122.
14. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Human reproduction update*, 2006, 12: 731-746.
15. Cavagna M, Mantese J. Biomarkers of endometrial receptivity—a review. *Placenta*, 2003, 24: S39-S47.
16. Lim H, Ma L, Ma W-g, Maas RL, Dey SK. Hoxa-10 regulates uterine stromal cell responsiveness to progesterone during implantation and decidualization in the mouse. *Molecular endocrinology*, 1999, 13: 1005-1017.
17. Stewart CL. Leukaemia inhibitory factor and the regulation of blastocyst implantation. İçinde: *Endocrinology of Embryo-Endometrium Interactions*, Springer, 1994: 269-278.
18. Surveyor GA, Gendler SJ, Pemberton L, Das S, Chakraborty I, Julian J, Pimental R, Wegner C, Dey S, Carson D. Expression and steroid hormonal control of Muc-1 in the mouse uterus. *Endocrinology*, 1995, 136: 3639-3647.
19. Quaas A, Dokras A. Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Reviews in obstetrics and gynecology*, 2008, 1: 69.

20. Ghosh D, De P, Sengupta J. Luteal phase ovarian oestrogen is not essential for implantation and maintenance of pregnancy from surrogate embryo transfer in the rhesus monkey. *Human reproduction*, 1994, 9: 629-637.
21. Revel A. Defective endometrial receptivity. *Fertility and sterility*, 2012, 97: 1028-1032.
22. Abide Yayla C, Ozkaya E, Beydilli Nacak G, Sanverdi I, Devranoglu B, Bostanci Ergen E, Kilicci C, Kutlu T. High estrogen exposure may not be detrimental on endometrial receptivity in women with PCOS. *Gynecological Endocrinology*, 2018, 34: 798-803.
23. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi Ders Kitabı*. Baskı. Ankara, Güneş kitapevi, 2001.
24. Moore KL, Dalley AF, Şahinoğlu K. *Kliniğe Yönelik Anatomi*. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
25. Aktümsek A. *Anatomi ve Fizyoloji: (İnsan Biyolojisi)*. Baskı. Nobel Yayın Dağıtım, 2004.
26. Snell RS, Cumhuriyet M. *Klinik Anatomi: Resimlerle Zenginleştirilmiş Özet Sorular ve Açıklamaları*. Baskı. Palme Yayıncılık, 2003.
27. Pannu HK, Kaufman HS, Cundiff GW, Genadry R, Bluemke DA, Fishman EK. Dynamic MR imaging of pelvic organ prolapse: spectrum of abnormalities. *Radiographics*, 2000, 20: 1567-1582.
28. Pawlina W, Ross MH. *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. Baskı. Lippincott Williams & Wilkins, 2018.
29. Hebel R, Stromberg MW. *Anatomy and embryology of the laboratory rat*. Baskı. BioMed Verlag, 1986.

30. Drake RL, Vogl W, Mitchell AW, Gray H, Tibbitts RM, Richardson P, Horn A, Yıldırım M. *Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Gray's Anatomi*. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2007.
31. Yıldırım M. *Klinik Jinekoloji*. Baskı. Yargıçoğlu Yayınevi, 1985.
32. Standring S, Ellis H, Healy J, Johnson D, Williams A, Collins P, Wigley C. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis Of Clinical Practice. *American Journal of Neuroradiology*, 2005, 26: 2703.
33. Zhang X, Yamamoto N, Soramoto S, Takenaka I. Cisplatin-induced germ cell apoptosis in mouse testes. *Archives of andrology*, 2001, 46: 43-49.
34. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, Aytekin Y, Solakoğlu S. *Temel histoloji*. Baskı. Barış Kitabevi, 2009.
35. Ovalle WK, Netter FH, Chovan J, Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. *Netter Temel Histoloji*. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2009.
36. Kierszenbaum AL, Demir R. *Histoloji Ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş*. Baskı. Palme Yayıncılık, 2006.
37. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook Of Histology e-book*. Baskı. Elsevier Health Sciences, 2006.
38. Gray CA, Bartol FF, Tarleton BJ, Wiley AA, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE. Developmental biology of uterine glands. *Biology of reproduction*, 2001, 65: 1311-1323.
39. Burton G, Jauniaux E, Charnock-Jones D. Human early placental development: potential roles of the endometrial glands. *Placenta*, 2007, 28: S64-S69.
40. Ross MH, Pawlina, W. *Histoloji konu anlatımı ve atlas ilişkili hücre biyolojisi ve moleküler biyoloji ile. (Çev. B. Baykal)*. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2014.

41. Guyton AC, Hall JE, Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ, Aydın Z, Alican İ. *Tıbbi Fizyoloji*. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
42. Mülazımoğlu S, İde T, Aslan S. Ratlarda üreme. *Yücel O (Editör). Küçük deney hayvanlarından rat. Ankara: J Clin Anal Med*, 2012: 39-44.
43. Mendoza-Rodríguez CA, Merchant-Larios H, Segura-Valdez MdL, Moreno-Mendoza N, Cruz ME, Arteaga-López P, Camacho-Arroyo I, Dominguez R, Cerbón M. Expression of p53 in luminal and glandular epithelium during the growth and regression of rat uterus during the estrous cycle. *Molecular reproduction and development*, 2002, 61: 445-452.
44. Ekizceli G, İnan S, Öktem G, Onur E, Özbilgin K. Sıçanlarda Östrus Döngüsü ile İlişkili Ovaryum ve Uterusların Histolojik Değerlendirmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2015, 41: 65-72.
45. Orchard MD, Murphy CR. Alterations in tight junction molecules of uterine epithelial cells during early pregnancy in the rat. *Acta histochemica*, 2002, 104: 149-155.
46. Yener T, Turkkani Tunc A, Aslan H, Aytan H, Cantug Caliskan A. Determination of oestrous cycle of the rats by direct examination: how reliable? *Anatomia, histologia, embryologia*, 2007, 36: 75-77.
47. Çoban ZD, Güran Ş, Altaylı E, Kayır H, Baykal B. Farede östrus siklusu tayininde hızlı, kolay ve etkin bir yöntem. *Gulhane Medical Journal*, 2016, 58: 82-87.
48. Cora MC, Kooistra L, Travlos G. Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic pathology*, 2015, 43: 776-793.
49. Attar E, B A. Gomel'in Jinekolojisi. İçinde: İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri, 2007: 33-51.

50. Noyan A. *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*. Baskı. Palme Yayınevi, 1. Baskı, 2007.
51. Ackermann U, Yeğen B, Kurtel H, Alican İ. *Pdq Fizyoloji*. Baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2006.
52. Ganong W. *Tıbbi Fizyoloji (Türk Fizyolojik Bilimler Derneği)*. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitapevleri, 2002.
53. Berek JS, Rinehart RD, Erk A. *Novak Jinekoloji*. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi Ltd Şti, 2004.
54. Ganong W. *Tıbbi Fizyoloji, Cilt 1, 17. Baskı*. 1996.
55. Ganong WF. *Tıbbi Fizyoloji, 17. baskı*. Baskı. İstanbul, Barış Kitabevi, 1995.
56. Johnson LR. *Essential medical physiology*. Baskı. Elsevier, 2003.
57. Gray H, Standring S. *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice*. Baskı. Churchill Livingstone, 2008.
58. Moore KL, Dalley AF. *Clinically oriented anatomy*. Baskı. Wolters kluwer india Pvt Ltd, 2018.
59. Dumont JE, Maenhaut C, Christophe D, Vassart G, Roger PP. The phylogeny, ontogeny, anatomy and regulation of the iodine metabolizing thyroid. *Thyroid disease manager*, 2005, 1: 37-42.
60. Hadie S, Abdul Manan H, Abdulla S. Thyroid gland resection in euthanized rat. A practical guide. *Int Med J*, 2013, 20: 1-4.
61. Eroschenko VP, Di Fiore MS. *DiFiore's atlas of histology with functional correlations*. Baskı. Lippincott Williams & Wilkins, 2013.
62. Livolsi V. Developmental biology and anatomy of the thyroid, including the aberrant thyroid. *Surgical Pathology of the Thyroid*. Philadelphia, PA, USA: WB Saunders, 1990: 123-145.

63. Özata M. *Tiroid hastalıkları: tanı ve tedavisi*. Baskı. GATA Basımevi, 2003.
64. Dikmen N, Özgünen T. Harper'ın Biyokimyası, Nobel Tıp Kitapevleri. 2004.
65. Guyton AC, John E. Hall textbook of medical physiology. *Jackson, Mississippi: Saunders Elsevier*, 2011.
66. Baumgartner C, Blum MR, Rodondi N. Subclinical hypothyroidism: summary of evidence in 2014. *Swiss medical weekly*, 2014, 144: w14058.
67. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, Braverman LE. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2002, 87: 489-499.
68. Demir M, Yılmaz B. Endokrin Hastalıklar ve İnfertilite.
69. Wallach EE. The uterine factor in infertility. *Fertility and sterility*, 1972, 23: 138-158.
70. Cui W. Mother or nothing: the agony of infertility. *World Health Organization. Bulletin of the World Health Organization*, 2010, 88: 881.
71. Allan H, Mounce G. Managing infertility in primary care. *Practice Nursing*, 2015, 26: 440-443.
72. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertility and sterility* 1991, 56: 192-193.
73. Dunson DB, Baird DD, Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstetrics & Gynecology*, 2004, 103: 51-56.
74. Nailwal M, Chauhan JB. Azoospermia factor C subregion of the Y chromosome. *Journal of human reproductive sciences*, 2017, 10: 256.

75. Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürkan T, Önderoğlu L, Yaralı H, Yüce K. *Temel kadın hastalıkları ve doğum bilgisi*. Baskı. İstanbul, Güneş Tıp Kitabevi, 2008.
76. Speroff L, Fritz MA, Erk A, Günalp S, Bozdağ G. *Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite*. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2007.
77. Te Velde ER, Eijkemans R, Habbema H. Variation in couple fecundity and time to pregnancy, an essential concept in human reproduction. *The Lancet*, 2000, 355: 1928-1929.
78. Levi AJ, Raynault MF, Bergh PA, Drews MR, Miller BT, Scott Jr RT. Reproductive outcome in patients with diminished ovarian reserve. *Fertility and sterility* 2001, 76: 666-669.
79. Krausz C. Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 2011, 25: 271-285.
80. Krausz C, Escamilla AR, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. *Reproduction*, 2015, 150: R159-R174.
81. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, Krausz C, Infertility EWGoM. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. *European urology*, 2012, 62: 324-332.
82. Isaksson R, Tiitinen A. Obstetric outcome in patients with unexplained infertility, Comparison of treatment-related and spontaneous pregnancies. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 1998, 77: 849-853.
83. Guzick D, Sullivan M, Adamson GD, Cedars M, Falk R, Peterson E, Steinkampf M. Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertility and sterility* 1998, 70: 207-213.

84. Krassas G, Pontikides N, Kaltsas T, Papadopoulou P, Paunkovic J, Paunkovic N, H. Duntas L. Disturbances of menstruation in hypothyroidism. *Clinical endocrinology*, 1999, 50: 655-659.
85. Fritz MA, Speroff L. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. Baskı. lippincott Williams & wilkins, 2012.
86. Deniz R, Baykuş Y, Kavak EÇ. Tekrarlayan erken gebelik kayıplarına yaklaşım. *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*, 2016, 6: 130-137.
87. Kayhan HS. Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Uterus Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Gazi Üniversitesi, 2018.
88. Shan L, Zhou Y, Peng S, Wang X, Shan Z, Teng W. Implantation failure in rats with subclinical hypothyroidism is associated with LIF/STAT3 signaling. *Endocrine connections*, 2019, 8: 718-727.
89. Rodríguez-Castelán J, Del Moral-Morales A, Piña-Medina AG, Zepeda-Pérez D, Castillo-Romano M, Méndez-Tepepa M, Espindola-Lozano M, Camacho-Arroyo I, Cuevas-Romero E. Hypothyroidism induces uterine hyperplasia and inflammation related to sex hormone receptors expression in virgin rabbits. *Life sciences*, 2019, 230: 111-120.
90. Salleh N, Sayem ASM, Giribabu N, Khaing SL. Expression of proteins related to thyroid hormone function in the uterus is down-regulated at the day of implantation in hypothyroid pregnant rats. *Cell biology international*, 2019, 43: 486-494.
91. Halder J, Zhao X, Soker S, Paria B, Klagsbrun M, Das S, Dey S. Differential expression of VEGF isoforms and VEGF164-specific receptor neuropilin-1 in the mouse uterus suggests a role for VEGF164 in vascular permeability and angiogenesis during implantation. *Genesis*, 2000, 26: 213-224.
92. Yoshinaga K. Uterine receptivity for blastocyst implantation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 541: 424-431.

93. Nardo LG, Li T-C, Edwards RG. Introduction: human embryo implantation failure and recurrent miscarriage: basic science and clinical practice. *Reproductive biomedicine online*, 2006, 13: 11-12.
94. Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, Von Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Human reproduction update* 2006, 12: 617-630.
95. Maugey-Laulom B, Commenges-Ducos M, Jullien V, Papaxanthos-Roche A, Scotet V, Commenges D. Endometrial vascularity and ongoing pregnancy after IVF. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2002, 104: 137-143.
96. Bahar L, Baykal T. Endometriyal Reseptivitenin İmplantasyondaki Rolü. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2008, 1: 1-6.
97. Tu Z, Ran H, Zhang S, Xia G, Wang B, Wang H. Molecular determinants of uterine receptivity. *International Journal of Developmental Biology*, 2014, 58: 147-154.
98. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *American journal of obstetrics gynecology*, 1975, 122: 262-263.
99. Enders AC, Nelson DM. Pinocytotic activity of the uterus of the rat. *American Journal of Anatomy*, 1973, 138: 277-299.
100. Nardo L, Sabatini L, Rai R, Nardo F. Pinopode expression during human implantation. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2002, 101: 104-108.
101. Rarani FZ, Borhani F, Rashidi B. Endometrial pinopode biomarkers: Molecules and microRNAs. *Journal of cellular physiology*, 2018, 233: 9145-9158.
102. Xu B, Sun X, Li L, Wu L, Zhang A, Feng Y. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- $\beta 3$, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of

- women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Fertility and sterility*, 2012, 98: 389-395.
103. Hannan NJ, Salamonsen LA. Role of chemokines in the endometrium and in embryo implantation. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 2007, 19: 266-272.
104. Nikas G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Human Reproduction*, 1999, 14: 99-106.
105. Nikas G, Aghajanova L. Endometrial pinopodes: some more understanding on human implantation? *Reproductive biomedicine online*, 2002, 4: 18-23.
106. Psychoyos A, Nikas G. Uterine Pinopodes as Markers of Uterine Receptivity. 1994.
107. Nikas G, Psychoyos A. Uterine Pinopodes in Peri-implantation Human Endometrium Clinical Relevance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1997, 816: 129-142.
108. Barlow JZ, Huntley GW. Developmentally regulated expression of Thy-1 in structures of the mouse sensory-motor system. *Journal of Comparative Neurology*, 2000, 421: 215-233.
109. Ergüler G, Demir N, Demir R. Adezyon Moleküllerinin Yapısal Özellikleri Ve Fonksiyonları. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 2002, 22: 313-327.
110. Sakisaka T, Takai Y. Biology and pathology of nectins and nectin-like molecules. *Current opinion in cell biology*, 2004, 16: 513-521.
111. Haznedaroğlu I, Benekli M. Adezyon molekülleri. *Turkish J. Hematol. and Oncology*, 1998, 4: 252-254.
112. Hamutoğlu R, Kutlu BÖ, Dağdeviren T, Bulut HE. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığında hücre adezyon moleküllerinin rolü. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi*, 2018, 4: 27-36.

113. Kasper C, Rasmussen H, Kastrup JS, Ikemizu S, Jones EY, Berezin V, Bock E, Larsen IK. Structural basis of cell–cell adhesion by NCAM. *Nature Structural Biology*, 2000, 7: 389-393.
114. Bauer ME, Perks P, Lightman SL, Shanks N. Are adhesion molecules involved in stress-induced changes in lymphocyte distribution? *Life Sciences*, 2001, 69: 1167-1179.
115. Çavusoglu T, Uyanikgil Y, Kiliç K, Turgut M. Integrins as a critical target in determining metastasis and growth of brain tumor. *Brain Tumors Neurooncol*, 2016, 1: 105.
116. Apparao K, Murray MJ, Fritz MA, Meyer WR, Chambers AF, Truong PR, Lessey BA. Osteopontin and its receptor $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin are coexpressed in the human endometrium during the menstrual cycle but regulated differentially. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2001, 86: 4991-5000.
117. Lessey B, Damjanovich L, Coutifaris C, Castelbaum A, Albelda S, Buck C. Integrin adhesion molecules in the human endometrium. Correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. *The Journal of clinical investigation*, 1992, 90: 188-195.
118. Casals G, Ordi J, Creus M, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Balasch J. Osteopontin and $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin as markers of endometrial receptivity: the effect of different hormone therapies. *Reproductive biomedicine online*, 2010, 21: 349-359.
119. Ordi J, Creus M, Casamitjana R, Cardesa A, Vanrell JA, Balasch J. Endometrial pinopode and $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin expression is not impaired in infertile patients with endometriosis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2003, 20: 465-473.
120. Crockard A, Boylan M, McMillan S, Droogan A, Hawkins S. Methylprednisolone-induced neutrophil leukocytosis—down-modulation of neutrophil

L-selectin and Mac-1 expression and induction of granulocyte-colony stimulating factor. *International Journal of Clinical and Laboratory Research*, 1998, 28: 110-115.

121. Defrère S, Van Langendonckt A, Moulin P, Befahy P, Gonzalez D, Martinez-Madrid B, Dolmans MM, Donnez J. Human endometrial epithelial cells (EEC) constitutively express more intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 than endometrial stromal cells (ESC) in culture. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2005, 54: 5-12.

122. Alattia J-R, Tong KI, Takeichi M, Ikura M. Cadherins. İçinde: *Calcium-Binding Protein Protocols*, Springer, 2002: 199-210.

123. Terekeci H, Şahan B, Top C. *Hücre adezyon molekülleri*. Baskı. Nobel Med, 2008.

124. Foulk RA, Zdravkovic T, Genbacev O, Prakobphol A. Expression of L-selectin ligand MECA-79 as a predictive marker of human uterine receptivity. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2007, 24: 316-321.

125. Fukuda MN, Sugihara K. An integrated view of L-selectin and trophinin function in human embryo implantation. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2008, 34: 129-136.

126. Behar E, Chao NJ, Hiraki DD, Krishnaswamy S, Brown BW, Zehnder JL, Grumet FC. Polymorphism of adhesion molecule CD31 and its role in acute graft-versus-host disease. *New England Journal of Medicine*, 1996, 334: 286-291.

127. Fukuda MN, Sugihara K. Cell adhesion molecules in human embryo implantation. *Sheng Li Xue Bao*, 2012, 64: 247-258.

128. Shokrzadeh N, Alivand MR, Abedelahi A, Hessam Shariati MB, Niknafs B. Calcitonin administration improves endometrial receptivity via regulation of LIF, Muc-1 and microRNA Let-7a in mice. *Journal of cellular physiology*, 2019, 234: 12989-13000.

129. Linjawi S, Li T, Tuckerman E, Blakemore A, Laird S. Expression of interleukin-11 receptor α and interleukin-11 protein in the endometrium of normal fertile women and women with recurrent miscarriage. *Journal of reproductive immunology*, 2004, 64: 145-155.
130. Laird S, Tuckerman E, Li T. Cytokine expression in the endometrium of women with implantation failure and recurrent miscarriage. *Reproductive biomedicine online*, 2006, 13: 13-23.
131. Haddad-Filho J, Cedenho AP, Katz SG. Endometrial expression of IL-1RtI in patients undergoing miscarriage or unsuccessful IVF cycles. *Reproductive biomedicine online*, 2007, 14: 117-124.
132. Cullinan EB, Abbondanzo SJ, Anderson PS, Pollard JW, Lessey BA, Stewart CL. Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93: 3115-3120.
133. Dimitriadis E, Stoikos C, Stafford-Bell M, Clark I, Paiva P, Kovacs G, Salamonsen LA. Interleukin-11, IL-11 receptor α and leukemia inhibitory factor are dysregulated in endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window. *Journal of reproductive immunology*, 2006, 69: 53-64.
134. Dimitriadis E, White C, Jones R, Salamonsen L. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Human reproduction update*, 2005, 11: 613-630.
135. Cakmak H, Taylor HS. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Human reproduction update*, 2011, 17: 242-253.

136. Matsuzaki S, Canis M, Darcha C, Pouly J-L, Mage G. HOXA-10 expression in the mid-secretory endometrium of infertile patients with either endometriosis, uterine fibromas or unexplained infertility. *Human reproduction*, 2009, 24: 3180-3187.
137. de Ziegler D, Fanchin R, de Moustier B, Bulletti C. The hormonal control of endometrial receptivity: estrogen (E2) and progesterone. *Journal of reproductive immunology*, 1998, 39: 149-166.
138. de Ziegler D. Hormonal control of endometrial receptivity. *Human Reproduction*, 1995, 10: 4-7.
139. Ozturk S, Demir R. Particular functions of estrogen and progesterone in establishment of uterine receptivity and embryo implantation. *Histology and histopathology*, 2010.
140. Simon C, Domínguez F, Valbuena D, Pellicer A. The role of estrogen in uterine receptivity and blastocyst implantation. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2003, 14: 197-199.
141. Bhurke AS, Bagchi IC, Bagchi MK. Progesterone-regulated endometrial factors controlling implantation. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2016, 75: 237-245.
142. Westergaard L, Wiberg N, Andersen CY, Laursen S, Kliem A, Westergaard J, Teisner B. Circulating concentrations of placenta protein 14 during the natural menstrual cycle in women significantly reflect endometrial receptivity to implantation and pregnancy during successive assisted reproduction cycles. *Human reproduction (Oxford, England)*, 1998, 13: 2612-2619.
143. Cha J, Sun X, Dey SK. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nature medicine*, 2012, 18: 1754.

144. Moulakakis KG, Poulakou MV, Dosios T, Dontas I, Sokolis DP, VLACHOS IS, Safioleas MC, Papachristodoulou A, Karayannacos PE, Perrea DN. Hypothyroidism and the aorta. Evidence of increased oxidative DNA damage to the aorta of hypothyroid rats. *in vivo*, 2008, 22: 603-608.
145. Voipio H-M, Nevalainen T. Improved method for vaginal plug detection in rats. *Scand J Lab Anim Sci*, 1998, 25: 5-9.
146. Akpak YK, Çekmez Y, Erdoğan Çakır A, Karaca N, Batmaz G, Gülşen S, Tuştas Haberal E. An animal model of effects of nicotine exposure on endometrial receptivity and embryo implantation in pregnancy. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2017, 30: 2818-2823.
147. Sun J, Hui C, Xia T, Xu M, Deng D, Pan F, Wang Y. Effect of hypothyroidism on the hypothalamic–pituitary–ovarian axis and reproductive function of pregnant rats. *BMC endocrine disorders*, 2018, 18: 30.
148. Choudhury KR, Yagle KJ, Swanson PE, Krohn KA, Rajendran JG. A robust automated measure of average antibody staining in immunohistochemistry images. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2010, 58: 95-107.
149. Klein M, Vignaud J-M, Hennequin V, Toussaint B, Bresler L, Plenat F, Leclere J, Duprez A, Weryha G. Increased expression of the vascular endothelial growth factor is a pejorative prognosis marker in papillary thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2001, 86: 656-658.
150. Dittrich R, Beckmann MW, Oppelt PG, Hoffmann I, Lotz L, Kuwert T, Mueller A. Thyroid hormone receptors and reproduction. *Journal of reproductive immunology*, 2011, 90: 58-66.
151. Çakır N. Gebelik ve tiroid hastalıkları. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2003, 7: 053-057.

152. Alvarez-Dolado M, Cuadrado A, Navarro-Yubero C, Sonderegger P, Furley AJ, Bernal J, Muñoz A. Regulation of the L1 cell adhesion molecule by thyroid hormone in the developing brain. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 2000, 16: 499-514.
153. Legrand J. Effects of thyroid hormones on central nervous system development. *İçinde: Neurobehavioral teratology*, Elsevier Amsterdam, 1984: 331-363.
154. Smallridge RC, Ladenson PW. Hypothyroidism in pregnancy: consequences to neonatal health. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2001, 86: 2349-2353.
155. Montoro MN. Management of hypothyroidism during pregnancy. *Clinical obstetrics and gynecology*, 1997, 40: 65-80.
156. Teng W, Shan Z, Patil-Sisodia K, Cooper DS. Hypothyroidism in pregnancy. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 2013, 1: 228-237.
157. Parija SC, Raviprakash V, Telang AG, Varshney VP, Mishra SK. Influence of hypothyroid state on $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx and sensitivity of rat uterus to nifedipine and diltiazem. *European journal of pharmacology*, 2001, 421: 207-213.
158. Mangge H, Prüller F, Zelzer S, Ainödhofer H, Pailer S, Kieslinger P, Haybaeck J, Obermayer-Pietsch B, Cvirn G, Gruber H-J. Hypothyroidism Exacerbates Thrombophilia in Female Rats Fed with a High Fat Diet. *International journal of molecular sciences*, 2015, 16: 15776-15784.
159. Chang Y-J, Hwu C-M, Yeh C-C, Wang PS, Wang S-W. Effects of subacute hypothyroidism on metabolism and growth-related molecules. *Molecules*, 2014, 19: 11178-11195.
160. Bentin-Ley U. Relevance of endometrial pinopodes for human blastocyst implantation. *Human reproduction (Oxford, England)*, 2000, 15: 67-73.

161. Bagot CN, Kliman HJ, Taylor HS. Maternal Hoxa10 is required for pinopod formation in the development of mouse uterine receptivity to embryo implantation. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 2001, 222: 538-544.
162. Afami M. Identify and characterise stem cell population of the human endometrium. Lancaster University, 2015.
163. Wu Z, Cai Y, Xia Q, Liu T, Yang H, Wang F, Wang N, Yu Z, Yin C, Wang Q. Hashimoto's thyroiditis impairs embryo implantation by compromising endometrial morphology and receptivity markers in euthyroid mice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2019, 17: 1-13.
164. Bowen JA, Hunt JS. The role of integrins in reproduction. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine: Minireviews*, 2000, 223: 331-343.
165. Srinivasan KR, Blesson CS, Fatima I, Kitchlu S, Jain SK, Mehrotra PK, Dwivedi A. Expression of $\alpha V\beta 3$ integrin in rat endometrial epithelial cells and its functional role during implantation. *General and comparative endocrinology*, 2009, 160: 124-133.
166. Merviel P, Challier J-C, Carbillon L, Foidart J-M, Uzan S. The role of integrins in human embryo implantation. *Fetal diagnosis and therapy*, 2001, 16: 364-371.
167. Tei C, Maruyama T, Kuji N, Miyazaki T, Mikami M, Yoshimura Y. Reduced expression of $\alpha v\beta 3$ integrin in the endometrium of unexplained infertility patients with recurrent IVF-ET failures: improvement by danazol treatment. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 2003, 20: 13-20.
168. Çekmez Y, Korkmaz V, Çakır A, Göçmen A, Ergün Y, Gülşen S, Akpak YK. Does metoclopramide exposure alter endometrial receptivity and decrease pregnancy rates? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2016, 29: 2703-2706.

169. Taylor HS, Arici A, Olive D, Igarashi P. HOXA10 is expressed in response to sex steroids at the time of implantation in the human endometrium. *The Journal of clinical investigation*, 1998, 101: 1379-1384.
170. Gui Y, Zhang J, Yuan L, Lessey BA. Regulation of HOXA-10 and its expression in normal and abnormal endometrium. *Molecular human reproduction*, 1999, 5: 866-873.
171. Daftary GS, Taylor HS. Molecular markers of implantation: clinical implications. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 2001, 13: 269-274.
172. Cermik D, Selam B, Taylor HS. Regulation of HOXA-10 expression by testosterone in vitro and in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2003, 88: 238-243.
173. Bhatt H, Brunet LJ, Stewart CL. Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, 88: 11408-11412.
174. Stewart CL, Kaspar P, Brunet LJ, Bhatt H, Gadi I, Köntgen F, Abbondanzo SJ. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature*, 1992, 359: 76-79.
175. Stewart CL. The role of leukemia inhibitory factor (LIF) and other cytokines in regulating implantation in mammals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1994, 734: 157-165.
176. Tawfeek MA, Eid MA, Hasan AM, Mostafa M, El-Serogy HA. Assessment of leukemia inhibitory factor and glycoprotein 130 expression in endometrium and uterine flushing: a possible diagnostic tool for impaired fertility. *BMC women's health*, 2012, 12: 10.
177. Steck T, Giess R, Suetterlin MW, Bolland M, Wiest S, Poehls UG, Dietl J. Leukaemia inhibitory factor (LIF) gene mutations in women with unexplained infertility

and recurrent failure of implantation after IVF and embryo transfer. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2004, 112: 69-73.

178. Serafini PC, Silva ID, Smith GD, Motta EL, Rocha AM, Baracat EC. Endometrial claudin-4 and leukemia inhibitory factor are associated with assisted reproduction outcome. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2009, 7: 30.

179. Hey NA, Graham RA, Seif MW, Aplin JD. The polymorphic epithelial mucin MUC1 in human endometrium is regulated with maximal expression in the implantation phase. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1994, 78: 337-342.

180. Tabibzadeh S. Molecular control of the implantation window. *Human Reproduction Update*, 1998, 4: 465-471.

181. Horne AW, White JO, Lalani E-N, Mobberley MA, Margara RA, Trew GH, Ryder TA. Analysis of epitopes on endometrial epithelium by scanning immunoelectron microscopy. *Biochemical and biophysical research communications*, 2002, 292: 102-108.

182. Aplin J, Hey N, Li T. MUC1 as a cell surface and secretory component of endometrial epithelium: reduced levels in recurrent miscarriage. *American journal of reproductive immunology*, 1996, 35: 261-266.

183. Bastu E, Mutlu MF, Yasa C, Dural O, Aytan AN, Celik C, Buyru F, Yeh J. Role of Mucin 1 and Glycodelin A in recurrent implantation failure. *Fertility and sterility*, 2015, 103: 1059-1064. e1052.

184. Margarit L, Taylor A, Roberts M, Hopkins L, Davies C, Brenton A, Conlan R, Bunkheila A, Joels L, White J. MUC1 as a discriminator between endometrium from fertile and infertile patients with PCOS and endometriosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2010, 95: 5320-5329.

185. Horne A, Lalani EN, Margara R, Ryder T, Mobberley M, White J. The expression pattern of MUC1 glycoforms and other biomarkers of endometrial receptivity in fertile and infertile women. *Molecular reproduction and development*, 2005, 72: 216-229.
186. H Ü. *Hipotiroidizm. Tiroid Hastalıkları*. Baskı. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları 2000.
187. Hatsuta M, Abe K, Tamura K, Ryuno T, Watanabe G, Taya K, Kogo H. Effects of hypothyroidism on the estrous cycle and reproductive hormones in mature female rat. *European journal of pharmacology*, 2004, 486: 343-348.
188. Saleh AAS. Lipid profile and levels of homocysteine and total antioxidant capacity in plasma of rats with experimental thyroid disorders. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 2015, 72: 173-178.
189. Wei Q, Fedail JS, Kong L, Zheng K, Meng C, Fadlalla MB, Shi F. Thyroid hormones alter estrous cyclicity and antioxidative status in the ovaries of rats. *Animal Science Journal*, 2018, 89: 513-526.
190. Fedail JS, Zheng K, Wei Q, Kong L, Shi F. Roles of thyroid hormones in follicular development in the ovary of neonatal and immature rats. *Endocrine*, 2014, 46: 594-604.
191. Meng L, Rijntjes E, Swarts HJ, Keijer J, Teerds KJ. Prolonged hypothyroidism severely reduces ovarian follicular reserve in adult rats. *Journal of ovarian research*, 2017, 10: 19.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Elif ERBAŞ Doğum tarihi: 25 Nisan 1990 Doğum Yeri: Gölcük/KOCAELİ Medeni Hali: Evli Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Tel: 0544 877 64 91 Faks: - E-mail: eliferbas@atauni.edu.tr
Eğitim
Lise: Gölcük İhsaniye Anadolu Lisesi Lisans: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Yüksek lisans: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: YÖKDİL (2019 İlkbahar Dönemi 10.03.2019): 76.25 Almanca: - Rusça: -
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler
Yüzme, Doğa yürüyüşü, Seyahat

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Dr. Öğr. Üyesi Semin GEDİKLİ danışmanlığında sunulan “Deneyisel Hipotiroidi Oluşturulan Dişi Sıçanlarda Endometriyal Reseptivite Durumunun Analiz Edilmesi: Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal Çalışma” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	0	15
Genel Bilgiler	3	30
Materyal ve Metod	30	35
Bulgular	3	10
Tartışma	0	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 27/ 07/ 2020

Öğrenci Adı-Soyadı

İmza

Elif ERBAŞ

Danışman Adı-Soyadı

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Semin GEDİKLİ

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1800377606
Konu : HADYEK Kararı.

27.12.2018

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 27.11.2018 tarihli ve 36643897-000-E.1800339206 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 27.12.2018 tarih ve 13 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 224 no'lu kararı ile sözkonusu doktora tezi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Üniversitemiz Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr



1 / 2

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=8BAB1AE>

TOPLANTI TARİHİ : 27.12.2018

TOPLANTI SAYISI : 13

KARAR N0 224: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Veteriner Hekimliği Temel Bilimleri Bölümü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr.Öğr.Üyesi Semin GEDİKLİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **“Deneysel Hipotiroidi Oluşturulan Dişi Sıçanlarda Endometriyal Reseptivite Durumunun Analiz Edilmesi: Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal Çalışma”** isimli Arş.Gör.Elif ERBAŞ'ın doktora tezi çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 27.11.2018 tarih ve 36643897-000-E.1800339206 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen doktora tezi çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

