



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**DENEYSEL İNTRAUTERİN YAPIŞIKLIK MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARIN UTERUSUNDA
GHRELİN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Ebru EROĞLU

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

İzmir

2022

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**DENEYSEL İNTRAUTERİN YAPIŞIKLIK MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARIN UTERUSUNDA
GHRELİN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Ebru EROĞLU

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans**

**İzmir
2022**

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
(Danışman)
Üye : Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOğI
Üye : Doç. Dr. Türker AVUŞOğLU

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 22.12.2022

Önsöz

İki yıl önce ne istediğimi bilmediğim bir yolculuğa başladım ve bugün yüksek lisans eğitim sürecimi ne istediğimden emin bir şekilde tamamlamış bulunuyorum. Araştırma ve öğrenme güdüsüyle devam ettiğim bu yolda başarısızlıklar, vazgeçişler ve korkular yaşamış olsam da bugün tezimin bitmiş olduğunu gördüğümde, yaşananların tüm güçlüklerle bedel olduğunu fark ettim. Önümdeki uzun eğitim yolunda ileride yapmayı arzuladığım çalışmalarla hem ülkemize hem de uluslararası bilim camiasına kıymetli katkılar sunabilmeyi umuyorum. İki yıllık zorlu sürecin sonunda şu an masamın üzerinde duran bu tez çalışmasının, içinde bugünlerimizi ve yarınlarımızı aydınlatma coşkusu taşıyan herkese ümit olmasını dilerim. Daha güzel yarınlara, bilime adanmış hayatlara, genç bilim insanlarına, sevdiğime ve kendime en iyisini yapana kadar çalışma sözüyle.

Bu tez çalışması Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'nün maddi desteği ile hazırlanmıştır. Projenin takip numarası TYL-2022-23718'dir.

İzmir, 09.12.2022

Ebru EROĞLU

Özet

Deneysel İntrauterin Yapışıklık Modeli Oluşturulan Sıçanların Uterusunda Ghrelin Etkilerinin İncelenmesi

İntrauterin adezyon östrus siklusta düzensizlik, akut alt karın ağrısı, tekrarlayangebelik kayıpları ve infertilite gibi etkileri olan bir hastalıktır. İntrauterin adezyonların rutin bir tedavi protokolü ve nüksünün önlenmesinde standart bir uygulama mevcut değildir. Ghrelin, midede endokrin X (A) hücreleri tarafından salgılanan 28 aminoasitlik peptit bir hormondur. Ghrelin, pek çok nörolojik ve fizyolojik süreçte rol üstlenmektedir. Bu rollerine ek olarak, çeşitli organ sistemlerinde immünmodülatör, antiinflamatuvar, antifibrotik ve antioksidan etkiler gösterdiği bilinmektedir. Deneysel intrauterin adezyon modeli oluşturulan sıçanlarda ghrelin etkinliğinin histolojik olarak değerlendirilmesi temel amaçtır.

Çalışmada; kontrol, intrauterin adezyon modeli, düşük doz ghrelin ve yüksek doz ghrelin uygulaması yapılan, toplam dört gruba ayrılan 28 adet dişi sıçan kullanılmıştır. Menstrüal siklusları eşitlenen sıçanlarda deney modeli oluşturmak için sağ uterus boynuza 20 G branül ile transvajinal 0,2 ml trikloroasetik asit enjeksiyonu yapılmıştır. Üç östrus siklus sonra sıçanlara 20 ng/kg ve 40 ng/kg dozunda ghrelin i.p. olarak 7 gün boyunca enjekte edilmiştir. Deney sonunda anestezi altında sakrifiye edilen dişi sıçanların uterus dokuları rutin histolojik takibe alınmıştır. Uterus dokularının histokimyasal incelemeleri için; Hematoksilen-Eosin ve Masson trikrom boyamaları, immünohistokimyasal incelemeler için; anti-VEGF, anti-kolajen 1, anti-TNF α , anti-FGF2 ve anti-HIF-1 α belirteçleri kullanılmıştır.

Sıçanlarda ghrelin uygulaması sonrası kilo alımı incelendiğinde 5. gün ve sonrasında günler arası tüm ikili farkların anlamlı olduğu ve deneklerde ağırlık artışı olduğu belirlendi ($p<0,001$). Uterus duvar kalınlığı ve endometriyum kalınlık ölçümleri yapıldı. Adezyon grubunda duvar kalınlığının en düşük olduğu saptandı ve ghrelin uygulamasının endometriyum kalınlığını arttırdığı saptandı ($p<0,001$). Histopatolojik olarak adezyon grubunda epitel değişikliği, lümende daralma, endometriyal bağ dokusunda inflamasyon ve fibrozis, uterinal bezlerde de dejenerasyon saptandı. Ghrelin tedavisinin bu bulguları geriye çevirdiği saptandı. İmmünohistokimyasal boyama sonuçlarında ise adezyon gruplarında tip 1 kolajen, TNF α , HIF-1 α ve FGF2 ekspresyonunun deney grupları arasında en yüksek seviyede olduğu görüldü. Ghrelin

gruplarında doz bağımlı olarak bu ekspresyonların azaldığı saptandı. VEGF ekspresyonu ise adezyon grubunda en düşük seviyede olduğu görülürken, ghrelin gruplarında doz bağımlı olarak ekspresyonun arttığı saptandı.

Sonuç olarak ghrelinin intrauterin adezyonların tedavisinde olumlu etkiler gösterdiği görülmüştür. Bu konuda yapılacak ileri deneysel ve klinik çalışmalar ghrelinin intrauterin adezyon tedavisinde kullanımı ile ilgili yeni gelişmelere ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: İntrauterin adezyon; Uterus; Ghrelin; İmmünohistokimya; Sıçan



Abstract

Investigation of Ghrelin Effects in Uterus of Rats with Experimental Intrauterine Adhesion Model

Intrauterine adhesion is a disease with effects such as irregularity in the estrous cycle, acute lower abdominal pain, recurrent pregnancy loss and infertility. There is no routine treatment protocol for intrauterine adhesions and no standard practice for the prevention of recurrence. Ghrelin that has a role in various neurological and physiological processes, controls hunger and metabolic regulation, is a 28 amino acid peptide hormone secreted by endocrine X (A) cells in the stomach. Ghrelin plays a role in many neurological and physiological processes. In addition to these roles, it is known to have immunomodulatory, anti-inflammatory, antifibrotic and antioxidant effects in various organ systems. Histological evaluation of ghrelin activity in rats with experimental intrauterine adhesion model is the main aim of the present study.

In the study; A total of 28 female rats, which were divided into four groups, were used as control, intrauterine adhesion model, low-dose ghrelin and high-dose ghrelin administration. To create an experimental model in rats whose menstrual cycles were equalized, 20 G branula and 0.2 ml of trichloroacetic acid were injected transvaginally into the right uterine horn. After three oestrus cycles, ghrelin was administered i.p. to rats at 20 ng/kg and 40 ng/kg, and injected for 7 days. At the end of the experiment, the uterine tissues of female rats sacrificed under anesthesia were routinely followed histologically. . For histochemical examinations of uterine tissues, Hematoxylin and Eosin and Masson trichrome stainings were performed, while Anti-VEGF, anti-collagen 1, anti-TNF α , anti-FGF2 and anti-HIF-1 α markers were used for immunohistochemical examinations.

When weight gain after ghrelin administration in rats was examined, it was determined that all bilateral differences between days were significant and weight gain was observed in the 5th day and later ($p < 0.001$). As a result of the measurement of wall and endometrium thicknesses, it was determined that the wall thickness was the lowest in the adhesion group, and it was determined that ghrelin application increased the endometrial thickness ($p < 0.001$). Histopathologically, epithelial changes, narrowing of the lumen, inflammation and fibrosis in the endometrial connective tissue, and degeneration in the uterine glands were detected in the adhesion group. It was found

that ghrelin treatment reversed these findings. In the immunohistochemical staining results, it was observed that the expression of type 1 collagen, TNF α , HIF-1 α and FGF2 in the adhesion groups was the highest among the experimental groups. It was determined that these expressions were decreased in a dose-dependent manner in the ghrelin groups. While VEGF expression was observed to be at the lowest level in the adhesion group, it was determined that the expression increased in a dose-dependent manner in the ghrelin groups.

As a result, it has been observed that ghrelin has positive effects in the treatment of intrauterine adhesions. Further experimental and clinical studies on this subject will shed light on new developments regarding the use of ghrelin in the treatment of intrauterine adhesions.

Keywords: Intrauterine adhesion; Uterus; Ghrelin; Immunohistochemistry; Rat

İçindekiler

Önsöz	II
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini.....	X
Şekiller Dizini	XI
Grafikler Dizini	XIII
Kısaltma Listesi	XIV
Giriş	
1.1. Araştırmanın Problemi	2
1.2. Araştırmanın Sorusu	2
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	2
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	3
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	3
1.6. Araştırmanın Amacı	3
Genel Bilgiler	5
2.1. Uterus	5
2.1.1. Uterus Embriyolojisi.....	5
2.1.2. Uterus Histolojisi.....	5
2.1.3. Anatomik Genel Bakış	6
2.1.4. Uterus Damarlanması.....	6
2.2. İntrauterin Adezyon	7
2.2.1. Sınıflandırılması.....	8
2.2.2. Adezyon Oluşum Mekanizması	8
2.2.3. Adezyon Tedavi ve Önleme Stratejileri	9
2.2.3.1. Genel Prensipler	9
2.2.3.2. Cerrahi Teknikler	9
2.2.3.3. Mekanik Bariyerler	10
2.2.3.4. Kimyasal Ajanlar	10
2.3. TCA	10
2.4. Ghrelin	11
2.4.1. Etki Mekanizması	12

2.4.2.	Tıpta Kullanım Alanları.....	13
2.4.3.	Deneyisel Çalışmada Kullanım Nedenleri	13
	Gereç ve Yöntem	14
3.1.	Deney Hayvanları.....	15
3.2.	Deney Hayvanlarının Hazırlığı.....	15
3.2.1.	Sıçanlarda Vajinal Sitoloji	16
3.3.	İnceleme Prosedürü	17
3.4.	Radyolojik Görüntüleme İçin Sıçanların Hazırlanması	17
3.4.1.	Radyografik Uygulama	18
3.5.	Model Oluşturulması	19
3.6.	Ghrelinin Hazırlanması.....	20
3.7.	Deney Gruplarının Oluşturulması	22
3.8.	Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimleri	23
3.9.	Işık Mikroskopik Analiz.....	24
3.9.1.	Doku Takibi.....	24
3.9.2.	Histokimyasal Boyama	25
3.9.2.1.	Hematoksilen-Eozin.....	25
3.9.2.2.	Masson Trikrom.....	27
3.9.3.	İmmünohistokimyasal Boyamalar	28
3.9.3.1.	Kullanılan İHC belirteçleri	29
3.9.3.1.1.	VEGF	29
3.9.3.1.2.	Kolajen 1.....	29
3.9.3.1.3.	TNF α	29
3.9.3.1.4.	HIF-1 α	29
3.9.3.1.5.	FGF2	30
3.10.	H-Skor (Histolojik Skor)	32
3.11.	İstatistiksel Yöntem	32
	Bulgular.....	33
4.1.	Vajinal Sitolojik Bulgular	33
4.2.	Radyolojik Görüntüleme.....	34
4.3.	Genel Değerlendirme	35
4.4.	Deney Süresince Sıçanlardaki Ortalama Ağırlık Değişimi.....	36
4.5.	Uterus Duvar Kalınlığı Ölçümleri ve İstatistiksel Değerlendirmesi.....	39
4.6.	Endometriyum Kalınlığı Ölçümleri ve İstatistiksel Değerlendirmesi... 41	

4.7.	Histokimyasal Bulgular	43
4.7.1.	Hematoksilen-Eozin Boyama	43
4.7.1.1.	Deney Gruplarında İnflamasyon Bulgusunun Karşılaştırılması.....	45
4.7.2.	Masson Trikrom.....	47
4.7.2.1.	Deney Gruplarında Fibrozis Bulgusunun Karşılaştırılması	48
4.8.	İmmünohistokimyasal bulgular.....	50
4.8.1.	Anti-VEGF.....	50
4.8.1.1.	Deney Gruplarında VEGF Ekspresyonunun Karşılaştırılması.....	52
4.8.2.	Anti-kolajen 1	54
4.8.2.1.	Deney Gruplarında Tip 1 Kolajen Ekspresyonunun Karşılaştırılması	55
4.8.3.	Anti-TNFα	57
4.8.3.1.	Deney Gruplarında TNFα Ekspresyonunun Karşılaştırılması.....	58
4.8.4.	Anti-HIF-1α	60
4.8.4.1.	Deney Gruplarında HIF-1α Ekspresyonunun Karşılaştırılması	61
4.8.5.	Anti-FGF2.....	63
4.8.5.1.	Deney Gruplarında FGF2 Ekspresyonunun Karşılaştırılması.....	64
	Tartışma	66
	Sonuç ve Öneriler	79
	Kaynaklar	81
	Ekler
	Teşekkür
	Özgeçmiş

Tablolar Dizini

Tablo 1. Çalışmada kullanılan malzemelerin listesi.....	14
Tablo 2. Hematoksilen-Eozin boyama aşamaları.....	25
Tablo 3. Masson Trikrom Boyama Protokolü.....	27
Tablo 4. İHC boyama aşamaları.....	28
Tablo 5. Deney hayvanlarının ağırlık değişimi tablosu.	37
Tablo 6. Ghrelin (20 ng) grubu için günler arası ikili karşılaştırma sonucunda elde edilen p değerleri.....	38
Tablo 7. Ghrelin (40 ng) grubu için günler arası ikili karşılaştırma sonucunda elde edilen p değerleri.....	38
Tablo 8. Deney gruplarının kilo değişimlerinin ikili karşılaştırılmaları.	38
Tablo 9. Uterus duvar kalınlıklarının istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması. ..	40
Tablo 10. Endometriyum kalınlıklarının istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.	42
Tablo 11. İnflamasyon istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.....	46
Tablo 12. Ortalama fibrozis düzeyleri ortanca, minimum ve maksimum değerleri ve gruplar arası ikili karşılaştırmalar	49
Tablo 13. VEGF istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.	53
Tablo 14. Tip 1 kolajen istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.....	56
Tablo 15. TNF α istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.	59
Tablo 16. HIF-1 α istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.	62
Tablo 17. Ortalama FGF2 ekspresyon düzeylerinin ortanca, minimum ve maksimum değerleri ve gruplar arası ikili karşılaştırmalar	65

Şekiller Dizini

Şekil 1. Deney hayvanlarının kafesleri ve bakımı için ayrılan birim.....	15
Şekil 2. Dişi sıçan genital sisteminin şematik görüntüsü	17
Şekil 3. Deneyde kullanılan radyopak solüsyon.	18
Şekil 4. Radyografik görüntüleme için kullanılan sistem.	18
Şekil 5. Deneysel İUA modeli oluşturmak için kullanılan TCA solüsyonu (İL-33) ve 20 gauge branül.	19
Şekil 6. Deney hayvanlarına yapılan transvajinal TCA enjeksiyonu.	19
Şekil 7. Çalışmanın etken maddesi ghrelinin enjeksiyon için hazırlanma aşamaları. 20	
Şekil 8. Deney hayvanlarına yapılan i.p. ghrelin enjeksiyonu	21
Şekil 9. Çalışmada yapılan işlemleri özetleyen şematik görsel.....	22
Şekil 10. Sakrifikasyona hazırlık aşaması ve operasyon ortamı	23
Şekil 11. Leica RM 2145 mikrotom ve su banyosu.	24
Şekil 12. Histolojik analizler için kullanılan Hematoksilen-Eozin boya seti.....	26
Şekil 13. Histolojik analizler için kullanılan Masson trikrom boya seti	27
Şekil 14. İmmünohistokimyasal çalışmalarda kullanılan antikorlar.	30
Şekil 15. Olympus BX-51 binoküler ışık mikroskobuna entegre Olympus DP72 renkli dijital kamera ve CellSens Entry 1.7 görüntüleme yazılım programı	31
Şekil 16. Östrus döngüsünü belirlemek için seçilen temsili örnekler. Giemsa boyama, x20 büyütme	33
Şekil 17. Transvajinal girişim uygulanan sıçan uterusunun tayininde kullanılan X-Ray radyografisi	34
Şekil 18. Sakrifikasyon sırasında uterus dokularının makroskobik görünümü.....	35
Şekil 19. Uterus duvar kalınlığı ölçümlerinde randomize 5 farklı alandan alınan ölçümlere örnekler	39
Şekil 20. Endometriyum kalınlığı ölçümlerinde randomize 5 farklı alandan alınan ölçümlere örnekler.....	41
Şekil 21. Uterus dokusu histolojik görünümü. Hematoksilen-Eozin ile boyanması.	43
Şekil 22. Uterus dokusu histolojik görünümü. Masson trikrom (with aniline blue) ile boyanması	47
Şekil 23. Uterus dokusunun anti-VEGF ile İHC boyanması.	50
Şekil 24. Uterus dokusunun anti-kolajen 1 ile İHC boyanması.	54

Şekil 25. Uterus dokusunun anti-TNF α ile İHC boyanması.	57
Şekil 26. Uterus dokusunun anti-HIF-1 α ile İHC boyanması.	60
Şekil 27. Uterus dokusunun anti-FGF2 ile İHC boyanması.	63



Grafikler Dizini

Grafik 1. Deney hayvanlarının ağırlık değişimleri.	36
Grafik 2. Gruplar arası uterus dokularının ortalama duvar kalınlığı.....	40
Grafik 3. Gruplar arası ortalama endometriyum kalınlığı.....	42
Grafik 4. İnflamasyonun skor dağılımları.....	45
Grafik 5. Ortalama inflamasyon skorlarının gruplara özel istatistikleri.	46
Grafik 6. Fibrozis yüzdesi skor dağılımları.....	48
Grafik 7. Ortalama fibrozis skorlarının gruplara özel istatistikleri.	49
Grafik 8. VEGF ekspresyonunun skor dağılımları.	52
Grafik 9. Ortalama VEGF skorlamaları.	53
Grafik 10. Tip 1 kolajen ekspresyonu skor dağılımları.....	55
Grafik 11. Ortalama Tip 1 kolajen skorlamaları.	56
Grafik 12. TNF α ekspresyonu skor dağılımları.	58
Grafik 13. Ortalama TNF α skorlamaları.	59
Grafik 14. HIF-1 α ekspresyonu skor dağılımları.	61
Grafik 15. Ortalama HIF-1 α skorlamaları.....	62
Grafik 16. Ortalama FGF2 ekspresyon skorlarının gruplara özel istatistikleri.	64

Kısaltma Listesi

ABS	:	Ankaferd Blood Stopper
AFS	:	American Fertility Society
ARC	:	Hipotalamik arkuat nukleus
D&C	:	Dilatasyon ve küretaj
FGF-2	:	Fibroblast büyüme faktörü 2
GH	:	Büyüme hormonu
GHRH	:	Büyüme hormonu salgılatıcı hormon
GHSR	:	Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör
GK-MKH	:	Göbek kordonu kaynaklı mezenkimal kök hücre
HIF1 α	:	Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1-alfa
HSG	:	Histerosalpingografi
i.p.	:	İntraperitoneal
İHC	:	İmmünohistokimya
İUA	:	İntrauterin adezyon
Kİ-MKH	:	Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre
MEC	:	Manchanda's Endoscopic Center
MIS	:	Müllerian inhibe edici madde
NPY/AGRP	:	Nöropeptid Y/Agouti-Related Peptide
NSAID	:	Non-steroid antiinflamatuvar ilaç
O ₂	:	Oksijen
PFA	:	Paraformaldehit
PMNL	:	Polimorfnükleer lökosit
PRP	:	Platelet zengin plazma
RIA	:	Rahim içi araç
SF	:	Serum fizyolojik
SVF	:	Stromal vasküler fraksiyon
TCA	:	Trikloroasetik asit
TGF- β 1	:	Dönüştürücü büyüme faktörü beta 1
TNF α	:	Tümör nekroz faktörü alfa
VEGF	:	Vasküler endotelial büyüme faktörü

Giriş

Bu çalışmada intrauterin adezyon oluşturulmuş dişi sıçanlarda tedavi amaçlı kullanılan ghrelinin doz bağımlı etkileri incelenmiştir. Araştırma konusu belirlenirken literatürde, ghrelinin antiinflamatuvar ve antifibrinolitik özelliklerinin gösterildiği birçok çalışma varken intaruterin adezyonlardaki etkisinin gösterilmediği belirlenmiştir.

İntrauterin adezyon dünya çapında yaygın olarak gözlenen menstrüal siklusta düzensizlik, akut alt karın ağrısı, tekrarlayan gebelik kayıpları ve infertilite ile betimlenen ciddi bir kadın hastalığıdır.

İntrauterin adezyon oluşumu genellikle hastanın geçmişindeki kürtaj gibi cerrahi girişimlerden kaynaklanır. İntrauterin adezyon varlığı yaşam standartını düşürecek ölçüde gözle görülür olmadığı için insidansı tam olarak bilinmemekle birlikte, genellikle östrus siklus düzensizliği, akut alt karın ağrısı ve infertilite şikâyetleriyle hastaneye başvuran kadınlar arasından elde edilen verilere göre %1,5 ile %45,5 olarak rapor edilmiştir.

Ghrelinin açlık hormonu olarak da bilinir ve primer olarak mideden salgılanan bir hormondur. Bu çerçevede ghrelin ile ilgili yapılan literatür araştırmalarında çoğunlukla glikoz metabolizması, obezite veya diyabet gibi çalışma konuları yer almaktadır. Ancak tüm bunların yanında çeşitli organlardan da salgılanan bu hormonun etki alanı çok geniş olduğu gibi, yapılan bazı çalışmalarda da antiinflamatuvar ve antifibrinolitik özellikleri olduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinin ışığında ghrelinin peritoneal adezyonlardaki etkisi incelenirken, dünya çapında yüksek insidansa sahip olan intrauterin adezyondaki etkinliği incelenmemiştir.

Bu çalışma iki farklı dozda kullanılan ghrelinin, intrauterin adezyonlardaki etkisini inceleme amacıyla kurgulanmış olup literatüre bu konuda katkı sağlamak hedeflenmiştir.

1.1. Araştırmanın Problemi

Literatür verilerin incelenmesiyle elde edilen sonuçlara göre, uterus kavitesi içinde farklı nedenlere bağlı olarak adezyon oluşumu görölmektedir. İntrauterin adezyon oluşumu dünya genelinde kadınlarda insidansı her geçen gün artan ve negatif etkileri infertiliteye kadar gidebilen, hayat kalitesini dūřüren ciddi bir sağlık sorunudur. İntrauterin adezyonlarda ghrelin uygulamasının etkilerinin araştırılması bu çalışmanın araştırma problemidir.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Bu tez çalışmasının araştırma konusu intrauterinal adezyon modelinde ghrelin uygulamasının olası etkilerini incelemektir. Yapılan literatür taramasında ghrelinin postoperatif peritoneal adezyon üzerindeki etkilerinin araştırıldığı ancak intrauterin adezyonlarda etkilerinin araştırılmadığı gözlenmiştir. Bu sebeple araştırma konusu belirlenirken ghrelinin intrauterin adezyondaki etkilerini incelemek hedeflenmiştir. Antiinflamatuvar ve antifibrotik etkileri bulunan ghrelinin tedavi edici ajan olarak kullanılması, intrauterin adezyonda vereceği sonuçla olası tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini ve literatüre yeni veriler katılmasını sağlayacaktır. Ayrıca literatürde daha önce kullanılmayan iki farklı doz aralığının intrauterin adezyon üzerine etkisinin incelendiği ilk çalışma olacaktır.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

İntrauterin adezyonlar endometriyum dejenerasyonuna bağlı olarak kadınlarda menstrüel anomalilere ve infertiliteye sebep olan bir hastalıktır. Bu hastalığın klinik patolojik yansımalarını laboratuvar ortamında oluşturmak mümkündür. Uterus endometriyumunun adezyona bağlı olarak normal ve sağlıklı morfolojisini kaybedeceği ve bundan dolayı işlevlerini yerine getiremeyecek halde olması beklenmektedir. Ghrelin ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, antiinflamatuvar ve antifibrinolitik özelliklerine bağlı olarak intrauterin adezyonlardaki fibrotik alanların yoğunluğunu azaltabileceği ve buna bağlı olarak ghrelinin intrauterin adezyonlarda olası bir tedavi ajanı olarak kullanılabilceği dūřünülmektedir.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Oluşturulan intrauterin adezyon modeli ile klinik semptomların ve histopatolojik sürecin mimik edilebileceği varsayılmıştır. Ghrelinin çeşitli organ sistemlerinde immünmodülatör, antiinflamatuvar, antifibrotik ve antioksidan etkileri nedeniyle intrauterin adezyon etkilerini azaltacağı ya da iyileştirici etki göstereceği varsayılmıştır. Ayrıca düşük ve yüksek doz olmak üzere kullanılan ilacın etkinliğinin doz bağımlı olarak farklılık gösterebileceği varsayılmıştır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Kullanılan hayvanların bireysel farklılık oranlarını istatistiksel olarak minimuma indireceğinden dolayı deney hayvanlarının sayısını arttırmak deneyin tekrarlanması gereklidir. Histolojik analizler için deney sonunda sakrifiye edilen sıçanların ilerleyen dönemlerdeki doğurganlık sonuçları değerlendirilemediği için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışma gruplarında tedavi edici ajan olarak kullanılan ghrelinin intrauterin adezyonlar üzerindeki pozitif etki mekanizmasının biyokimyasal ve moleküler biyolojik olarak daha detaylı araştırmalarla değerlendirilmesi gereklidir.

1.6. Araştırmanın Amacı

İntrauterinal adezyonlar, dünya genelinde kadınlarda menstrüel anomaliler ve infertilite gibi ciddi problemlerle öne çıkmaktadır. İntrauterin adezyon tedavisi, kadınların menstrüel anomaliler ve infertilite komplikasyonlarını en aza indirmeyi ve kadın sağlığını en üst düzeye çıkarmayı amaçlamaktadır. Bununla birlikte tüm dünyada kabul görmüş bir tedavi yönteminin olmayışı intrauterin adezyonlar için yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesini gerektirmektedir. Postoperatif peritoneal adezyonlarda koruyucu potansiyeli olduğunu bilinen ghrelinin, deneysel intrauterin adezyon modelinde kullanılmasıyla elde edilecek sonuçlar doğrultusunda geliştirilecek tedavinin, kullanılabilirlik açısından ileri deneysel ve klinik çalışmalara bir ön araştırma olması beklenmektedir.

Bu araştırma kapsamında deneysel olarak sıçanlarda oluşturulmuş intrauterin adezyon modelinde, antiinflamatuvar ve antifibrotik etkileri bulunan ghrelinin etki mekanizmalarının incelenmesi ve uterus iyileşmesi ile ilgili süreçlerdeki potansiyel

etkisinin histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmesi amaçlanmıştır.

Özetle bu çalışmanın amacı düşük ve yüksek doz ghrelinin uygulamasının intrauterin adezyondaki etkilerini saptamaktır.



Genel Bilgiler

2.1. Uterus

2.1.1. Uterus Embriyolojisi

Gelişimin erken evrelerinde meydana gelen gonadal farklılaşma sürecinde hem dişi hem de erkek embriyoda paramezonefrik (Müllerian) ve mezonefrik (Wolffian) kanallar olmak üzere iki çift kanal sistemi bulunur (Moncada-Madrado & Valero, 2022). Bu iki kanal sistemi mezodermden köken aldığı halde farklı hücre tiplerinden oluşur (Cunha, Kurita, vd., 2018). Embriyonun cinsiyet farklılaşması ise ilk trimesterin başlarında yaklaşık 8. haftada başlar (Cunha, Robboy, vd., 2018). İki X kromozomu varlığında Müllerian kanalları gelişmeye devam eder ve Wolffian kanalları geriler. Müllerian kanal gelişimi, anti-Müllerian hormonun (Müllerian inhibe edici madde, MIS) yokluğuna ek olarak bir dizi gene dayanır. XX bireylerde dış genital bölge ve vajinanın alt üçte biri ürogenital sinüs tarafından oluşturulurken, vajina, serviks, uterus ve fallop tüplerinin üst üçte ikisi iki paramezonefrik kanalın birleşmesiyle oluşur (Ye vd., 2011).

2.1.2. Uterus Histolojisi

Uterus, lümenine sahip olan ve kas dokusundan meydana gelen bir organdır. Uterus lümeninin ortalama uzunluğu 6 cm'dir ve üçgen şeklindedir. Embriyolojik süreçte mezodermden köken alan uterus, histolojik olarak lümeninden dışa doğru endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum olmak üzere üç tabakadan oluşur.

Uterus lümenini döşeyen endometriyum, lümenine bakan kısmında stratum fonksiyonalis ve miyometriyuma yakın tarafında ise stratum bazalis olmak üzere iki tabakadan oluşan dinamik bir yapıdır (Ferenczy & Bergeron, 1991; Gray vd., 2001). Stratum bazalis, hormonal olarak aktif olmayan rezerv veya kök hücreler içerir. Stratum fonksiyonalis, hormonal olarak duyarlı olan endometriyal stromal hücrelerden ve damarlardan oluşan katmandır. Endometriyum lümen epitel, fonksiyonel epitel örtün tek katlı küboidal epitel hücre tabakasıdır. Stromal fibroblastlar tarafından desteklenir ve tüp benzeri fonksiyonel bezler oluşturmak için alttaki hücresel stromaya invajine olur. Endometriyum kalınlığı ve yapısı hormonal uyarıya göre değişir. Endometriyal bezler, tek katlı, yalancı çok katlı veya prizmatik epitel hücreleri ile örtülüdür. Hücreler mitotik olarak aktiftir. Dağınık silyalı hücreler mevcuttur (Maclean vd., 2020).

Miyometriyum, uterusun büyük kısmını oluşturan ve uterus kaslarının yer aldığı lümeneye göre endometriyumun dışında yerleşen tabakadır. Miyometriyum, farklı yönlere uzanan kolajen ve elastin demetleri barındıran ve ağırlıklı olarak düz kastan oluşan bir yapıdır. Kaslar lümeneye göre içte sirküler dışta longitudinal olarak konumlanır (Evans vd., 2014).

Perimetriyum uterusun en dış kısmını oluşturur ve iç organlarla uterusu birbirinden ayırır.

2.1.3. Anatomik Genel Bakış

Uterus, pelvik boşluğunun orta hattında konumlanan kalın duvarlı bir kas yapısıdır. Uterus fundus, korpus, isthmus ve serviks olmak üzere dört bölümden oluşur. Yapının en büyük bölümü korpustur ve servikse bağlanmasına isthmus aracılık eder. Serviks ise uterusu vajinal lümeneye bağlar. Uterus rektumun önünde ve mesanenin arkasında konumlanır (Roach & Andreotti, 2017). Uterus morfolojisi, hacmi, anatomik ve fonksiyonel özellikleri gelişimin ve yaşamın farklı dönemlerinde ve koşullarında (puberte öncesi, menstrüasyon, gebelik, menopoz) değişiklik gösterir. Uterusun anatomik ve fonksiyonel değişikliklerini yaşamın farklı evrelerindeki östrojen, progesteron ve testosteron seviyeleri düzenler (Cooke, Spencer, Bartol, & Hayashi, 2013).

2.1.4. Uterus Damarlanması

Uterusa ana kan temini uterin arterler tarafından sağlanır (Kaiserman-Abramof & Padykula, 1989). Uterusa inen bu kan damarları, vajinal arterin çıktığı üst servikse ulaşırlar. Yükselen bir dal, uterus broad ligamentinin kıvrımları arasında uterusun lateral kısmını takip eder ve miyometriyuma çok sayıda dal verilir. Bu dallanmalar daha sonra daha ince damarlar olarak endometriyuma ulaşır. İnce duvarlı tübüler damarlar, proliferatif endometriyum için karakteristiktir (Ameer, Fagan, Sosa-Stanley, & Peterson, 2022; Herendael, Stevens, Flakiewicz-Kula, & Hansch, 1987).

2.2. İntrauterin Adezyon

İntrauterin adezyonlar (İUA) rahim içi cerrahi işlemler sonucu uterus kavitesinde oluşan fibrotik bantların sebep olduğu kısmi veya tam tıkanma olarak tanımlanır. Hastalığın semptomları arasında sıklıkla hipomenore, amenore, infertilite ve tekrarlayan gebelik kaybı gibi şikâyetler mevcuttur (Amin, Saridogan, & Jurkovic, 2015). Hastalık bazı vakalarda asemptomatik olabileceğinden İUA'ların gerçek prevalansının bilinmemektedir. Buna rağmen araştırma bulgularının sonuçlarına göre hastalığın prevalansının %1,5 ile %45,5 arasında değiştiği bildirilmiştir (March, Israel, & March, 1978). Geniş prevalans aralığının sebebi değerlendirilen popülasyonun gerçeği yansıttığına inanılmadığından, intrauterin operatif prosedürlerin ne kadar kontrollü gerçekleştiğinden, kullanılan cerrahi ekipmanların çeşitliliğinden ve kullanılan tanı yöntemleri arasındaki farktan kaynaklanabileceği unutulmamalıdır. Artan prevalans değerinin pozitif anlamdaki değişiminde göz ardı edilmemesi gereken unsurlardan biri de ilerleyen teknolojiyle birlikte kullanılan ultrasonografi, histeroskopi gibi tanı ve tedavi yöntemleri olabilir (Laganà vd., 2014).

İUA'lar ilk olarak 1894'te Heinrich Fritsch tarafından travma sonrası İUA vakası olarak tanımlandı. 1948'de ise ilk kez Joseph G. Asherman bu durumun sıklığını, etiyolojisini, semptomlarını ve radyolojik görüntüsünü tanımlamak için yaptığı çalışmasını yayınlamıştır (Conforti, Alviggi, Mollo, De Placido, & Magos, 2013).

İUA'lara yatkınlık yaş, ırk, coğrafi bölge ve beslenme durumu gibi belirsiz faktörlerle de bağlantılı olabilir. Danimarka'da 10 yıllık sürede toplam 61, Hollanda'da 638, Suudi Arabistan'da ise 8 yıllık sürede toplam 41 kadın İUA teşhisi ile uzman bir merkeze sevk edildi (Kjer, 2014). Chen ve arkadaşları, Çin'deki bir hastanede 4 yıllık süre içinde 357 İUA vakası buldu (L. Chen vd., 2017).

İUA'ların uterus kavitesinde yapılan her türlü prosedürden sonra meydana gelebileceği unutulmamalıdır. Çoğunlukla gebelik sonlandırılması için yapılan işlemlerden sonra gözlenen İUA'lar çoğu vakada infertilite ile karakterizedir. Schenker ve Margalioth yaptıkları çalışmalarında 1856 İUA'lı vakayı incelemiş ve %90,8'inde infertil uterus varlığını göstermişlerdir (Schenker & Margalioth, 1982).

İUA'lar doğum, düşük veya kürtajdan sonra cerrahi işlem görmüş olan hassas uterus endometriyumunun bazal tabakasında ilk 4 hafta içinde mekanik lezyon oluşturabilir.

2.2.1. Sınıflandırılması

İUA'ların sınıflandırılması, adezyonların kapsamını değerlendirmek, en iyi tedavi seçeneğini seçmek ve adezyolizin postoperatif başarısını analiz etmek için gereklidir. Çeşitli sınıflandırma sistemleri, HSG (histerosalpingografi) tabanlı sınıflandırma, histeroskopi tabanlı sınıflandırma ve klinik-histeroskopik sınıflandırmayı içerir. HSG temelli sınıflandırmaların kullanımları artık tercih edilmemektedir. Günümüzde çoğunlukla histeroskopi temelli sınıflandırma sistemleri benimsenmiş ve bunlardan da en yaygın olarak AFS (American Fertility Society) sınıflandırması kullanılmaktadır (Buttram vd., 1988). Prognostik skorlamanın yanı sıra hastaların reproduktif sonuçlarını da içeren en ideal ve kapsamlı sınıflandırma sistemi 2000 yılında Nasr tarafından geliştirilmiştir. En son sınıflandırma sistemi olan MEC (Manchanda's Endoscopic Center) sınıflandırması Hindistan'da 2016 yılında geliştirilmiş olup, histeroskopi tabanlıdır ve klinik ortamlarda uygulanması nispeten kolaydır (Aboul Nasr, Al-Inany, Thabet, & Aboulghar, 2000).

2.2.2. Adezyon Oluşum Mekanizması

Adezyonlar endometriyum, miyometriyum veya bağ dokusunun farklı katmanlarını içerebilir. Genel olarak İUA'lar, endometriumun fibroz hale geldiği bir durumdur (Salazar, Isaacson, & Morris, 2017). Endometriyal stroma büyük ölçüde fibröz doku ile değiştirilir ve bezler genellikle endometriyal tipte inaktif bir kübik-prizmatik epitel ile temsil edilir (Yu, Wong, Cheong, Xia, & Li, 2008). Endometriyumun fonksiyonel ve bazal tabakası arasındaki ayrım kaybolur; fonksiyonel katman, hormon uyarısına yanıt vermeyen tek katlı epitele dönüşür ve kavite boyunca fibröz sineşi oluşur. Diğer durumlarda stromada kalsifikasyon ve hatta kemikleşme olabilir ve bezler seyrek ve inaktif veya kistik dilate olabilir. İnce duvarlı dilate damarlar bol olabilir ancak çoğu durumda avasküler doku hale gelir (Malhotra, Bahadur, Kalaivani, & Mittal, 2012). Endometriyal epitelin inaktif kübik-prizmatik şekle dönüşmesi ile hücresel düzeyde değişiklikler meydana gelir. Bazal tabaka ile fonksiyonel tabaka arasındaki ayrım ortadan kalkar ve fonksiyonel tabakanın yerini kavite boyunca fibröz sineşilerin olduğu inaktif bir avasküler tabaka aldığından, endometriyumun fonksiyonel ve bazal tabakası arasında artık bir ayrım yoktur. Fibrötik sineşi tüm kaviteyi bozar ve histeroskopide tekrar bakıldığında stromal kalsifikasyonlar ve kemikleşme görülür.

Yeni doku tabakası hormon stimülasyonuna yanıt vermez. Fibrotik yapışıklıklar yoğun bağ dokusudur ve çevreleyen endometriyuma kıyasla endometriyal örtüye sahip değildir (Salazar, Isaacson, & Morris, 2017).

2.2.3. Adezyon Tedavi ve Önleme Stratejileri

İUA tedavisi genellikle cerrahi müdahale gerektirir ve çoğu histeroskopik bir yaklaşımı içerir. Bununla birlikte, histeroskopi ile yapılan adezyolizisde İUA riskinin %31 ile 78'e kadar daha yüksek komplikasyon ve nüks oranları kaydedilmiştir (Torres-De La Roche vd., 2019). Bu nedenle, İUA oluşma riskini en aza indirmek çok daha önemlidir (Yan & Xu, 2018). İUA önleme stratejileri yapılan literatür taramasının ışığında genel prensipler, cerrahi teknikler, mekanik bariyerler ve kimyasal ajanlar olacak şekilde dört kategoride gruplandırılabilir.

2.2.3.1. Genel Prensipler

Adezyonların önlenmesi için kullanılan stratejilerin temel amacı fibroblastik proliferasyonu ve kolajen sentezini inhibe etmek, fibrin birikimini ve inflamasyonu azaltıp fibrinolizisi arttırarak adezyonları önlemektir. Adezyon önleyici yöntemlerin etkili ve ucuz olması, kullanımının kolay olması, yeniden emilebilir ve biyoyumlu olması ve normal doku onarım sürecine müdahale etmemesi gibi özellikleri de ana unsurlardan olmalıdır (Arung, Meurisse, & Detry, 2011).

2.2.3.2. Cerrahi Teknikler

Minimal invaziv cerrahi, adezyon oluşumunu minimuma indirebilir fakat tamamıyla önlemede tek başına yeterli değildir. Uterus endometriyumunun hasarlanması kaba cerrahi teknik, dokunun fazla travmatize edilmesi ya da termal travma yoluyla olabilir (Maciver, McCall, & James Shapiro, 2011). Bu sebeple operasyon sırasında cerrahlar ince ve biyoyumlu malzemeler, atravmatik aletler ve pudrasız eldivenler kullanmaya maksimum seviyede özen göstermelidir (V Gomel, B Urman, & T Gurgan, 1996).

2.2.3.3. Mekanik Bariyerler

Uterus içinde bir süre çözünmeden kalabilecek şekilde tasarlanmış ve endometriyumun karşı duvarları arasındaki etkileşimi engelleyen ajanlardır. Mekanik bariyerler sıvı ve katı olmak üzere iki grupta incelenmektedirler. Sıvı bariyer olarak kristaloid, dekstran, hiyaluronik asit ve ikodekstrin gibi çözeltiler sıklıkla kullanılmaktadır (Y. Q. Wang vd., 2020). Katı bariyerlerden en sık kullanılanlar ise politetrafloroetilen, hiyaluronik asit, polietilenglikol, okside rejenere selüloz ve karboksimetil selüloz içeren biyoresorbabl membranlardır (Ten Broek vd., 2014).

2.2.3.4. Kimyasal Ajanlar

Fibroblastik proliferasyon inhibisyonu ile kalıcı fibrin oluşumunu engelleme amacıyla genellikle kimyasal ajanlar kullanılır. Bu proliferasyonu inhibe etmek için kortikosteroidler, non-steroid antiinflatuvar ilaçlar (NSAİD'ler), antikoagülanlar, vitaminler, kalsiyum kanal blokerleri, histamin antagonistleri, hormonlar, antibiyotikler, fibrinolitik ajanlar, antioksidanlar, kolşisin ve bazı immüsupresanlar gibi çeşitli ajanlar kullanılmaktadır (Arung vd., 2011).

2.3. TCA

Trikloroasetik asit (TCA) 1839'da Jean-Baptiste Dumas tarafından keşfedilmiştir. TCA, metil grubunun üç hidrojen atomunun yerini, klor atomlarının aldığı bir asetik asit analogudur. Klorun asetik asit ile uygun bir katalizör varlığında reaksiyona girmesiyle oluşur. TCA tuzları ve esterlerine trikloroasetatlar denir. Ticari TCA, doğal olarak renksiz bir kristal halinde bulunur ve damıtılmış su ile karıştırılarak kolayca formüle edilir. Sulu çözeltisi oldukça asidiktir (pH=1.0). TCA, protein denatürasyonuna ve yapısal hücre ölümüne neden olan ve kimyasal koterizasyondan sonra pıhtılaşma nekrozu ile sonuçlanan, sistemik olarak absorbe edici olmayan, topikal olarak uygulanan bir kimyasal ajandır (Cocuzza vd., 2011; S. H. Kim, Ko, Oh, Kwon, & Kim, 2009; Obagi, Obagi, Alaiti, & Stevens, 1999). TCA, genellikle kantitatif çökeltme ile protein çökeltmek ve protein konsantrasyonunu belirlemek için kullanılır. TCA, tıpta kostik ajan ve koterize edici kimyasal bir madde olarak uzun süredir etkin bir şekilde kullanılmaktadır. TCA, fotoyaşlanma belirtileri ve seboreik keratoz ve aktinik keratoz gibi bir dizi hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ajandır (Chun, Lee, Lee, & Rubin, 2004). Yüksek oranda doymuş TCA çözeltileri,

servikal alan boşluklarının restorasyonunda ve kanamayı kontrol etmek için kullanılmıştır. Daha yüksek dozda uygulanan TCA; epidermiste hücresel nekroza, papiller ve retiküler dermiste kolajen nekrozuna neden olduğu ve lokalize yaralar oluşturduğu bilinmektedir (Fathpour & Khoroushi, 2013; Yug, Lane, Howard, & Kent, 2006). TCA çözeltisinin doku penetrasyonu ve ardından gelen hasarlanma derecesi, kullanılan TCA'nın gücü, cilt hazırlığı ve anatomik bölge dâhil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır. Yapılan bazı çalışmalar TCA'nın kostik ajan oluşu nedeniyle sıçanlarda adezyon modeli geliştirmek için deneysel olarak kullanılabileceğini söylemektedir (Büyük & Beyazıt, 2019; Kilic vd., 2014; Salama, Zaghlol, Mohamed, & Kamar, 2020).

2.4. Ghrelin

Ghrelin, büyük ölçüde midede salgılanan ve büyüme hormonun (GH) salınımını uyaran 28 amino asitli bir peptittir. Ghrelin, Hint-Avrupa dilleri ailesindeki gelişim anlamına gelen “grow” sözcüğünün kökü olan “ghre” ile salgılatma anlamına gelen “relın” sözcüklerinin birleşiminden türetilmiştir (Kojima vd., 1999). Wren ve arkadaşları tarafından iştah hormonu olarak da adlandırılan ghrelin, ilk kez 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından fare midesinden elde edilmiştir (Kojima vd., 1999; Wren vd., 2001). Temel olarak mide fundusunda endokrin fonksiyona sahip X (A) hücreleri tarafından üretilen 28 amino asitlik lipopeptit yapıda bir hormon olup büyüme hormonu salgılatıcı reseptörün (GHSR) endojen ligantıdır (Kojima vd., 1999; Tanaka vd., 2001). İnsan ve sıçanlarda gen ekspresyonu ile yapılan incelemelerde ghrelinin ve reseptörünün bağırsak, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, pankreas, plasenta, hipofiz bezi, gonadlar ve beyin gibi organlarda mevcut olduğu gösterilmiştir (Gnanapavan vd., 2002; Kojima, Hosoda, Matsuo, & Kangawa, 2001; Papotti vd., 2000).

İnsan preproghrelin geni, 3p25-26 kromozomunda lokalizedir ve dört intronlu beş ekzondan oluşur. Moleküler ağırlığı yaklaşık 3300 Dalton olan memeli ghrelinleri birbirine tamamen benzer değildir. İnsan ghrelini N-terminal ucundaki 3. aminoasit olan serine bağlı oktanil grubu adı verilen sekiz karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Ghrelin hem insan hem de sıçanda aynı yapıya sahiptir ve 117 amino asitten oluşur (Smith vd., 1997). Ancak birbirlerinden sadece iki amino asit kalıntısıyla farklılık

gösterirler. Yarılanma ömrü 15-20 dakika olan ghrelin; vücut sıvılarında ve dokularda iki formda bulunmaktadır (Kanamoto vd., 2004; Kojima & Kangawa, 2005; Tanaka vd., 2001).

2.4.1. Etki Mekanizması

Büyüme hormonunun salınımı, enerji dengesi, yiyecek alımı ve vücut ağırlığının ayarlanmasında görev alan ghrelin, etkisini büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHSR) tip 1a'ya bağlanarak gösterir (Kojima vd., 1999; Miller vd., 2005). Reseptöre bağlanarak hipotalamustan büyüme hormonu salgılatıcı hormonun (GHRH) salınımını uyarır. Yapılan çalışmalar ile büyüme hormonu salgılatıcı reseptörlerin iki tip olduğu tespit edilmiştir: Uzun yapılı olan GHSR tip 1a ve kısa yapılı olan GHSR tip 1b'dir (McKee vd., 1997). GHSR tip 1a fonksiyonel olarak aktiftir ve sinyal taşıyantiptir. Buna karşılık, GHSR tip 1b transmembran alanları 6 ve 7'den yoksun olduğundan ligand bağlama ve sinyal iletimi kapasitesi yoktur. Ancak GHSR tip 1b'inde ghrelinin hedef dokular üzerinde etkinliğini göstermesinde, GHSR tip 1a ile etkileşim içinde olması muhtemeldir (Smith vd., 1997).

Ghrelin iştah üzerine olan etkisini farklı şekillerde gösterebilmektedir (Kojima vd., 1999). Midede sentezlenerek kan dolaşımı ile hipotalamik arkuat nukleusa (ARC) ve beynin diğer bölümlerine kan-beyin bariyerini aktif transport ile geçerek iştahı etkilemektedir. Bunun dışında, periferal olarak sentezlenen ghrelin, vagal afferent sinir uçlarını uyarmakta, bu da GHSR ekspresyonuna neden olarak vagal bağlantısı olan nukleus solitarius yoluyla hipotalamusu uyarmaktadır. Aynı zamanda ghrelin hipotalamusta lokal olarak sentezlenmekte ve direkt olarak ARC'deki Nöropeptid Y/Agouti-Related Peptide (NPY/AGRP) ve diğer hücreleri uyarmaktadır (Kojima vd., 1999; Rindi vd., 2002).

2.4.2. Tıpta Kullanım Alanları

Yapılan araştırma sonuçlarına göre ghrelin birçok işleve ve mevcut olduğu farklı organlardaki etkileri sayesinde geniş çalışma olanağına sahiptir. Yapılan literatür taramasında ghrelin uygulamasının; kardiyovasküler hastalıklarda, obezite ve diyabet çalışmalarında, kanser çalışmalarında, gastrointestinal sistem ile ilgili çalışmalar gibi çeşitli araştırma alanlarına sahip olduğu görülmüştür (C.-Y. Chen & Tsai, 2012; Kishimoto, Tokudome, Hosoda, Miyazato, & Kangawa, 2012; T. C. Lin & Hsiao, 2017; Wiedmer, Nogueiras, Broglio, D'Alessio, & Tschöp, 2007). Yapılan araştırmalarda ghrelinin etki mekanizması, çeşitli organlardaki varlığı ve dolaşımında bulunması ile araştırmaya açık bir hale gelmiştir. Son yapılan çalışmalarda çeşitli organ sistemlerinde immünomodülatör, antifibrotik, antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler gösterdiği tanımlanan ghrelinin farklı etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır (Imazu vd., 2011; W. G. Li vd., 2004).

2.4.3. Deneysel Çalışmada Kullanım Nedenleri

Ghrelin, antiinflamatuvar ve kardiyο-koruyucu etkiler dâhil olmak üzere çok çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirir (Chang vd., 2004; Wu vd., 2007). Aynı zamanda anoreksi, kaşeksi, kronik hastalıklar ve böbrek hasarını hafifletir (Binn vd., 2006; Neary vd., 2004; Sun vd., 2015; Wynne vd., 2005). Ayrıca ghrelinin, iskemi/reperfüzyon hasarından sonra böbrek fonksiyonunu düzelttiği ve kolon anastomozlarının iyileşmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Ceran, Aksoy, Gülbahar, & Öztürk, 2013). Son zamanlarda ghrelinin antifibrotik özelliklere sahip olduğu öne sürülmüştür (Moreno vd., 2010; Sun vd., 2015) ve bu gözlemlere dayanarak, bu endojen liganın İUA oluşumunu azaltmada rol oynayabileceği varsayılarak bu deneysel çalışma tasarlandı.

Gereç ve Yöntem

Tablo 1. Çalışmada kullanılan malzemelerin listesi.

• 3,3'-diaminobenzidine (DAB) Substrate Kit (ab64238, Abcam)
• Anestezik Maddeler (VetaKetam®, VetaXyl®)
• Anti-kolajen 1 primer antikor (bs-10423R, Bioss)
• Anti-FGF2 primer antikor (DF6038, Affinity)
• Anti-HIF1a primer antikor (bs-0737R, Bioss)
• Anti-TNFa primer antikor (E-AB-40015, Elabscience)
• Anti-VEGF primer antikor (bs-0279R, Bioss)
• Deney kafesleri
• Distile Su
• Doku Takip Kaseti (Lp Italiana)
• Entellan (Merck)
• Eozin Boya Solüsyonu (Dako)
• Etil alkol (AlkoMed)
• Fosfat tampon solüsyonu (PBS) tablet (BioShop)
• Ghrelin (Genscript RP10781-1)
• Giemsa Boya Solüsyonu (Merck)
• Harris Hematoksilen Boya Solüsyonu (Dako)
• Hassas Terazi (Precia XB-220A)
• ImmunoCruz® rabbit ABC Staining System (sc-2018, Santa Cruz)
• Ksilol (VWR Chemicals)
• Lamel (Lamtek)
• Masson Trikrom Boya Kiti (BioOptica)
• Mayer's Hematoksilen Boya Solüsyonu (BioOptica)
• Mikrotom (Leica RM 2145)
• PAP Pen (Invitrogen)
• Parafilm (Isolab)
• Parafin (Leica)
• Paraformaldehit (Merck)
• Polilizin kaplı lam (Laborant)
• Radyoopak solüsyon (Biemexol 350 mg/ml)
• Sıçan (28 adet Wistar Albino dişi)
• Trikloroasetik asit (IL-33, İstanbul İlaç San. Tic. AŞ, İstanbul, Türkiye)

3.1. Deney Hayvanları

Deneysel araştırma; Ege Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Ege Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulu'nun 27.10.2021 tarih ve 2021-081 sayılı kararı onaylanarak projelendirildi.

Proje çalışması kapsamında Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 8- 10 haftalık yaklaşık 200-250 g ağırlık aralığındaki dişi Wistar-Albino cinsi sıçanlar 25°C de %50±5 nemli odalarda barındırıldı (Şekil 1). Sıçanların su ve yemleri *ad libitum* verildi. Hayvan sayısını minimumda tutmak amacıyla 28 dişi sıçan kullanıldı.



Şekil 1. Deney hayvanlarının kafesleri ve bakımı için ayrılan birim.

3.2. Deney Hayvanlarının Hazırlığı

Deneyde toplam 28 adet 200-250 g ağırlığında 8-10 haftalık Wistar-Albino dişi sıçan kullanıldı. Sıçanların östrus sikluslarının birbirlerine uyumlanması için vajinal smear alınarak kontrolleri yapıldı ve aynı östrus siklusta olduğu saptanan sıçanlar gruplandırılarak birlikte kafeslendi.

3.2.1. Sıçanlarda Vajinal Sitoloji

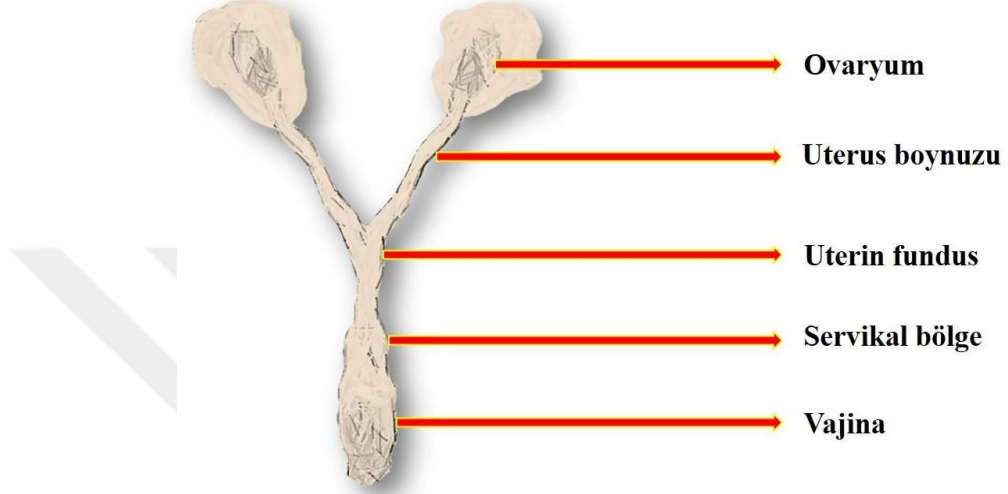
Östrus döngüsünün fazının tahmini için vajinal smear örnekleri toplandı ve incelendi. Değerlendirme sırasında hayvan sabit tutuldu ve kuyruk vajinayı görünür hale getirmek için yukarıya kaldırıldı. Oda sıcaklığındaki fizyolojik tuzlu su ile ıslatılmış pamuk uçlu bir swab ile sıçanın vajinasından sürüntü alındı. Bu işlem swabın vajina duvarına doğru döndürülerek yuvarlanmasıyla yapıldı. Daha sonra vajinadan toplanan hücreler swab yardımıyla kuru bir lama aktarıldı ve havayla kurutuldu. Hücreleri görünür yapmak ve morfolojilerini değerlendirmek için Wright's Giemsa ile boyandı ve preparatlar lamelle kapatıldıktan sonra mikroskopta incelendi (McLean, Valenzuela, Fai, & Bennett, 2012).

Vajinal smear preparatları lökositler, kornifiye epitel hücreleri ve çekirdekli epitel hücreleri olmak üzere üç tip hücre içeriyordu. Hayvanın hangi östrus fazında olduğunun tayin edilmesinde bu hücrelerin vajinal sekresyondaki oranına bakıldı.

Proöstrus fazının karakteristik hücre tipi küme halinde veya tek tek konumlanan yuvarlak çekirdekli hücrelerdir. Proöstrus preparatında birkaç tane çekirdeksiz kornifiye epitel hücreleri de gözlendi. Östrus fazında oldukça yoğun çekirdeksiz kornifiye epitel hücrelerinin varlığı söz konusudur. Bu hücrelerin şekli düzensizdir ve sitoplazma granüllüdür. Ayrıca östrus preparatında çok sayıda bakteri ve nadiren çekirdekli epitel hücreleri de gözlendi. Metaöstrus fazında çok sayıda lökosit mevcutken bir miktar da çekirdeksiz kornifiye epitel hücreleri vardı. Diöstrus fazında ise belirgin polimorfonükleer lökositlerin yanı sıra kornifiye epitel hücreler mevcuttur (Auta & Hassan, 2016).

3.3. İnceleme Prosedürü

Dişi sıçanlarda bikornuat uterus (iki boynuzlu), iki ayrı ossa uteri ve serviks vardır. Uterus boynuzları distal olarak kaynaşır ve vajinaya açılır (Şekil 2). Vajina ve üretral delikler tamamen ayrıdır (Kohn & Clifford, 2002).



Şekil 2. Dişi sıçan genital sisteminin şematik görüntüsü.

3.4. Radyolojik Görüntüleme İçin Sıçanların Hazırlanması

Uterus kavitesine girişimin sağlanması için görüntüleme işlemi X-Ray radyografisi kullanılarak yapıldı. Enjeksiyon ve görüntüleme sırasında en sağlıklı sonuçları elde edebilme amacıyla sıçanların immobilizasyonunu sağlamak için önce i.p. 15 mg/kg ksilazin (4 mg/kg, Alfazyne®, Ege Vet, Alfasan International B.V., Hollanda) ve 35 mg/kg ketamin (80 mg/kg, Alfamine®, Ege Vet, Alfasan International B.V., Hollanda) ile düşük doz anestezisi uygulandı.

3.4.1. Radyografik Uygulama

TCA uygulamasının stabil bir şekilde tüm deneklere aynı şekilde uygulanabilmesini sağlamak için radyopak madde (Biemexol 350 mg/ml) ile radyografik görüntüleme yapıldı (Şekil 3). Bu işlem vajinal yoldan 20 G branül ile girişimin ardından uterusun korpus bölgesini geçtikten sonra sağ boynuza doğru yönlendirilmesi ve sonra radyopak maddenin bırakılmasıyla yapıldı. Branül geri çekilmeden FUJI FCR PRIMA T2 Görüntü Okuyucu, Japonya (Model: CR-IR 392) ve FUJI FCR PRIMA Console, FCR View yardımıyla görüntüleme yapıldı (Şekil 4).



Şekil 3. Deneyde kullanılan radyopak solüsyon.



Şekil 4. Radyografik görüntüleme için kullanılan sistem.

3.5. Model Oluşturulması

Anesteziye edilen deneklere vajinal olarak 20 G branül ile girişim yapıldı (Şekil 5). Uterusun bifürkasyon alanına ulaşıldığında branül açıldı ve sağ uterus boynuzuna girmek için branül içeriye doğru yönlendirildi ve 0,2 ml TCA (İL-33, İstanbul İlaç San. Tic. AŞ, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. TCA'nın geri akışına engel olmak için 20 saniye bekledikten sonra branül geri çekildi (Şekil 6).



Şekil 5. Deneyel İUA modeli oluşturmak için kullanılan TCA solüsyonu (İL-33) ve 20 gauge branül.



Şekil 6. Deney hayvanlarına yapılan transvajinal TCA enjeksiyonu.

3.6. Ghrelinin Hazırlanması

Uygulama yapılmak üzere 1 mg/ml stok konsantrasyondaki ghrelin 1 ml asetik asit içinde çözdürüldü. Çözdürülen 1 ml solüsyondan 10 µl alınarak 250 ml serum fizyolojik (SF) içine eklenip karıştırıldı. 40 ng/kg ghrelin verilecek olan gruba göre ayarlanan 250 ml solüsyondan yapılacak her enjeksiyon için 1 ml karışım eppendorflara bölündü. 20 ng/kg ghrelin verilecek olan grup için ise 250 ml stok solüsyondan 0,5 ml karışım çekilip eppendorflara aktarıldıktan sonra üzerine 0,5 ml SF eklendi ve istenilen oranda karışımlar hazırlandı (Şekil 7). Ghrelin (Genscript RP10781-1) saf halde temin edildi.



Şekil 7. Çalışmanın etken maddesi ghrelinin enjeksiyon için hazırlanma aşamaları.

Kullanılacak ghrelin dozları belirlenirken literatürde kullanılan farklı doz aralıklarından düşük ve yüksek olmak üzere iki farklı doz belirlendi ve güvenli aralıktaki dozlar sıçan ağırlığına göre optimize edilerek kullanıldı (Şekil 8).



Şekil 8. Deney hayvanlarına yapılan i.p. ghrelin enjeksiyonu.

3.7. Deney Gruplarının Oluşturulması

Grup 1: İntakt kontrol grubu (Hiçbir uygulama yapılmadı).

Grup 2: TCA uygulanan deneysel model grubu (0. günde TCA 0,2 ml olmak üzere bir kez sağ uterus boynuzu enjeksiyon yapıldı- 3 siklus (15 gün) sonra 7 gün boyunca i.p. SF uygulandı).

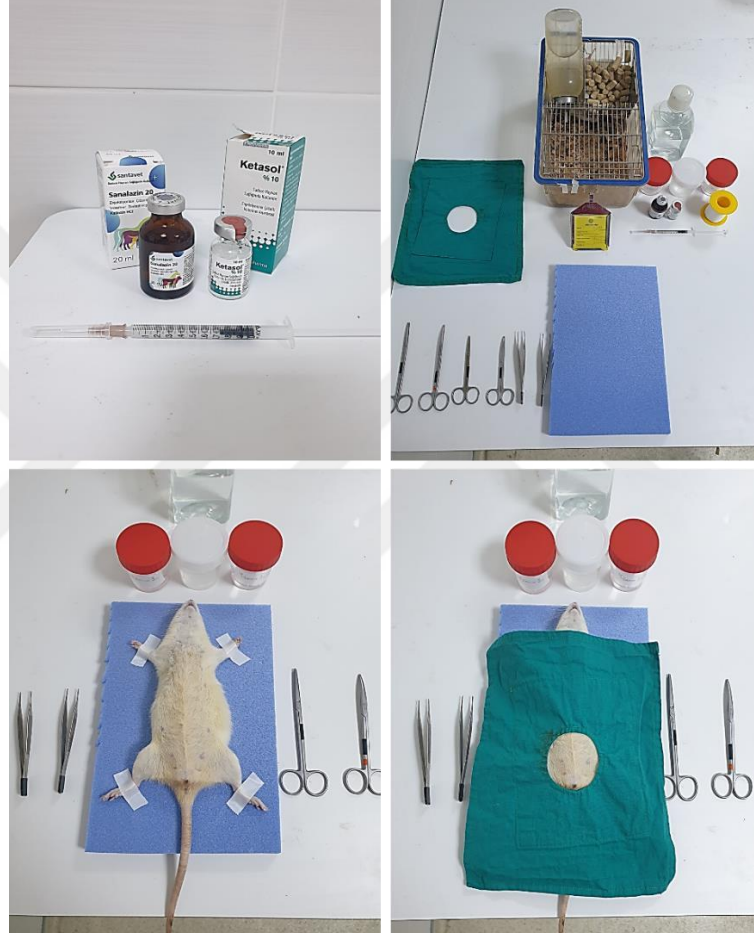
Grup 3: 0,2 ml TCA + 20 ng/kg ghrelin uygulanan tedavi grubu (0. günde TCA 0,2 ml olmak üzere bir kez sağ uterus boynuzu enjeksiyon yapıldı- 15. günden itibaren 7 gün boyunca i.p. ghrelin uygulandı).

Grup 4: 0,2 ml TCA + 40 ng/kg ghrelin uygulanan tedavi grubu (0. günde TCA 0,2 ml olmak üzere bir kez sağ uterus boynuzu enjeksiyon yapıldı- 15. günden itibaren 7 gün boyunca i.p. ghrelin uygulandı) (Şekil 9).



Şekil 9. Çalışmada yapılan işlemleri özetleyen şematik görsel.

Tüm deneysel çalışmalar steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Deney gruplarına ait sıçanlara intraperitoneal (i.p.) olarak 30 mg/kg ksilazin (4 mg/kg, Alfazyne®, Ege Vet, Alfasan International B.V., Hollanda) ve 70 mg/kg ketamin (80 mg/kg, Alfamine®, Ege Vet, Alfasan International B.V., Hollanda) anestezisi uygulandı (Şekil 10).



Şekil 10. Sakrifikasyona hazırlık aşaması ve operasyon ortamı.

3.8. Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimleri

Deney hayvanlarının tamamı başlangıç, 1., 3., 5., 7. günlerde ve sakrifikasyondan hemen önce tartıldı, değerler ondalık kısımları yuvarlanarak not edildi.

3.9. Işık Mikroskopik Analiz

3.9.1. Doku Takibi

Histolojik çalışmalar standart doku takip aşamalarından sonra klasik potokollere ve laboratuvar düzenine uygun olarak gerçekleştirildi. Dokular %4'lük paraformaldehit (PFA) ile fikse edildi. PFA hazırlamak için 40 gr PFA (Merck, 1.04.005.1000) 1000 cc distile suda çözüldü. 58-60°C sıcaklıkta 30 dakika karıştırıldı ve çözdürüldü. Sonra soğutularak süzüldü ve pH'ı 7,2-7,4 arasına getirildi. Dokuların fiksasyonundan sonra artan konsantrasyonda alkol serisinde (%70-80-95-100) dehidrasyon işlemi yapıldı. Alkol serisinden sonra ksilolde (Merck 1330-20-7) gözle takip edilerek şeffaflaştırma işlemi yapıldı. Uteruslar, yarım saat süreyle iki kez parafin (Tekkim) içinde yıkandı. Doku blokları mikrotomda (Leica RM 2145) 5 µm kalınlığında kesildi (Şekil 11).



Şekil 11. Leica RM 2145 mikrotom ve su banyosu.

3.9.2. Histokimyasal Boyama

Dokular polilizinli lamlara alındıktan sonra kurutuldu ve boyama işlemine geçilmeden önce 60°C'lik etüvde 1 saat boyunca bekletildi. Etüvden çıkartılan preparatlar soğutulduktan sonra deparafinizasyon için gece boyu ksilolde bırakıldı. Parafinden arındırma işleminden sonra tabloda verilen boyama basamakları gerçekleştirildi.

3.9.2.1. Hematoksilen-Eozin

Hematoksilen-Eozin (Dako) boyama yöntemi için klasik protokol adımları izlendi (Tablo 2). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarının Hematoksilen-Eozin boyama seti ile boyama yapıldı (Şekil 12).

Tablo 2. Hematoksilen-Eozin boyama aşamaları.

	İşlem	Süre
Rehidratasyon Aşaması	% 100 Alkol	2 dk.
	% 100 Alkol	2 dk.
	% 95 Alkol	2 dk.
	% 80 Alkol	2 dk.
	Distile su	5 dk.
Hematoksilen-Eozin Boyama Aşaması	Hematoksilen	10 dk.
	Akarsu	1 dk. yıkama
	Asit alkol	Fazla rengi akana kadar yıkama
	Akarsu	2-3 kez daldır çıkar
	Amonyaklı su	2-3 kez daldır çıkar
	Akarsu	2-3 kez daldır çıkar
	Distile su	1 dk.
Eozin	2 dk.	
Dehidratasyon Aşaması	% 95 Alkol	1-2 kez daldır çıkar
	% 100 Alkol	1-2 kez daldır çıkar
	% 100 Alkol	2 kez daldır çıkar

3.9.2.2. Masson Trikrom

BioOptica Masson trikrom (with aniline blue 04-010802) kiti (Şekil 13) ile boyama protokolüne uygun olarak boyama yapıldı (Tablo 3).

Tablo 3. Masson Trikrom Boyama Protokolü.

İşlem	Süre
Distile su	5 dk.
6 damla A reaktifi + 6 damla B reaktifi	10 dk.
Distile su	2 dk.
10 damla C reaktifi	4 dk.
Distile su	2 dk.
10 damla D reaktifi	4 dk.
Distile su	2 dk.
10 damla E reaktifi	10 dk.
Distile su	2 dk.
10 damla F reaktifi (Masson anilin mavisini)	5 dk.
Distile su	2 dk.
%95 alkol	1-2 kez daldır çıkar
%100 alkol	1-2 kez daldır çıkar
%100 alkol	1-2 kez daldır çıkar



Şekil 13. Histolojik analizler için kullanılan Masson trikrom boya seti.

3.9.3. İmmünohistokimyasal Boyamalar

İHC prosedürü için aşağıdaki tablodaki adımlar uygulandı (Tablo 4):

Tablo 4. İHC boyama aşamaları.

Uygulanacak İşlemler	Süre
%100 Alkol	2 dk.
%100 Alkol	2 dk.
%95 Alkol	2 dk.
%80 Alkol	2 dk.
Distile su ile yıkama	5 dk.
Sodyum sitrat solüsyonu 90°C mikrodalgada	30 dk.
Soğuk su banyosu	20 dk.
Distile su	5 dk.
%0,1'lik Triton x solüsyonunda	5 dk.
%3'lük H ₂ O ₂ solüsyonu	10 dk.
PBS tamponu içerisinde 3 kez	2'şer dk.
Dokuları etrafı pappen ile çizilir ve Serum blocking solüsyonu damlatılır	30 dk.
Serum blocking solüsyonu dokudan uzaklaştırılır ve primer antikor damlatılır nemli ortamda +4°C	Gece boyu
PBS tamponu içerisinde 3 kez	2 dk.
Primer ile uyumlu biyotinlenmiş sekonder antikor	30 dk.
PBS tamponu içerisinde 3 kez	2 dk.
Streptoavidin ile işaretli antikor (HRP)	30 dk.
PBS tamponu içerisinde 3 kez	2 dk.
DAB (3,3-diaminobenzidine)	Gözle takip
Distile su ile yıkama	3 dk.
Hematoksilen	1 dk.
Çeşme suyu ile yıkama	5 dk.
Distile su ile yıkama	2 dk.
%95 alkol	Daldır çıkar şeklinde
%100 alkol	Daldır çıkar şeklinde
%100 alkol	Daldır çıkar şeklinde

3.9.3.1. Kullanılan İHC belirteçleri

Ghrelinin intrauterin adezyonlar üzerine etkilerini incelemek amacıyla seçilen primer antikolar aşağıda verilmiştir (Şekil 14).

3.9.3.1.1. VEGF

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), yeni kan damarlarının üretiminde rol oynayan önemli bir pro-anjiyogenik faktördür. VEGF, endotel hücrelerinin bölünmesini teşvik eder ve vasküler geçirgenliği korur (Y. Chen, Chang, & Yao, 2013).

3.9.3.1.2. Kolajen 1

Tip 1 kolajen, normal bağ dokuda bolca bulunan bir kolajen formudur. Tip 1 kolajen genlerinin transkripsiyonel aktivasyonu, fibrotik hastalıklarda ortaya çıkan tip 1 kolajen fibrillerinin aşırı üretimine katkıda bulunarak skar dokularının oluşumunda rol oynar (Leeming vd., 2012).

3.9.3.1.3. TNF α

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), inflamasyonun erken evrelerinde salgılanan ve hücrede nekroz veya apoptoza yol açan sinyal olaylarından sorumlu inflamatuvar bir sitokindir. Yara eksüdaları varlığında yükselen TNF- α ekspresyonu, fibröz doku hiperplazisi ve skar oluşumunun göstergesidir (Lennard, Mann, Sun, Chang, & Bolger, 2000).

3.9.3.1.4. HIF-1 α

Hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1 α), anjiyogenez ve endometriyal onarım için gerekli bir transkripsiyon faktörüdür. HIF-1 α , eritropoiez ve glikoliz dâhil olmak üzere birçok hücrel ve sistemik homeostatik tepkiye aracılık ederek yaraiyleşmesini destekler (Maybin vd., 2018).

3.9.3.1.5. FGF2

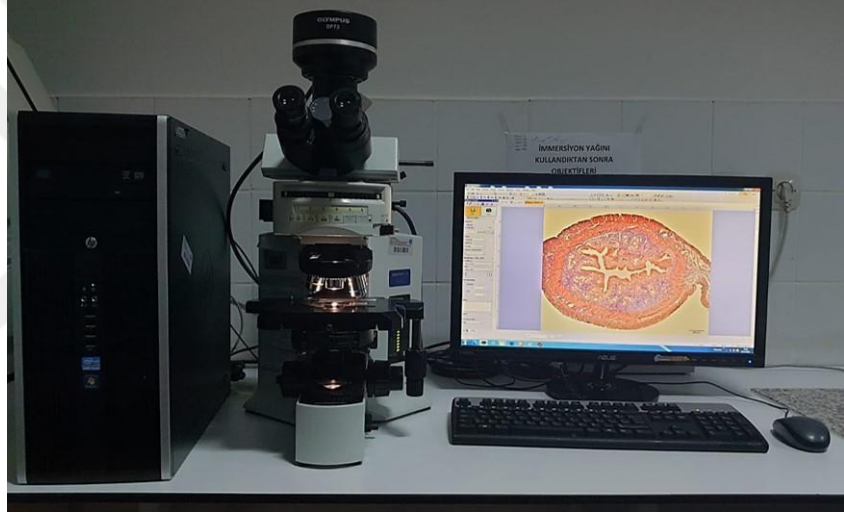
Fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF2), anjiyogenezi uyararak yara iyileşmesinde ve doku onarımında rol oynayan bir mitojendir. FGF2, normal endometriyumda reepitelyalizasyon ve stromal hücre proliferasyonu için gereklidir (Jiang vd., 2019).



Şekil 14. İmmünohistokimyasal çalışmalarda kullanılan antikorlar.

Dehidratasyon aşamasını takiben doku kesitleri havada kurutuldu ve preparatın temizlenmesi için 30 dk ksilolde bekletildi. Yarım saat sonunda ksilolden çıkarılan preparatlar entellan (Merck) damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Histokimyasal ve immunohistokimyasal boyamalardan sonra değerlendirme için preparatlar Olympus BX-51 binoküler ışık mikroskobuna entegre Olympus DP72 renkli dijital kamera ve CellSens Entry 1.7 görüntüleme yazılımı ile fotoğraflandı (Şekil 15).



Şekil 15. Olympus BX-51 binoküler ışık mikroskobuna entegre Olympus DP72 renkli dijital kamera ve CellSens Entry 1.7 görüntüleme yazılım programı.

3.10. H-Skor (Histolojik Skor)

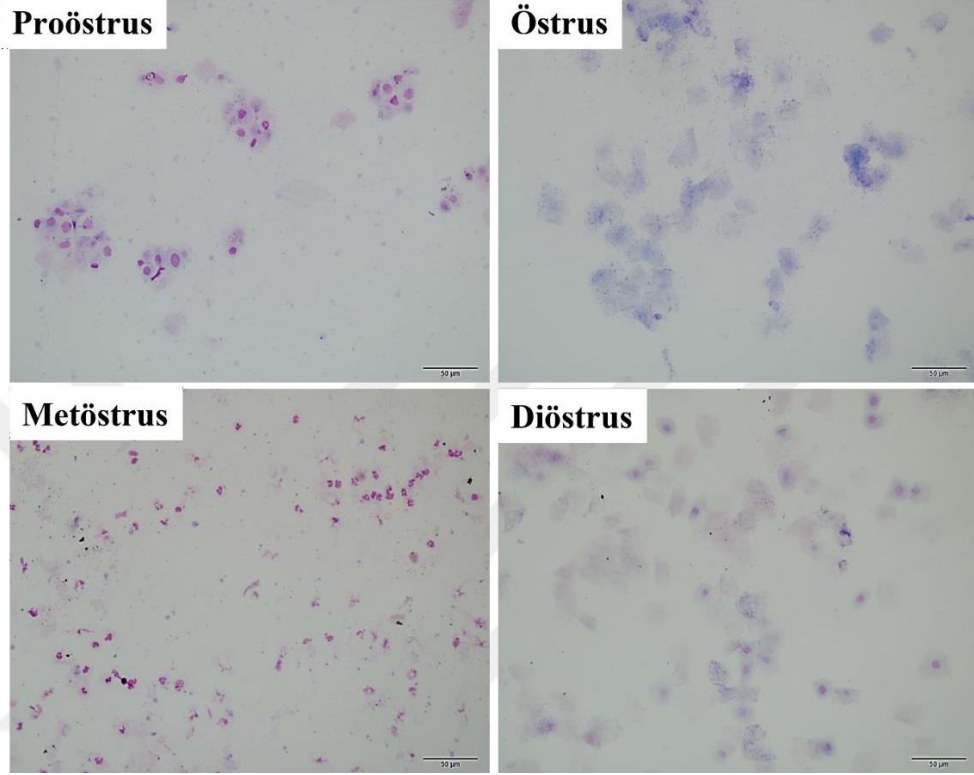
İmmünohistokimyasal değerlendirme, her gruptan 7 farklı deneğe ait preparatlardaki x40 büyütmedeki randomize 10 farklı alandan elde edilen görüntülerde immünoekspresyon dağılımı ve intensitesinin 0' dan 3'e kadar skorlanması ile gerçekleştirildi. Hiç boyama olmadığında 0 değeri alırken, zayıf immünreaktivitede 1, orta derece ekspresyonda 2, güçlü (artmış) boyanma varlığında 3 olarak değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirme iki histolog tarafından grupların içerikleri bilinmeden farklı büyütmelelerde yapıldı. Histokimyasal ve immünohistokimyasal görüntülerin eldesinde ışık mikroskobuna (Olympus BX-51) entegre renkli dijital kamera (Olympus C-5050) ile dijitalize edilen görüntüler kullanıldı.

3.11. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. (Released 2017, Armonk, NY: IBM Corp.) paket programında gerçekleştirildi. Tüm değişkenlerin Normal Dağılım gösterip göstermediğini ANOVA modellerinde elde edilen artıklar (residuals) üzerinde Shapiro Wilk Testi ile uygulanarak incelendi. 6 farklı günde ölçülen ağırlıklar ilk olarak Tekrarlayan Ölçümler için Varyans Analizi ile değerlendirildi. Analiz sonucunda grup ile günler arası etkileşim (interaction) istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu için ek analizlere gereksinim duyuldu. Her grup kendi içinde günler arası kilo değişimi bakımından yine Tekrarlayan Ölçümler için Varyans Analizi yöntemiyle incelendi. Gruplar arasında başlangıç kiloları Tek yönlü Varyans Analizi, diğer günlerde ise başlangıç kilolarına göre düzeltme yapılarak Kovaryan Analizi yöntemi ile karşılaştırıldı. Tek ölçümlü diğer tüm değişkenlerde deney grupları arası çoklu karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (normal dağılıma uyanlar) ya da Kruskal Wallis (normal dağılıma uymayanlar) yöntemi kullanıldı. Varyans analizi uygulamalarında varyans homojenlikleri Levene Testi ile incelendi, varyans homojenliği sağlanan değişkenlerde çoklu karşılaştırma için F istatistiği ve sonrasında ikili karşılaştırmalar için Bonferroni yöntemi kullanılırken, homojenliğin sağlanmadığı değişkenlerde sırasıyla Welch istatistiği ve Dunnett T3 yöntemi kullanıldı. Kruskal Wallis sonrası ikili karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmesiyle Dunn Testi ile gerçekleştirildi. Tüm istatistiksel hipotez kontrolleri 0,05 önem seviyesinde uygulandı.

Bulgular

4.1. Vajinal Sitolojik Bulgular



Şekil 16. Östrus döngüsünü belirlemek için seçilen temsili örnekler. Giemsa boyama, x20 büyütme.

Vajinal sitolojik bulgular sonucunda östrus siklusları birbirine yakın olan deney hayvanları 5'erli gruplar halinde birlikte kafeslendi ve 3 siklus bir arada kalmaları sağlandı. Daha sonra tekrar vajinal smearları alınan hayvanlardan proöstrus döneminde olanlar deneye dâhil edildi. Şekil 16'daki sitolojik bulgular karar aşamasına etki eden görsellerden temsili olarak seçildi. Hücre morfolojisi, hücre sayısı, boyanma paterni bağımsız iki histolog tarafından skorlanıp karar verildi.

4.2. Radyolojik Görüntüleme



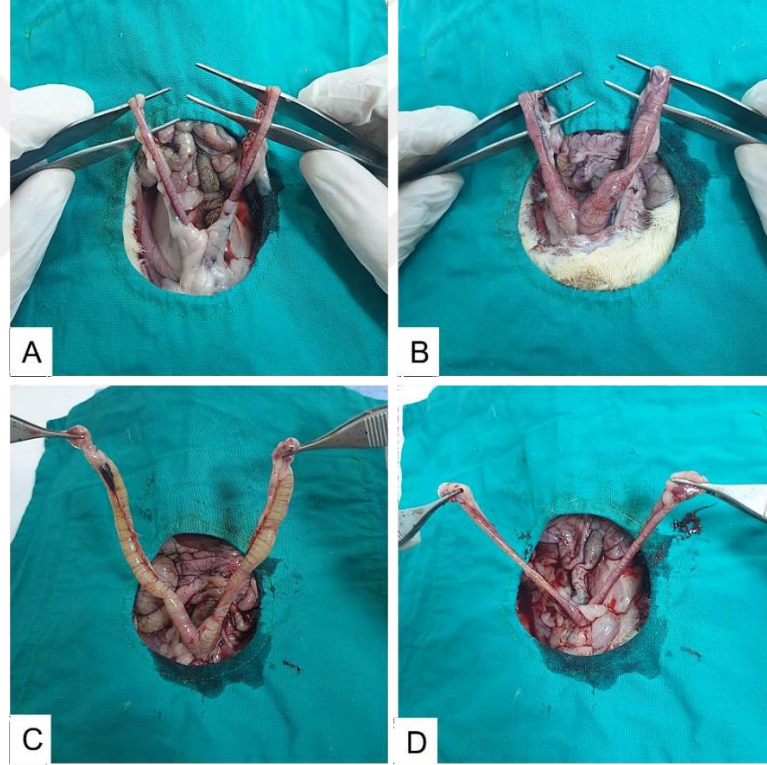
Şekil 17. Transvajinal girişim uygulanan sıçan uterusunun tayininde kullanılan X-Ray radyografisi.

Transvajinal uygulamada kullanılan opak maddenin ışması takip edilerek uterus korpus ve sağ boynuzuna TCA uygulamasının ulaşp ulaşmadığı ve lokalizasyonun kontrolü sağlandı (Şekil 17). Bu girişim sonrası doğru yere uygulama yapıldığı görüldü ve TCA uygulamasına rutin olarak geçildi.

4.3. Genel Değerlendirme

Yapılan genel değerlendirme sırasında sadece 1 dişi sıçan smear sonuçlarında yoğun nötrofil olduğu için deney dışına çıkarıldı. Yerine paralel olarak başka bir dişi sıçan eklendi. *Ad libitum* beslenen 12:12 döngüsündeki sıçanlarda herhangi bir kanama, ishal, yaralanma görülmedi.

Deney materyallerinin histopatolojik analizleri için uterus dokularının alınması sırasında diseke edilen sıçanların uterus dokularında gruplar arası makroskobik formasyonlar dikkat çekerken doz bağımlı ghrelin gruplarında kontrole yakın bir morfoloji gözlemlendi (Şekil 18).

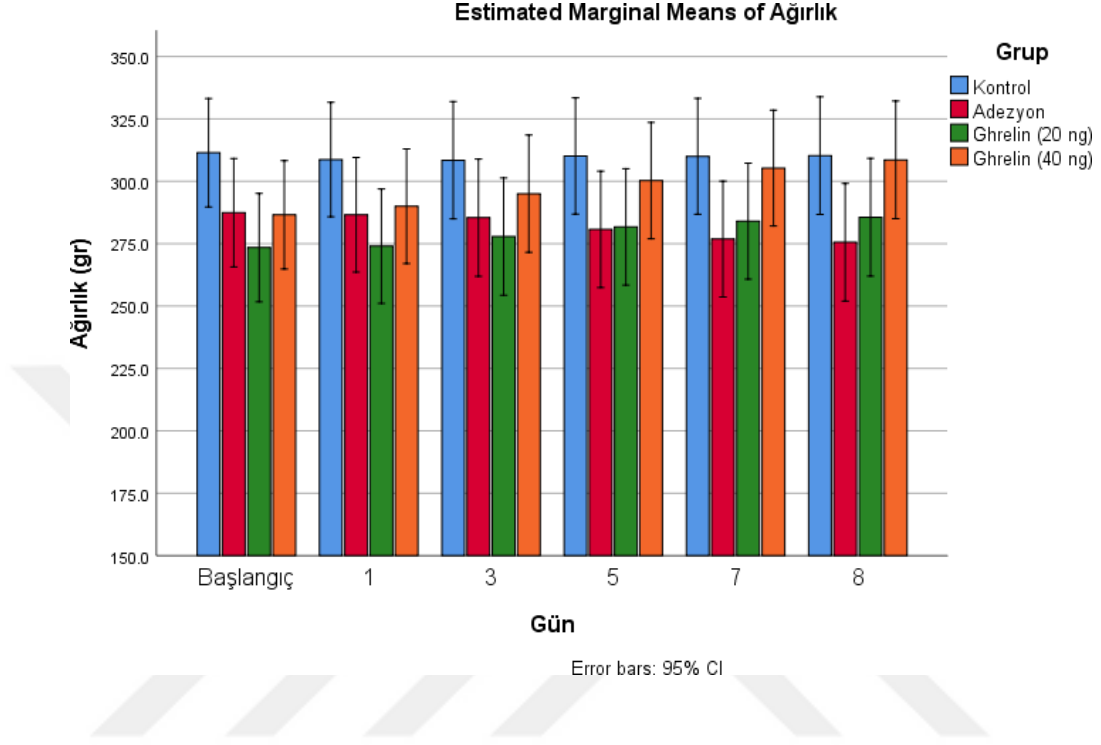


Şekil 18. Sakrifikasyon sırasında uterus dokularının makroskobik görünümü.

A: Kontrol grubu, **B:** İUA model grubu, **C:** 20 ng/kg ghrelin ile tedavi edilen grup, **D:** 40 ng/kg ghrelin ile tedavi edilen grup

4.4. Deney Süresince Sıçanlardaki Ortalama Ağırlık Değişimi

Grafik 1. Deney hayvanlarının ağırlık değişimleri.



Deney hayvanlarının ağırlık değişimleri gruplar ve günler arasında tekrarlayan ölçümler için varyans analizi ile değerlendirildi (Grafik 1). Analiz sonucunda grup ile günler arası etkileşim (interaction) istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Bu nedenle ilk olarak her grup kendi içinde günler arası ağırlık değişimi bakımından ayrı ayrı incelendi.

Tablo 5. Deney hayvanlarının ağırlık değişimi tablosu.

Grup	N=7	Başlangıç	1.Gün	3. Gün	5. Gün	7. Gün	8.Gün	p (Günler arası)
Kontrol	Ortalama	311,4	308,7	308,4	310,1	310,0	310,3	0,567 (a)
	Std. Sapma	20,61	25,24	25,97	24,28	26,28	26,02	
Adezyon	Ortalama	287,4	286,6	285,4	280,7	276,9	275,6	0,003 (a)
	Std. Sapma	10,94	11,31	12,22	11,21	10,25	15,66	
Ghrelin (20 ng)	Ortalama	273,4	274,0	277,9	281,7	284,0	285,6	<0,001 (a)
	Std. Sapma	43,19	43,73	45,05	45,98	45,61	45,92	
Ghrelin (40 ng)	Ortalama	286,6	290,0	295,0	300,3	305,3	308,6	<0,001 (a)
	Std. Sapma	26,27	27,96	27,84	27,21	25,87	24,99	
p (Gruplar arası)		0,093 (b)	0,095 ©	0,003 ©	<0,001 ©	<0,001 ©	<0,001 ©	

(a): Tekrarlayan ölçümler için varyans analizi

(b): Tek yönlü varyans analizi

(©): Kovaryans analizi

Kilo değişimi bakımından Tablo 5 incelendiğinde kontrol grubunda günler arası farklılıklar anlamlı değilken ($p=0,0567$), adezyon ($p=0,003$), 20 ng ve 40 ng ghrelin gruplarında ($p<0,001$) anlamlı bulundu. Kilo değişiminin anlamlı bulunduğu gruplar için Bonferroni yöntemi ile günler arası ikili karşılaştırmalar gerçekleştirildi. Tablo 5'te verilen ortalama değerler incelendiğinde adezyon grubunda ağırlık değişiminde azalma, ghrelin gruplarında ise artış yönünde olduğu görüldü. Adezyon grubunda sadece başlangıç ile 7. gün ağırlıkları arasındaki farklılık anlamlı bulundu ($p=0,007$). Ghrelin grupları için günler arası ikili karşılaştırma sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 6 ve Tablo 7'de özetlendi. Tablolardaki p değerleri incelendiğinde başlangıça göre 1. ve 3. gün dışındaki tüm ikili farkların anlamlı olduğu görüldü. 5. gün ve sonrasında günler arası tüm ikili farkların anlamlı olduğu ve deneklerde ağırlık artışı olduğu belirlendi ($p<0,001$).

Tablo 6. Ghrelin (20 ng) grubu için günler arası ikili karşılaştırma sonucunda elde edilen p değerleri.

Ghrelin (20 ng)					
1. Gün	1,000				
3. Gün	0,171	0,029			
5. Gün	0,029	0,008	0,044		
7. Gün	0,005	0,001	0,006	0,004	
8. Gün	0,003	0,001	0,002	0,002	0,004
Günler	Başlangıç	1. Gün	3. Gün	5. Gün	7. Gün

Tablo 7. Ghrelin (40 ng) grubu için günler arası ikili karşılaştırma sonucunda elde edilen p değerleri.

Ghrelin (40 ng)					
1. Gün	1,000				
3. Gün	0,075	0,002			
5. Gün	0,009	<0,001	<0,001		
7. Gün	0,001	<0,001	<0,001	0,004	
8. Gün	0,001	<0,001	0,001	0,002	0,017
Günler	Başlangıç	1. Gün	3. Gün	5. Gün	7. Gün

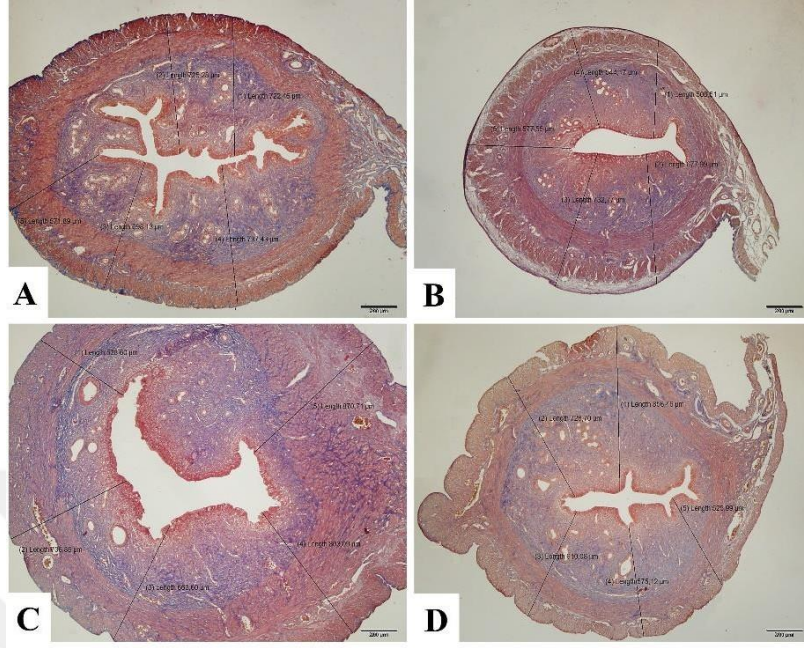
Tablo 5'teki her bir gün için gruplar arası ağırlıkların karşılaştırma sonuçlarına göre, başlangıç ($p=0,093$) ve 1. gün ($p=0,093$) dışındaki günlerde gruplar arası farklar anlamlı bulundu. Anlamlı farkın bulunduğu günler arası ikili karşılaştırma sonuçları Tablo 8'de özetlendi.

Tablo 8. Deney gruplarının kilo değişimlerinin ikili karşılaştırmaları.

Grup	3. Gün	5. Gün	7. Gün	8. Gün
Kontrol x Ghrelin (20 ng)	0,075	0,021	0,001	0,012
Kontrol x Ghrelin (40 ng)	0,005	<0,001	<0,001	<0,001
Adezyon x Ghrelin (20 ng)	0,210	<0,001	<0,001	<0,001
Adezyon x Ghrelin (40 ng)	0,020	<0,001	<0,001	<0,001

3. günde kontrol ve adezyon grupları ile ghrelin (20 ng) grubu arasındaki farklar anlamlı bulunmazken, kontrol ve adezyon grupları ile ghrelin (40 ng) grupları arasındaki tüm farklar anlamlı bulundu. Ghrelin gruplarındaki deneklerin kiloları diğer iki gruba göre daha yüksek olarak görüldü (Tablo 8).

4.5. Uterus Duvar Kalınlığı Ölçümleri ve İstatistiksel Değerlendirmesi

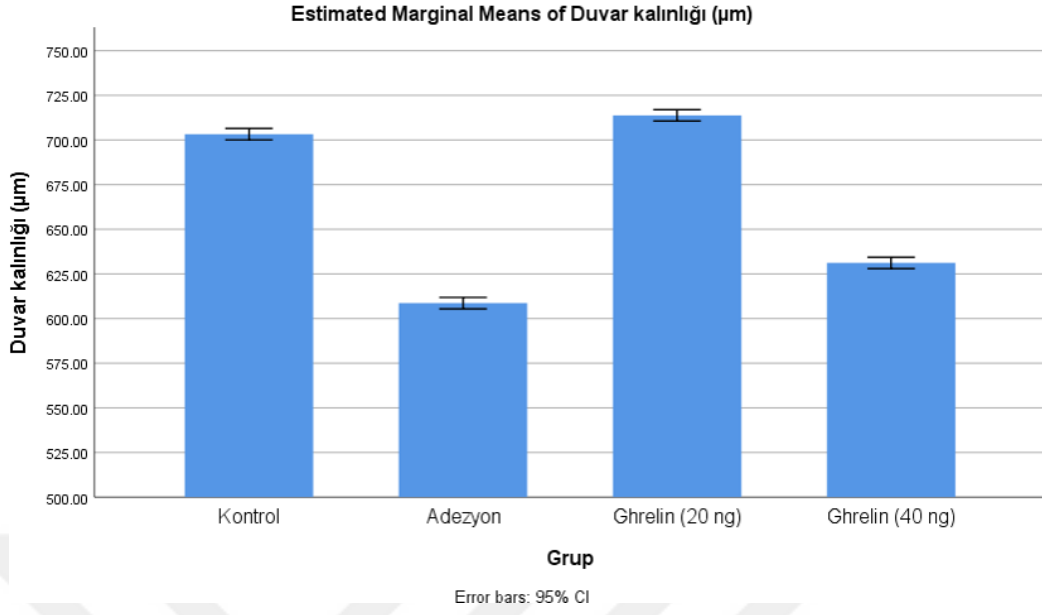


Şekil 19. Uterus duvar kalınlığı ölçümlerinde randomize 5 farklı alandan alınan ölçümlere örnekler.

A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A, B, C, D x4 büyütme.

Deney gruplarındaki her hayvandan alınan kesitlerde rastgele 5 alanın ortalaması alınarak ortalama duvar kalınlığı ölçüldü (Şekil 19). Ortalama skorların gruplardaki düzeyde %95'lik güven barları ile birlikte Grafik 2'de verildi.

Grafik 2. Gruplar arası uterus dokularının ortalama duvar kalınlığı.



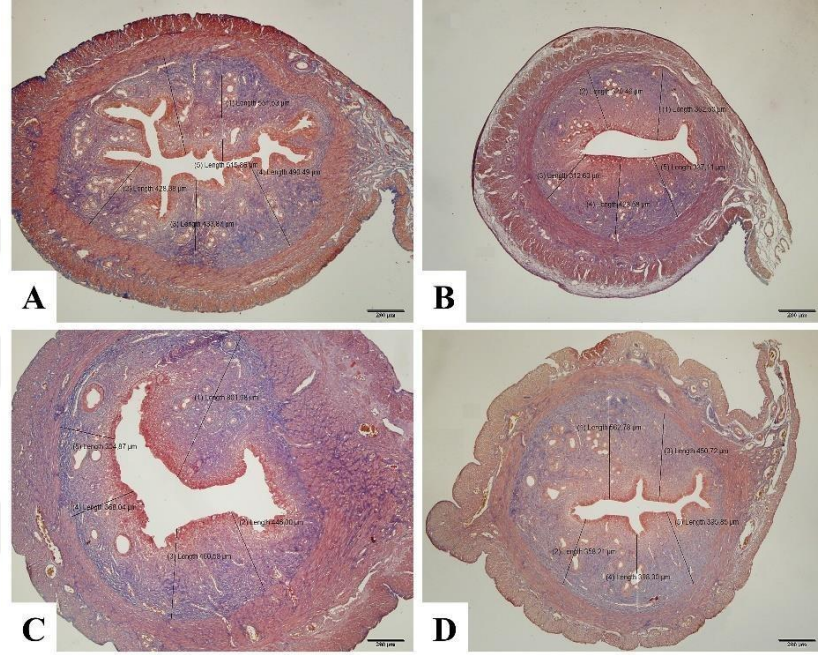
Tablo 9. Uterus duvar kalınlıklarının istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.

Grup	Ortalama	Std. Sapma	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	703,2	7,37	<0,001	<0,001	0,041	<0,001
Adezyon	608,6	1,96		<0,001	<0,001	
Ghrelin (20 ng)	713,8	2,46		<0,001		
Ghrelin (40 ng)	631,2	1,66		<0,001		

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında duvar kalınlıklarının istatistiksel değişimi Tablo 9’da verildi. Kontrol ve ghrelin (20 ng) grubu hariç ($p=0,041$) diğer tüm ikili farklar anlamlı bulundu ($p<0,001$). Adezyon grubunda duvar kalınlığının en düşük olduğu saptandı.

4.6. Endometriyum Kalınlığı Ölçümleri ve İstatistiksel Değerlendirmesi

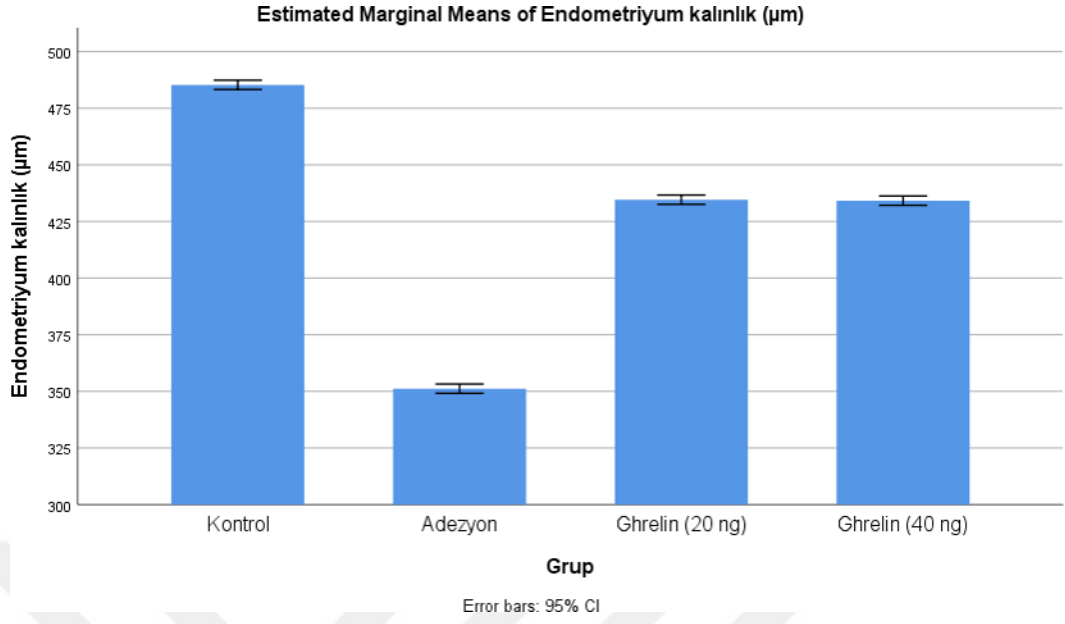
Deney gruplarındaki her hayvandan alınan kesitlerde rastgele 5 farklı alanın ortalaması alınarak ortalama endometriyum kalınlığı ölçüldü (Şekil 20). Ortalama skorların gruplardaki düzeyde %95'lik güven barları ile birlikte Grafik 3'te verildi.



Şekil 20. Endometriyum kalınlığı ölçümlerinde randomize 5 farklı alandan alınan ölçümlere örnekler.

A. Kontrol grubu, B. Adezyon modeli uygulanmış grup, C. 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, D. 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A, B, C, D x4 büyütme.

Grafik 3. Gruplar arası ortalama endometriyum kalınlığı.



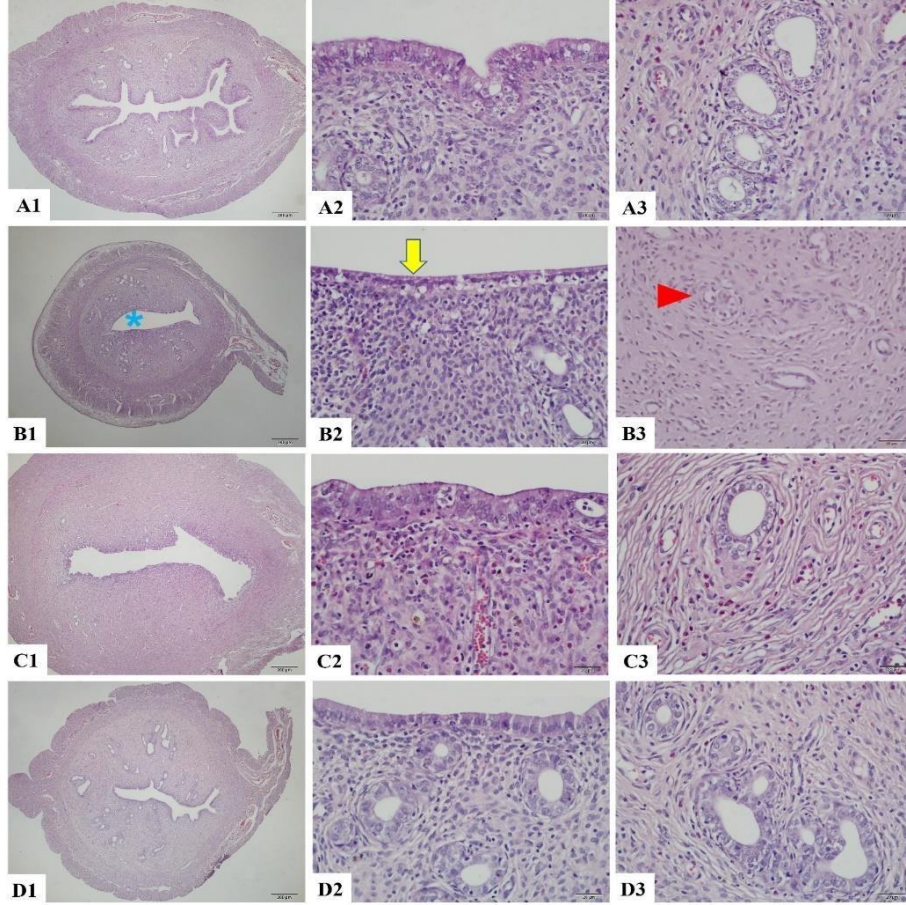
Tablo 10. Endometriyum kalınlıklarının istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.

Grup	Ortalama	Std, Sapma	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	485,3	3,60	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Adezyon	351,2	2,54		<0,001	<0,001	
Ghrelin (20 ng)	434,6	1,81		<0,001		
Ghrelin (40 ng)	434,2	2,21		<0,001		

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında endometriyum kalınlığının istatistiksel değişimi Tablo 10’da verildi. Tüm ikili farklar anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Adezyon grubunda endometriyum kalınlığının en düşük seviyede olduğu görüldü. Ghrelin uygulamasının ise endometriyum kalınlığını arttırdığı saptandı ($p < 0,001$).

4.7. Histokimyasal Bulgular

4.7.1. Hematoksilen-Eozin Boyama



Şekil 21. Uterus dokusu histolojik görünümü. Hematoksilen-Eozin ile boyanması.

A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A1, B1, C1, D1 x4 büyütme, A2, B2, C2, D2-A3, B3, C3, D3. x40 büyütme. **Asteriks.** Lümen, **Sarı ok.** Alçak boylu lümen epiteli, **Kırmızı ok başı.** Dejenere uterus bezleri.

Genel doku morfolojisini değerlendirmek amacıyla en sık kullanılan histokimyasal boya olan Hematoksilen-Eozin boyası kullanıldı (Şekil 21).

Grup 1'e ait uterus dokularının tüm katmanları proöstrus evresine uygun olarak normal histomorfolojik yapıda görüldü. Organın tam ortasında genişçe bir lümeneye sahip olduğu ve lümeni örten tek katlı prizmatik silyalı epitelin normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Endometriyum derinlerinde yerleşmiş uterus bezleri saptandı. İçte

sirküler dışta longitudinal yerleşen miyometriyum tabakası da normal yapıda görüldü. Organı en dıştan perimetriyum ile sarıldığı saptandı.

Grup 2'ye ait uterus kesitlerinde TCA etkisiyle endometriyum ve miyometriyum katmanlarında fibrotik odakların varlığı saptandı. Endometriyum epitelinin alçakkübik yer yer yassı şekilli olduğu ve bazı alanlarda yer yer silindiği görüldü. Endometrium fonksiyonliste uterus bezlerinin Grup 1'e kıyasla az sayıda olduğu, endometrium bazaliste ise bezlerin derin kısımlarının yer aldığı görüldü. Ayrıcalümenin total olarak daraldığı saptandı. Uterus bezlerin arasını dolduran bağ dokuda, yoğun polimorf nükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonu ve bağ dokusu liflerinde artış olduğu görüldü.

Grup 3'e ait uterus kesitlerinin gross morfolojilerinin Grup 1'e benzer olduğu saptandı. Endometriyum epitelinin Grup 1'e yakın olduğu görüldü. Lümendeki daralmanın ortadan kalktığı saptandı ve Grup 2'ye göre daha fazla sayıda bez içerdiği ve endometrium bazaliste bezlerin derin kısımlarında minimal derecede dejenere olduğu görüldü. Uterus bezlerin arasını dolduran bağ dokuda düşük/orta seviyede ödem varlığı saptandı. Bu alanda PMNL infiltrasyonu ile uyumlu bir görünüm hâkim idi. Yine bu alandan geçen damarlarda düşük/orta seviyede dilatasyon saptandı.

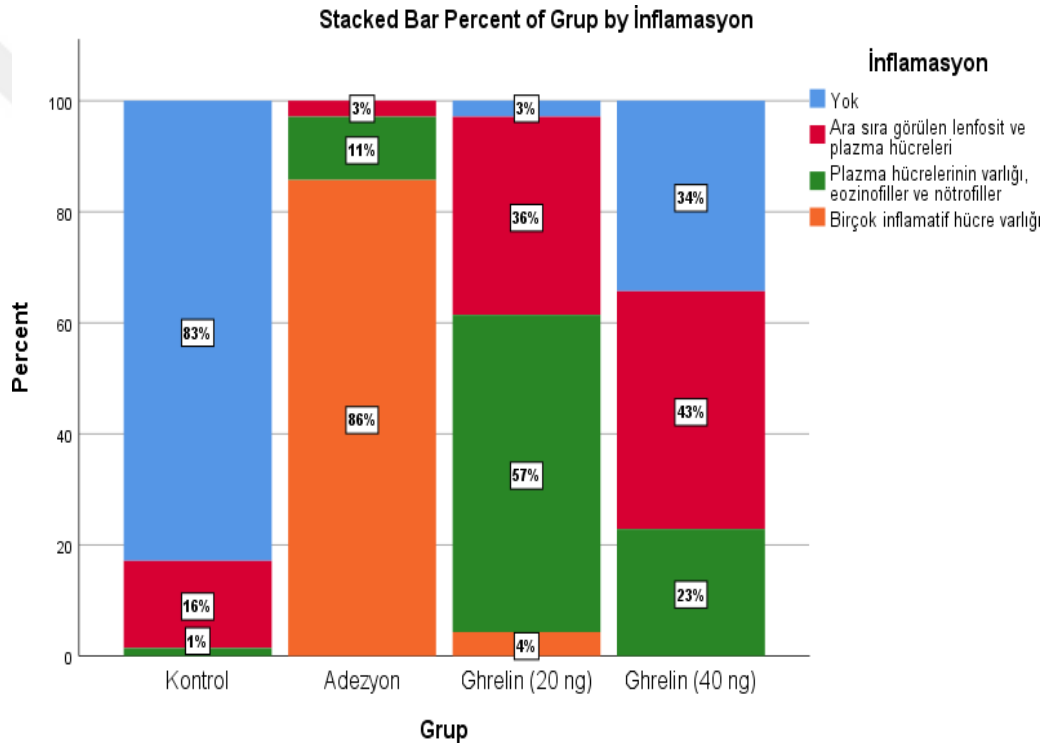
Grup 4'e ait uterus kesitlerinde, Grup 3'e benzer şekilde, gross morfolojilerin Grup 1'e benzer olduğu saptandı. Endometriyal epitelin Grup 1'e oldukça yakın olduğu görüldü. Grup 2'ye göre çok daha fazla sayıda bez içerdiği, endometrium bazaliste ise endometriyal bezlerin derin kısımlarının normal yapı ve sayıda yer aldığı görüldü. Uterus bezlerin arasını dolduran bağ dokuda ödem görülmesi de PMNL infiltrasyonu ile uyumlu bir görünüm saptandı. Damarlardan ekstravaze olan hücrelerin varlığı belirgin biçimde görüldü.

İnflamasyon bulgusunu değerlendirmek için histopatolojik skorlama yapıldı ve inflamasyonun gruplara göre nasıl değiştiği belirlendi.

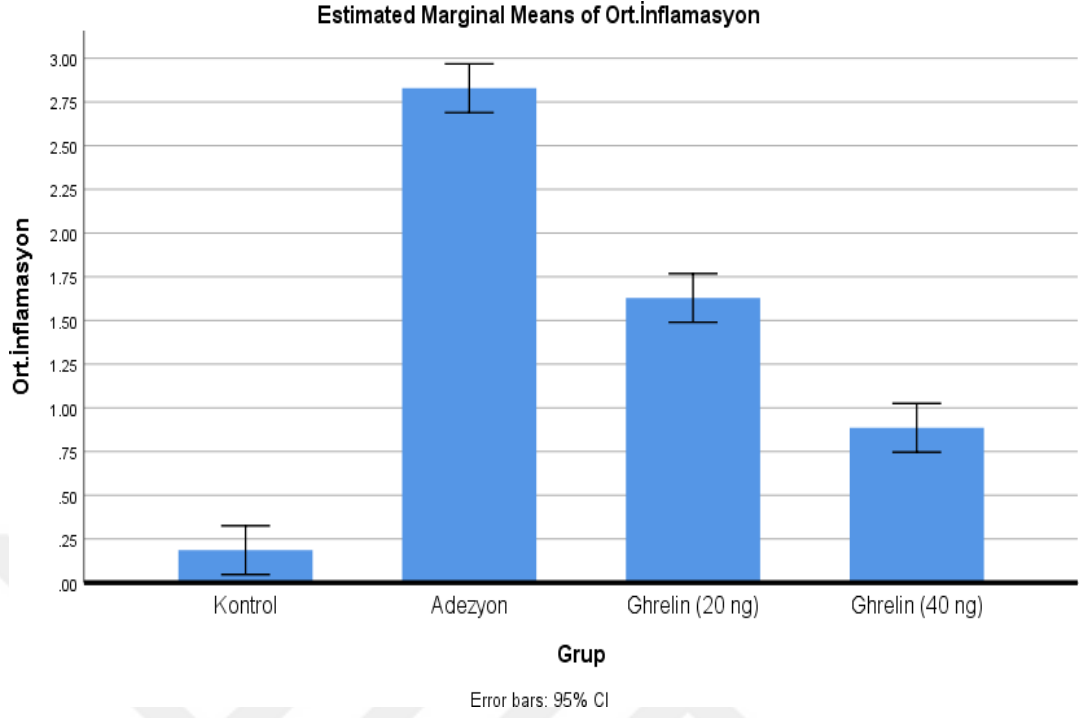
4.7.1.1. Deney Gruplarında İnflamasyon Bulgusunun Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında rastgele 10 farklı alanda gözlemlenen inflamasyon bulguları skorlandırılıp Grafik 4'te özetlendi. Her bir denekte 10 alanın ortalaması alınarak ortalama inflamasyon skorları elde edildi. Ortalama skorların gruplardaki düzeyde %95'lik güven barları ile birlikte Grafik 5'te verildi.

Grafik 4. İnflamasyonun skor dağılımları.



Grafik 5. Ortalama inflamasyon skorlarının gruplara özel istatistikleri.

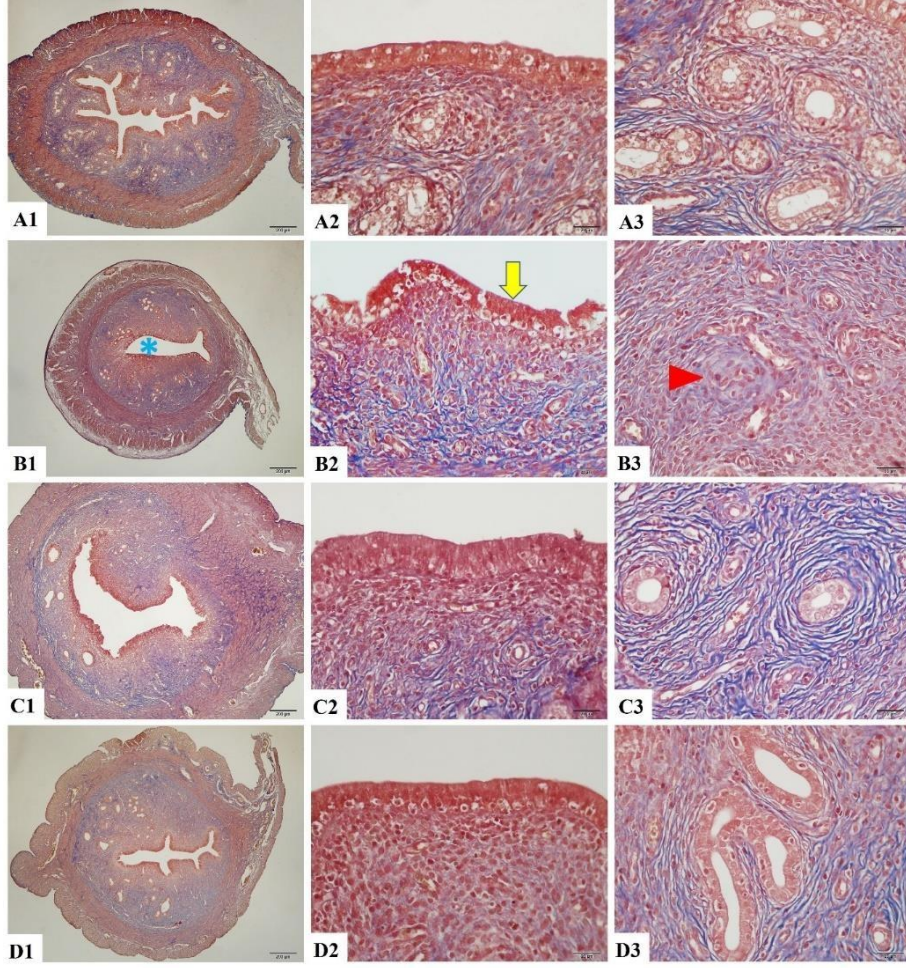


Tablo 11. İnflamasyon istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.

Grup	Ortalama	Std. Sapma	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	0.19	0.090	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Adezyon	2.83	0.170		<0,001	<0,001	
Ghrelin (20 ng)	1.63	0.189		<0,001		
Ghrelin (40 ng)	0.89	0.234		<0,001		

Gruplar arası çoklu karşılaştırma sonucunda farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Ayrıca gruplar arası tüm ikili farklar da anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Adezyon grubunda inflamasyon en yüksek seviyede iken ghrelin uygulaması sonrası inflamasyonun doza bağlı azaldığı saptandı (Tablo 11).

4.7.2. Masson Trikrom



Şekil 22. Uterus dokusu histolojik görünümü. Masson trikrom (with aniline blue) ile boyanması.

A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A1, B1, C1, D1. x4 büyütme, A2, B2, C2, D2- A3, B3, C3, D3. x40 büyütme. **Asteriks.** Lümen, **Sarı ok.** Alçak boylu lümen epiteli, **Kırmızı ok başı.** Dejenere uterus bezleri.

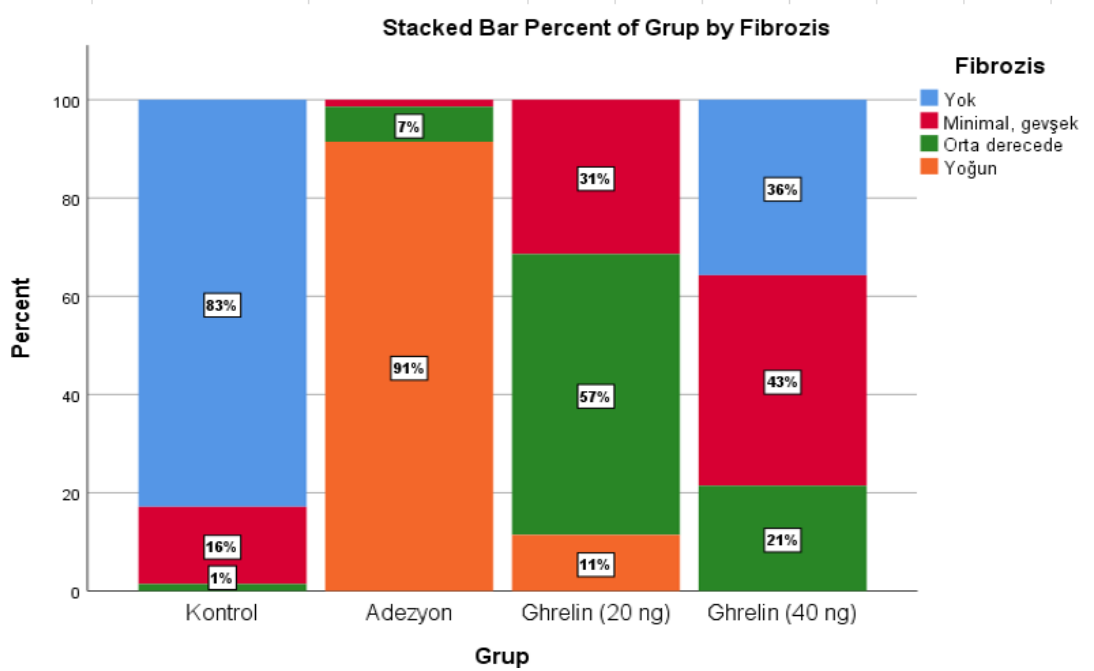
Masson trikrom boyama kas, kolajen lifler ve bağ dokunun görüntülenmesi rutin olarak kullanılmaktadır. Dokularda kas ve kolajen liflerin boyanmasında kullanılan Anilin mavisi kolajene bağlanarak belirgin bir mavi renk almasını sağlar. Fibrozis görüntülenmesinde önemli bir boyama yöntemidir.

Grup 1'e ait uterusu ait histolojik yapıların normal yapıda görüldü. Grup 2'de mavi renkteki kolajen liflerin miktarında çok belirgin artış olduğu saptandı. Ayrıca bu alanlarda uterinal bezlerin oldukça az sayıda olduğu görüldü. Grup 3'te uterus bezlerin arasını dolduran bağ dokuda hafif/orta derecede ödem varlığı daha önce tariflenmiş idi. Bu alanda mavi boyanan liflerin Grup 2'ye kıyasla azalma eğiliminde olduğu görüldü. Grup 4'te ise kolajen lif dağılımının Grup 1'e yakın olduğu saptandı (Şekil 22).

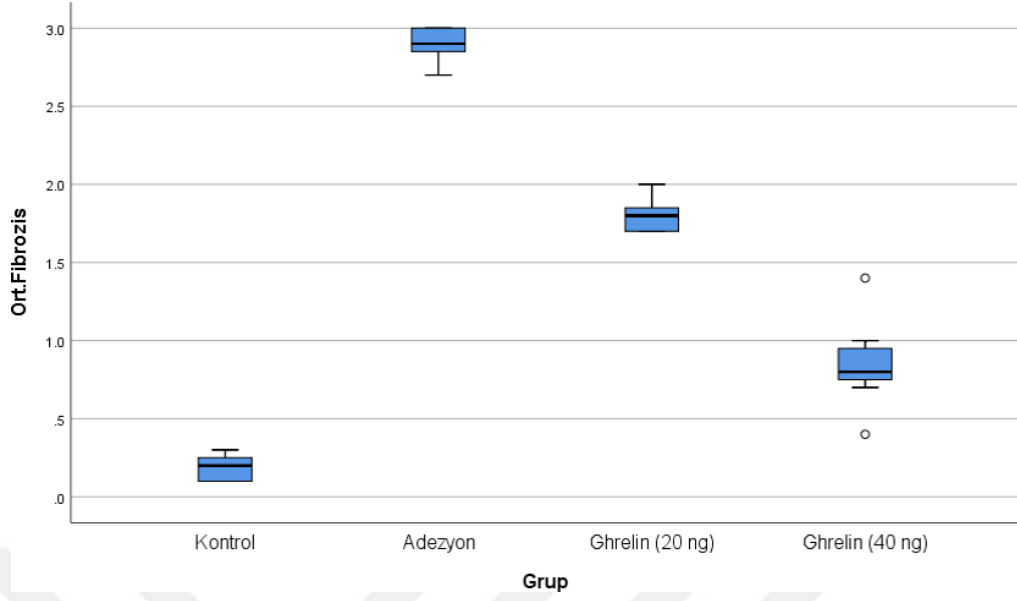
4.7.2.1. Deneysel Gruplarında Fibrozis Bulgusunun Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirme sonucu deneysel gruplarında rastgele 10 farklı alanda gözlemlenen fibrozis bulguları skorlandırılıp Grafik 6'da özetlendi. Her bir denekte 10 alanın ortalaması alınarak ortalama fibrozis skorları elde edildi. Ortalama skorların gruplardaki düzeyde kutu grafiği olarak Grafik 7'de verildi.

Grafik 6. Fibrozis yüzdesi skor dağılımları.



Grafik 7. Ortalama fibrozis skorlarının gruplara özel istatistikleri.



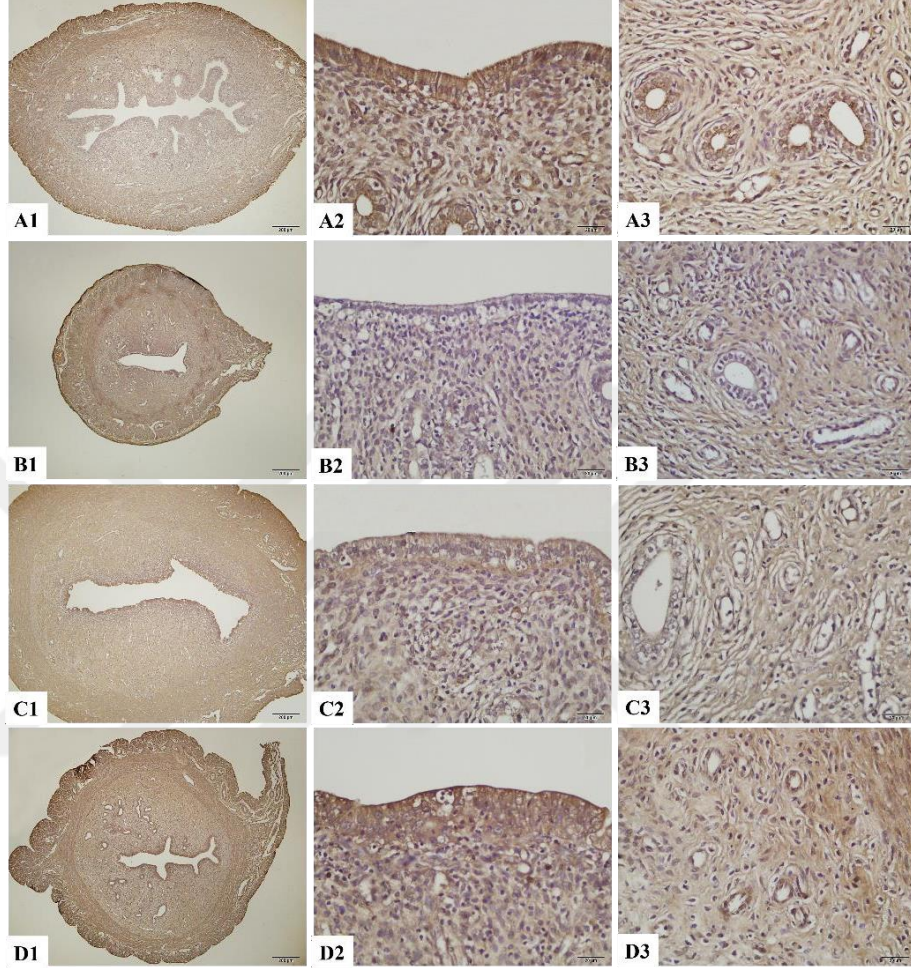
Tablo 12. Ortalama fibrozis düzeyleri ortanca, minimum ve maksimum değerleri ve gruplar arası ikili karşılaştırmalar.

Grup	Ortanca	Min-Max	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	0,2	0,1-0,3	<0,001	<0,001	0,138	0,074
Adezyon	2,9	2,7-3,0			0,074	0,138
Ghrelin (20 ng)	1,8	1,7-2,0				1,000
Ghrelin (40 ng)	0,8	0,4-1,4				

Tablo 12’de ortalama fibrozis düzeyleri ortanca, minimum ve maksimum değerler veriler özetlendi. Gruplar arası çoklu karşılaştırma sonucunda farklılık anlamlı bulundu ($p<0,001$). İkili karşılaştırmalarda sadece kontrol ve adezyon grupları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0,001$). Fibrozis düzeyleri en yüksek adezyon grubunda gözlemlendi.

4.8. İmmünohistokimyasal bulgular

4.8.1. Anti-VEGF



Şekil 23. Uterus dokusunun anti-VEGF ile İHC boyanması.

A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A1, B1, C1, D1. x4 büyütme, A2, B2, C2, D2- A3, B3, C3, D3. x40 büyütme.

VEGF, endotelial hücre proliferasyonunu arttıran, hücre göçünü destekleyen ve apoptozu inhibe eden bir faktördür. Damar geçirgenliğinin yanı sıra anjiyogenezi indükler ve vaskülojenin düzenlenmesinde rol oynar.

Grup 1’de normal dokuda yüksek seviyede dağılım gösterdiği saptanmış olup bağ dokusu içindeki damar endotelleri ve bağ dokunun temel maddesi içinde dağılmış olduğu tespit edildi.

Grup 2’de Grup 1’e kıyasla azalmış bir VEGF ekspresyonu olduğu görüldü. Özellikle damar endotelleri ve bağ dokunun temel maddesi ve uterinal bezlerde minimum seviyede ekspresyon varlığı gözlenirken yer yer de ekspresyon edilmediği saptandı.

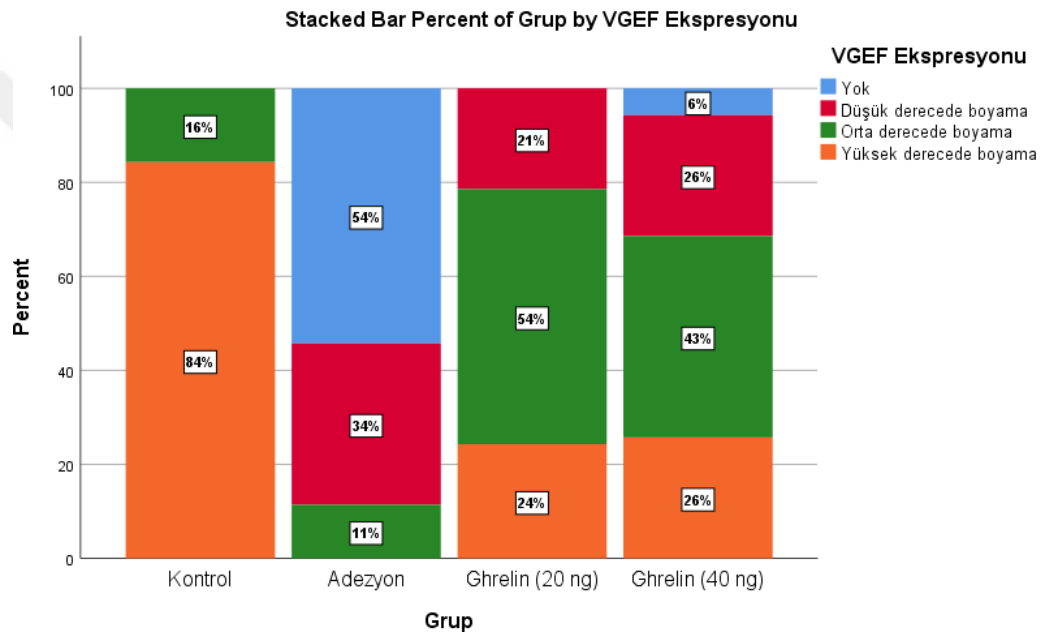
Grup 3 ve Grup 4’te birbirine benzer bir boyama paterni söz konusudur. Damar endotelleri ve bağ dokunun temel maddesi ve uterinal bezlerde ekspresyonun devam ettiği görüldü. Grup 2’den yüksek fakat Grup 1’den düşük seviyede VEGF ekspresyonu gözlemlendi ($p < 0,001$) (şekil 23).



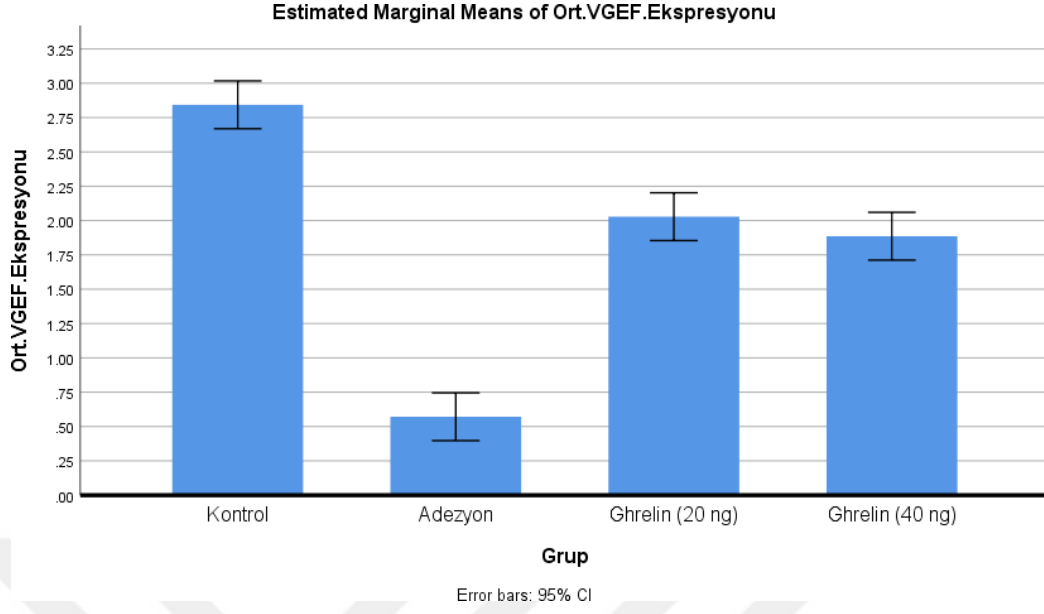
4.8.1.1. DeneY Grularında VEGF Ekspresyonunun Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirme sonucu deneY gruplarında rastgele 10 farklı alanda gözlemlenen inflamasyon bulguları skorlandırılıp Grafik 8’de özetlendi. Her bir denekte 10 alanın ortalaması alınarak ortalama VEGF ekspresyon skorları elde edildi. Ortalama skorların gruplardaki düzeyde %95’lik güven barları ile birlikte Grafik 9’da verildi.

Grafik 8. VEGF ekspresyonunun skor dağılımları.



Grafik 9. Ortalama VEGF skorlamaları.

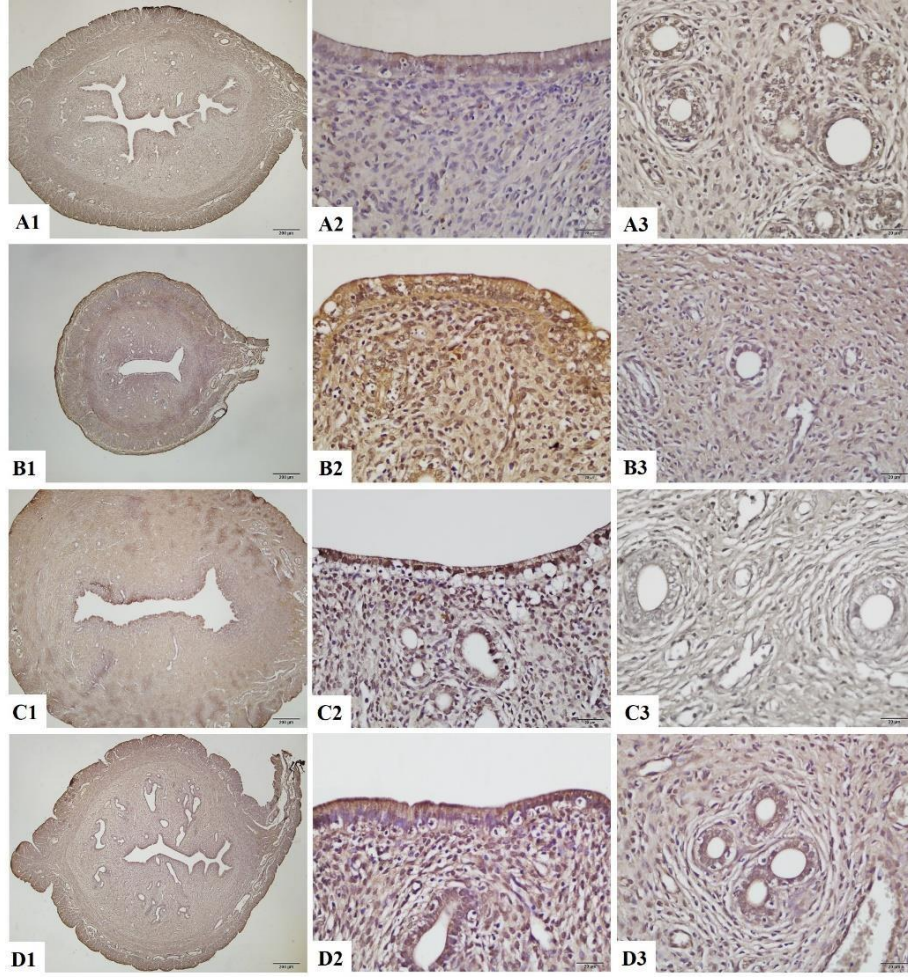


Tablo 13. VEGF istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.

Grup	Ortalama	Std, Sapma	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	2,84	0,098	<0,001	<0,001	<0,001	0,001
Adezyon	0,57	0,189			<0,001	<0,001
Ghrelin (20 ng)	2,03	0,189				0,900
Ghrelin (40 ng)	1,89	0,344				

Histopatolojik değerlendirme sonucu tüm deney gruplarında VEGF ekspresyonunun istatistiksel değişimi Tablo 13'te verildi. Ghrelin 20 ng ve ghrelin 40 ng grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,900$). Bunun dışındaki tüm ikili farklar anlamlılık gösterdi ($p<0,001$). Adezyon grubunda VEGF en düşük seviyede iken kontrol grubunda en yüksek düzeyde saptandı.

4.8.2. Anti-kolajen 1



Şekil 24. Uterus dokusunun anti-kolajen 1 ile İHC boyanması.

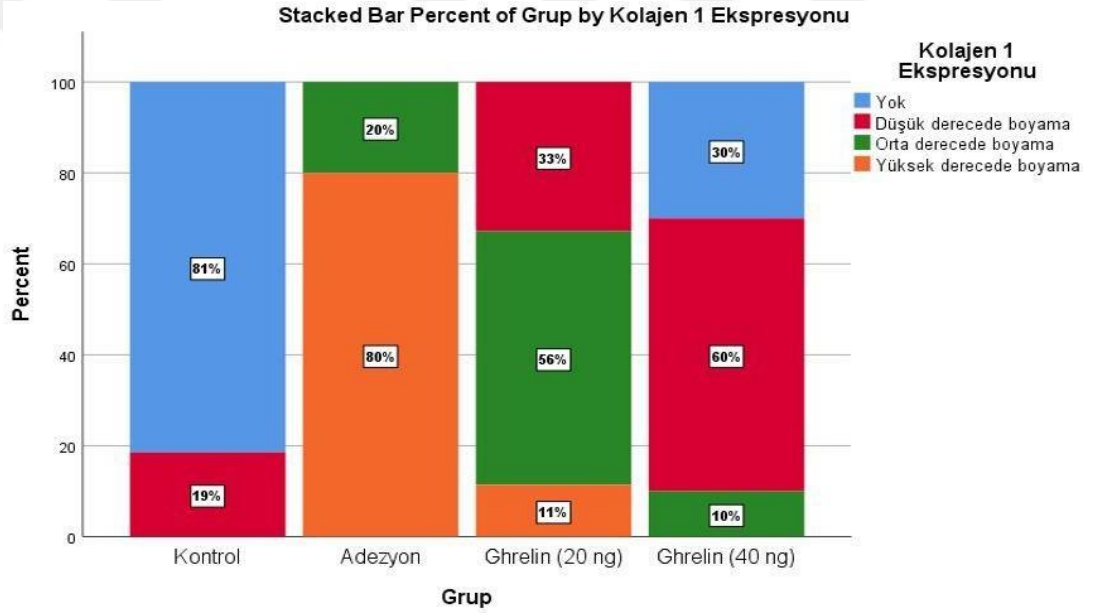
A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A1, B1, C1, D1. x4 büyütme, A2, B2, C2, D2- A3, B3, C3, D3. x40 büyütme.

Grup 1’de normal histolojik dağılım saptandı. Grup 2’de tip 1 kolajen liflerin miktarında artış olduğu saptandı. Grup 3’te yer yer tip 1 kolajen ekspresyonunun yoğun olduğu alanlar görüldü. Grup 4’te ise tip 1 kolajen lif dağılımının Grup 1’e yakın olduğu görüldü ($p<0,001$) (Şekil 24).

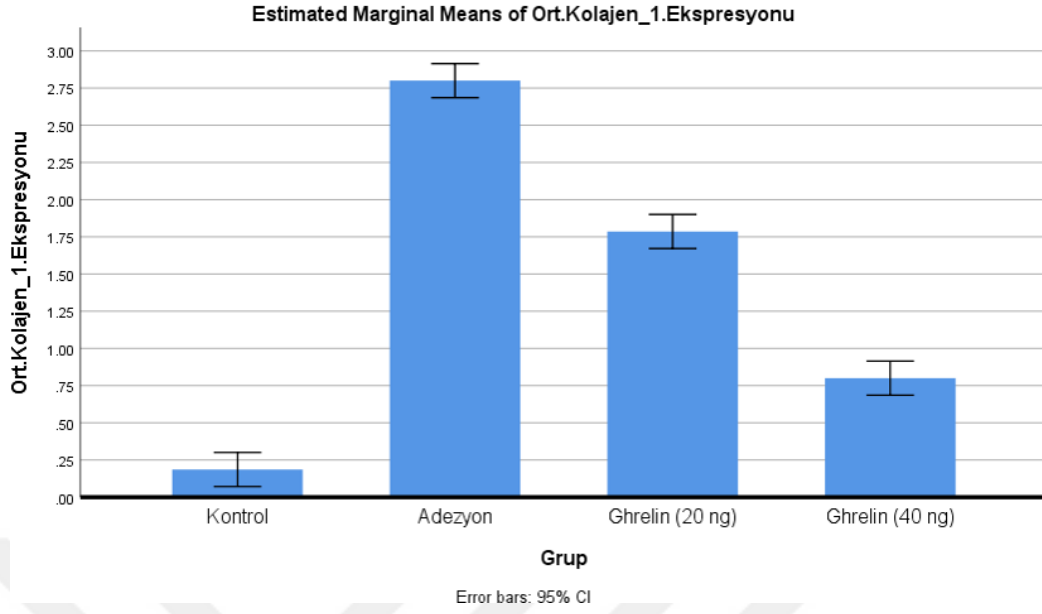
4.8.2.1. Deney Gruplarında Tip 1 Kolajen Ekspresyonunun Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında rastgele 10 farklı alanda gözlemlenen tip 1 kolajen ekspresyon bulguları skorlandırılıp Grafik 10'da özetlendi. Her bir denekte 10 alanın ortalaması alınarak ortalama tip 1 kolajen ekspresyon skorları elde edildi. Ortalama skorların gruplardaki düzeyde %95'lik güven barları ile birlikte Grafik 11'de verildi.

Grafik 10. Tip 1 kolajen ekspresyonu skor dağılımları.



Grafik 11. Ortalama Tip 1 kolajen skorlamaları.

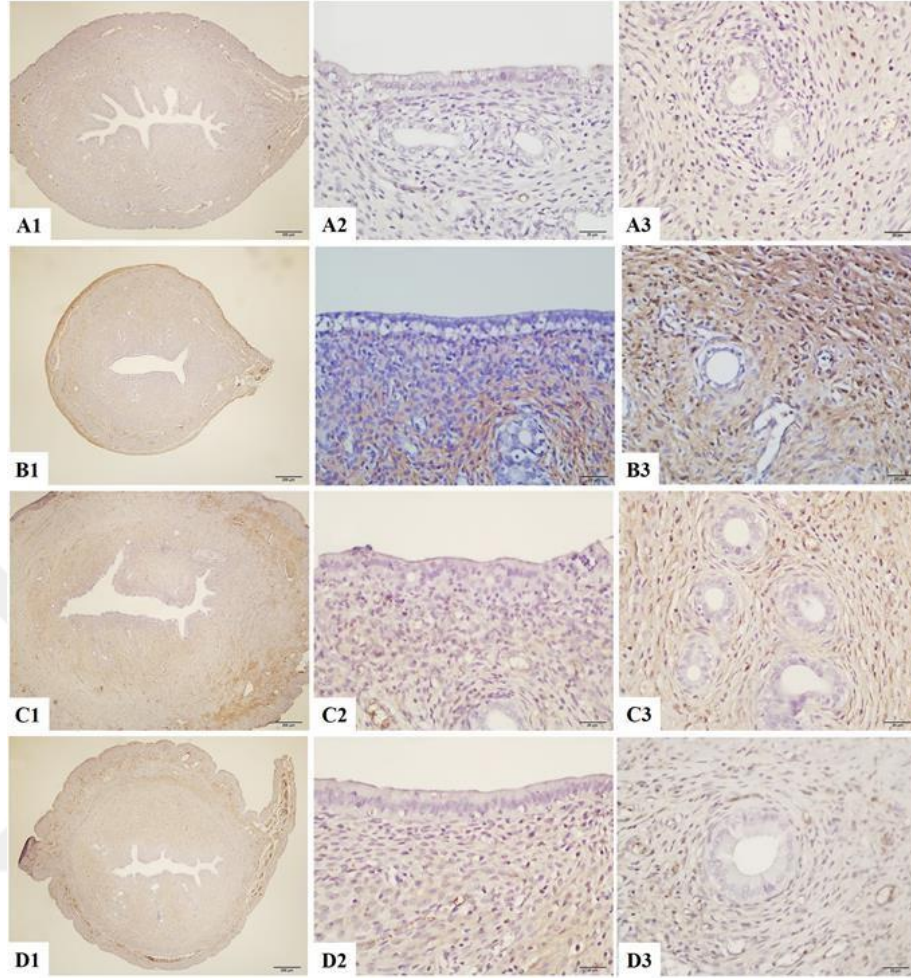


Tablo 14. Tip 1 kolajen istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.

Grup	Ortalama	Std, Sapma	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	0,19	0,069	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Adezyon	2,80	0,129		<0,001	<0,001	
Ghrelin (20 ng)	1,79	0,177		<0,001		
Ghrelin (40 ng)	0,80	0,183		<0,001		

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında tip 1 kolajen dağılımının istatistiksel değişimi Tablo 14’te verildi. Tüm ikili farklar anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Tip 1 kolajen ekspresyonun adezyon grubunda en yüksek seviyede saptandı. Ghrelin tedavisi sonrası doza bağlı olarak ekspresyonun azaldığı saptandı.

4.8.3. Anti-TNF α



Şekil 25. Uterus dokusunun anti-TNF α ile İHC boyanması.

A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A1, B1, C1, D1. x4 büyütme, A2, B2, C2, D2- A3, B3, C3, D3. x40 büyütme.

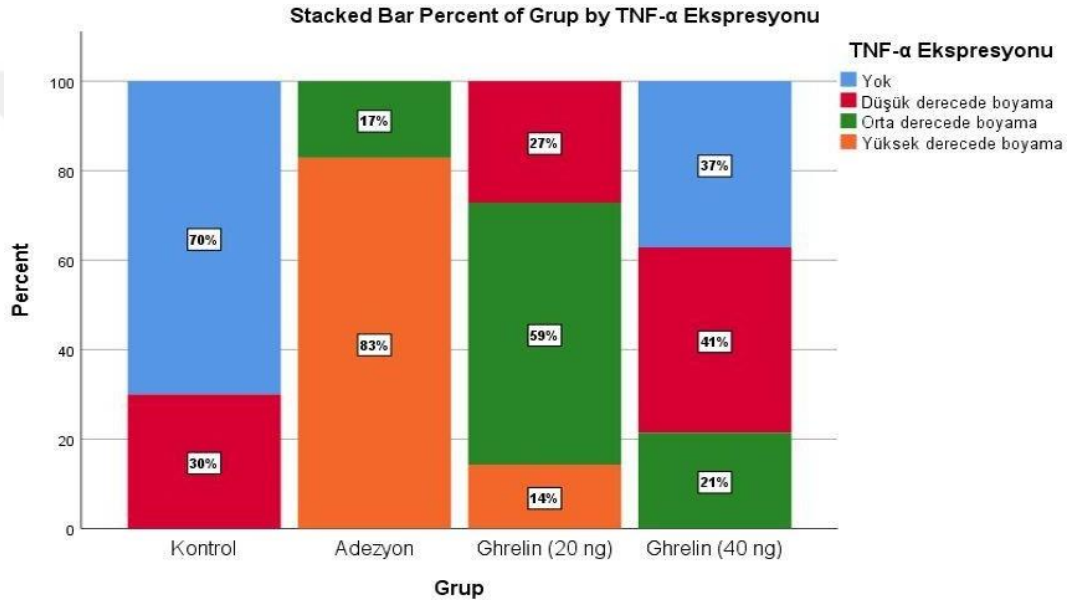
TNF α , akut inflamasyon sırasında makrofajlar/monositler tarafından üretilen inflamatuvar bir sitokindir ve hücreler içinde nekroz veya apoptoza yol açan çeşitli sinyal olaylarından sorumludur.

Grup 1' de oldukça düşük seviyede TNF α ekspresyonu olduğu görüldü. Grup 2'de özellikle bazal endometriyuma ait alanlarda bol miktarda hücrede TNF α ekspresyonunun olduğu görüldü. Doza bağlı ghrelin gruplarında TNF α pozitif hücre sayısının azaldığı fakat Grup 1'den fazla ekspresyon paterni sergilediği saptandı (Şekil 25).

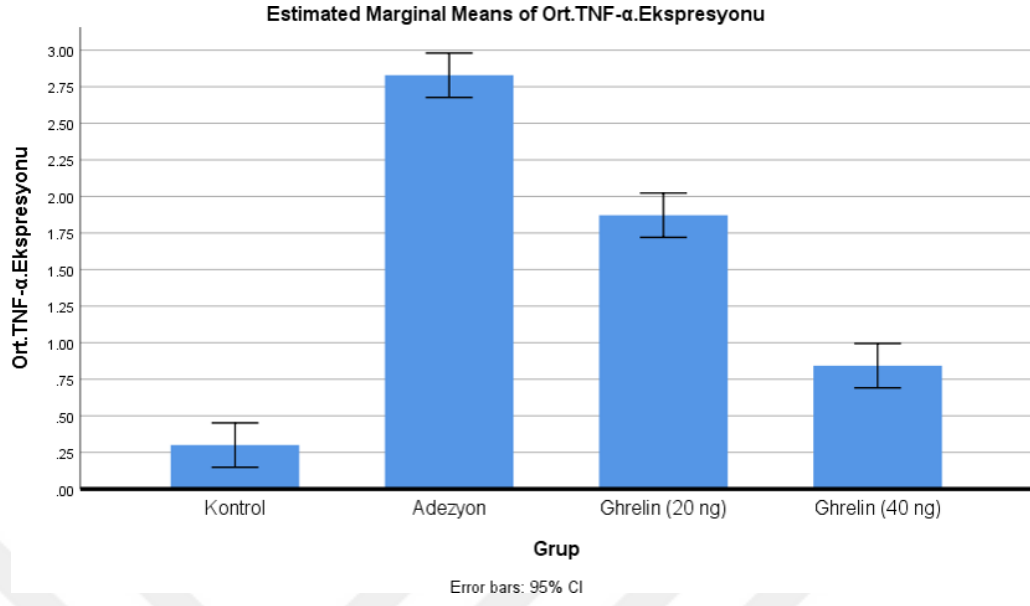
4.8.3.1. DeneY Gruplarında TNF α Ekspresyonunun Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında rastgele 10 farklı alanda gözlemlenen TNF α ekspresyonu bulguları skorlandırılıp Grafik 12’de özetlendi. Her bir denekte 10 alanın ortalaması alınarak ortalama TNF α ekspresyon skorları elde edildi. Ortalama skorların gruplardaki düzeyde %95’lik güven barları ile birlikte Grafik 13’ te verildi.

Grafik 12. TNF α ekspresyonu skor dağılımları.



Grafik 13. Ortalama TNF α skorlamaları.

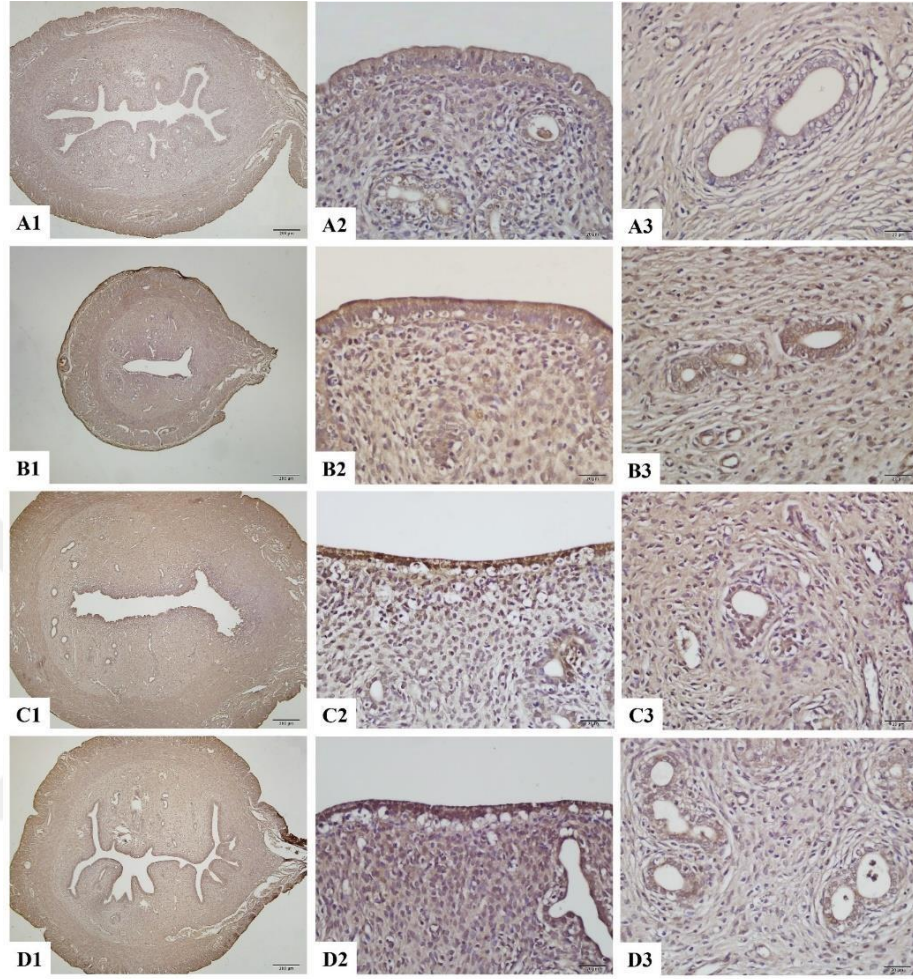


Tablo 15. TNF α istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.

Grup	Ortalama	Std, Sapma	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	0,30	0,129	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Adezyon	2,83	0,076			<0,001	<0,001
Ghrelin (20 ng)	1,87	0,189				<0,001
Ghrelin (40 ng)	0,84	0,305				

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında TNF α ekspresyonunun istatistiksel değişimi Tablo 15’te verildi. Tüm ikili farklar anlamlı bulundu ($p < 0,001$). TNF α ekspresyonu adezyon grubunda en yüksek seviyede gözlenirken, ghrelin tedavisi sonrası doza bağlı olarak azaldı. Deneysel model uygulanan gruplar arasında kontrol grubuna en yakın grubun 40 ng ghrelin grubu olduğu saptandı ($p < 0,001$).

4.8.4. Anti-HIF-1 α



Şekil 26. Uterus dokusunun anti-HIF-1 α ile İHC boyanması.

A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A1, B1, C1, D1. x4 büyütme, A2, B2, C2, D2- A3, B3, C3, D3. x40 büyütme.

HIF-1 α , anjiyogenez, eritropoiez ve glikoliz dâhil olmak üzere memelilerde azalmış O₂ mevcudiyetine hücrenel ve sistemik homeostatik tepkilere aracılık eden bir transkripsiyon faktörüdür.

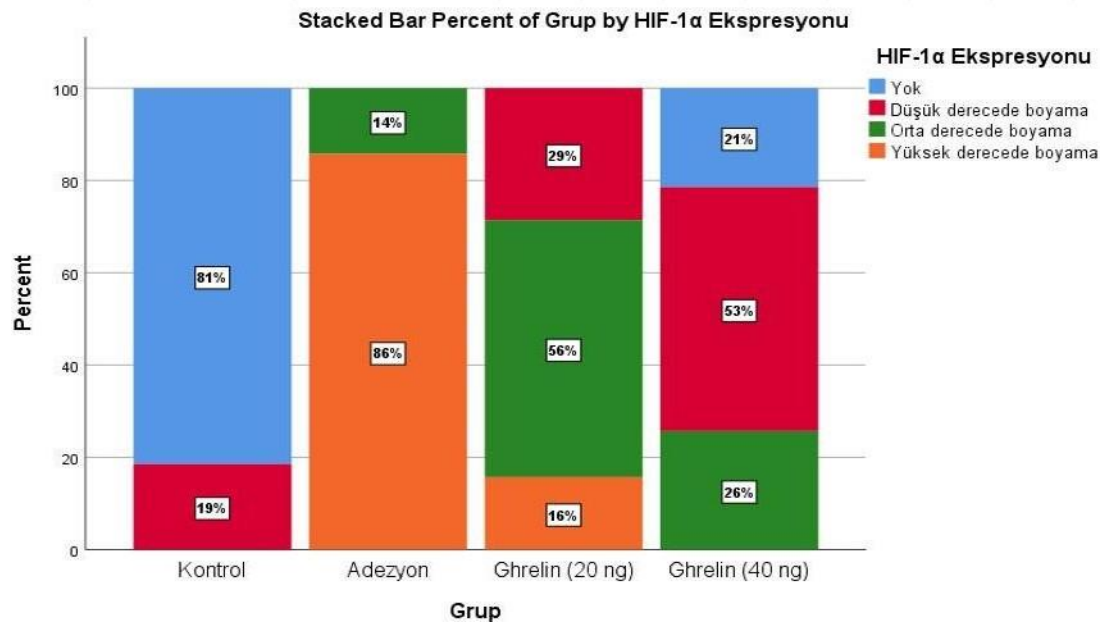
Grup 1' de oldukça minimal seviyede HIF-1 α ekspresyonu olduğu görüldü.

Grup 2’de endometriyal alanların tamamında oldukça yoğun HIF-1 α ekspresyonunun olduğu görüldü. Doza bağlı ghrelin gruplarında HIF-1 α ekspresyonunun azaldığı gözlenirken Grup 1’den fazla bir ekspresyon paterni saptandı (Şekil 26).

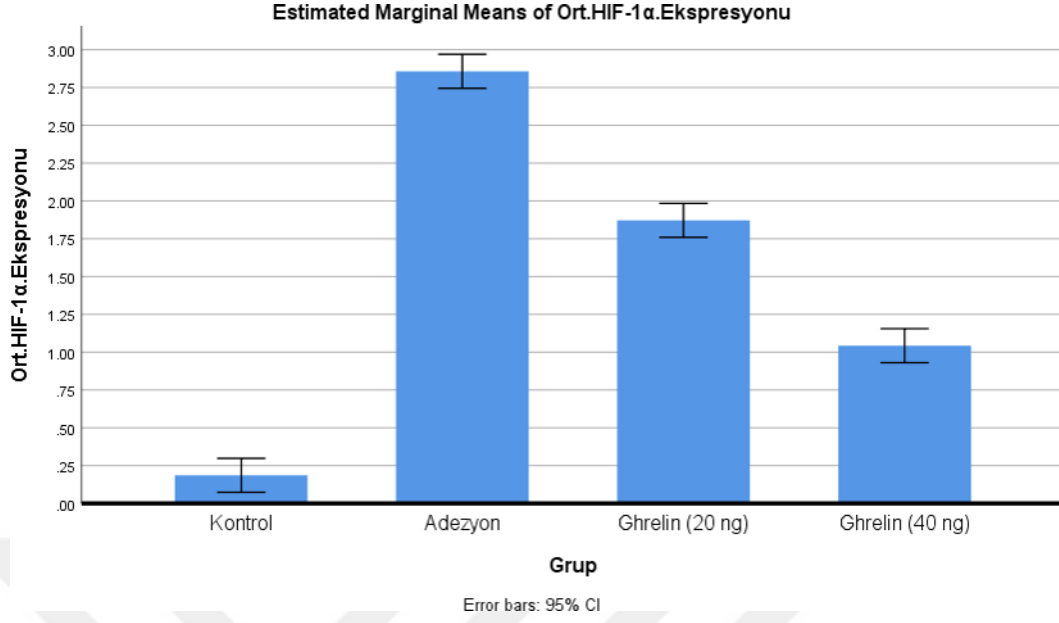
4.8.4.1. Deney Gruplarında HIF-1 α Ekspresyonunun Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında rastgele 10 farklı alanda gözlemlenen HIF-1 α ekspresyonu bulguları skorlandırılıp Grafik 14’de özetlendi. Her bir denekte 10 alanın ortalaması alınarak ortalama HIF-1 α ekspresyon skorları elde edildi. Ortalama skorların gruplardaki düzeyde %95’lik güven barları ile birlikte Grafik 15’de verildi.

Grafik 14. HIF-1 α ekspresyonu skor dağılımları.



Grafik 15. Ortalama HIF-1 α skorlamaları.

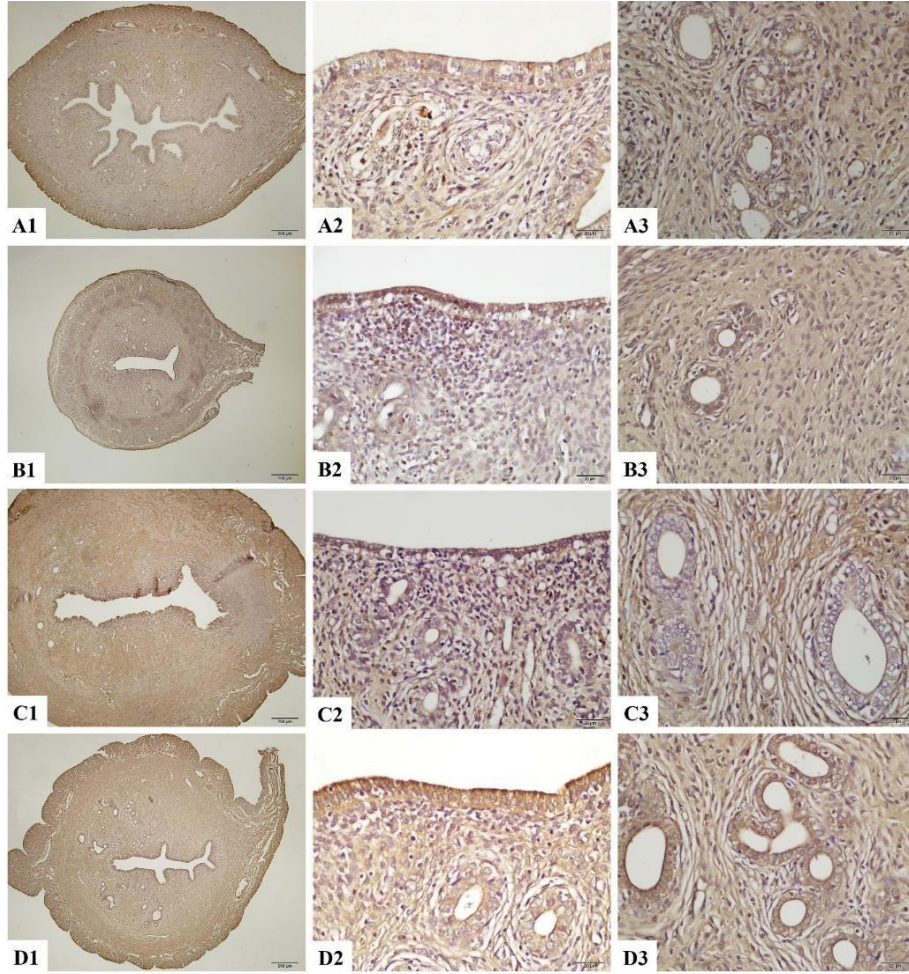


Tablo 16. HIF-1 α istatistikleri ve gruplar arası karşılaştırması.

Grup	Ortalama	Std, Sapma	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	0,19	0,069	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Adezyon	2,86	0,053			<0,001	<0,001
Ghrelin (20 ng)	1,87	0,160				<0,001
Ghrelin (40 ng)	1,04	0,223				

Histopatolojik değerlendirme sonucu deney gruplarında HIF-1 α ekspresyonunun istatistiksel değişimi Tablo 16’da verildi. Tüm ikili farklar anlamlı bulundu ($p < 0,001$). HIF-1 α ekspresyonu adezyon grubunda en yüksek seviyede gözlenirken, ghrelin tedavisi sonrası doza bağlı HIF-1 α ekspresyonu azalmaktadır ($p < 0,001$).

4.8.5. Anti-FGF2



Şekil 27. Uterus dokusunun anti-FGF2 ile İHC boyanması.

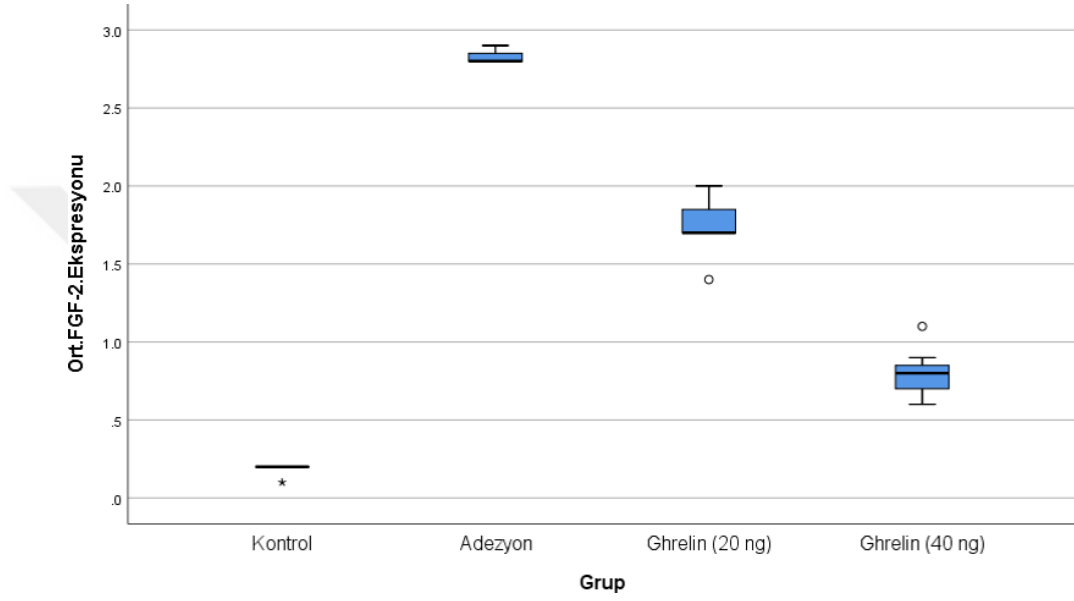
A. Kontrol grubu, **B.** Adezyon modeli uygulanmış grup, **C.** 20 ng/kg ghrelin tedavili grup, **D.** 40 ng/kg ghrelin tedavili grup. A1, B1, C1, D1. x4 büyütme, A2, B2, C2, D2- A3, B3, C3, D3. x40 büyütme.

FGF2 immünoreaktivitesi; uterus bezleri, kan damarları ile ilişkili bazal laminada ve inflamatuvar hücre sitoplazmasında eksprese edilir. FGF2, miyometriyum düz kasları ve endotel sitoplazma ve çekirdeğinde eksprese edilmektedir. Çalışmada en yüksek seviyede FGF2 ekspresyonu Grup 2’de saptanırken en düşük seviye Grup 1’de saptandı. Grup 3’te kontrole kıyasla yüksek, Grup 2’ye kıyasla ise daha düşük bir ekspresyon paterni görüldü. Grup 4’te FGF2 ekspresyonunu Grup 1’e yakın olarak saptandı ($p<0,001$) (Şekil 27).

4.8.5.1. Deneş Grularında FGF2 Ekşpresyonunun Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirme sonucu her bir denekte 10 alanın ortalaması alınarak ortalama FGF2 ekşpresyonları elde edildi. Ortalama skorların grulardaki düzeyde kutu grafiği olarak Grafik 16'da verildi.

Grafik 16. Ortalama FGF2 ekşpresyon skorlarının grulara özel istatistikleri.



Tablo 17. Ortalama FGF2 ekspresyon düzeylerinin ortalanca, minimum ve maksimum değerleri ve gruplar arası ikili karşılaştırmalar.

Grup	Ortanca	Min-Max	p	İkili karşılaştırmalar		
				Adezyon	Ghrelin (20 ng)	Ghrelin (40 ng)
Kontrol	0,2	0,1-0,2	<0,001	<0,001	0,008	0,650
Adezyon	2,8	2,8-2,9			0,650	0,008
Ghrelin (20 ng)	1,7	1,4-2,0				0,650
Ghrelin (40 ng)	0,8	0,6-1,1				

Tablo 17’de ortalama FGF2 düzeyleri ortalanca, minimum ve maksimum değerler veriler özetlendi. Gruplar arası çoklu karşılaştırma sonucunda farklılık anlamlı bulundu ($p<0,001$). İkili karşılaştırmalarda Kontrol- Ghrelin (40 ng) ($p=0,650$), Adezyon- Ghrelin (20 ng) ($p=0,650$) ve Ghrelin (20 ng)- Ghrelin (40 ng) ($p=0,650$) arasında istatistiksel anlam yoktu. En yüksek FGF2 ekspresyonu adezyon grubunda bulunurken, en düşük kontrol grubunda görüldü.

Tartışma

İUA, uterusu skar dokusu ve adezyon varlığının gözleendiği bir hastalıktır (Sabry vd., 2018). İUA, birçok kadında hipomenore, ağırlı menstrüal dönem, tekrarlayan gebelik kayıpları veya infertilite ile karakterizedir. Genellikle opere olan hasarlı uterusu sahip veya dilatasyon ve küretaj (D&C) ve histereskopi gibi cerrahi operasyon geçmişı olan kadınlarda İUA gözlenebilir (Salazar vd., 2017). Dünya genelinde İUA insidansı tam olarak bilinmiyor olsa da yapılan araştırmalara göre kürtaj geçmişı olan kadınlarda %6 ve %30 oranları arasında İUA varlığının gözleendiği bildirilmiştir. Benzer şekilde postpartum D&C operasyon geçmişı olan kadınlarda da %25 gibi yüksek oranda İUA varlığı gözlenmiştir. İUA varlığı ilk trimesterde gerçekleştirilen kürtajlarda %36,7 oranında iken ikinci trimester döneminde yapılan kürtajlarda hastalığın gözlenme oranı %69,6'ya kadar yükselmektedir (R. Zhu, Gan, Wang, & Duan, 2019). Cerrahi operasyon sırasında hasarlanabilen uterus endometriyumundaki adezyonların derecesi ve lokalizyonu hastalığın şiddetini belirlemektedir. Düşük seviyeli İUA'lı kadınlarda sıklıkla görülen primer semptom menstrüal dönemlerdeki düzensizliktir. Yüksek şiddetli İUA görülen durumlarda bağ dokusu, uterinal kavitede fiziksel bir blok oluşturur ve bu durum infertiliteye neden olabilmektedir. İUA tedavisinde kabul görmüş bir teknik olan histeroskopik cerrahi ile uterus kavitesinin içindeki bağ dokuları çıkarılıp endometriyum morfolojisinin ve işlevinin eski haline geri dönüşü sağlanır. Ancak prosedürün kendisi, ameliyat sırasında oluşan mekanik hasarlar sebebiyle yeniden adezyon oluşumuna sebep olabilmektedir. Bu nedenlerle cerrahi operasyon sonrası adezyon oluşumunun tekrar etme olasılığı yüksek olduğundan dolayı İUA'ların cerrahi ile önlenmesi zordur (Bosteels vd., 2017; Guo, Chung, Poon, & Li, 2019).

İUA'ları önleme stratejilerinin başında gelen cerrahi prosedürlerden histerotomi, açık cerrahi işlem uygulanarak uterus duvarının açılması prensibine dayalı bir yöntem olup içerdiği büyük risklerden dolayı günümüzde tercih edilmemektedir (Yu vd., 2008). Yaygın olarak bilinen terapötik yaklaşımlardan bir diğeri de D&C işlemidir. Ancak bu yöntem de düşük pozitif sonuç verme olasılığı olan ve bununla birlikte uterus perforasyonuna sebep olan bir yöntem olduğundan dolayı tercih edilmemektedir (Conforti vd., 2013). Kesin iyileşme sağlansa da günümüzde en sık tercih edilen cerrahi teknik histeroskopidir. Histereskopi, İUA teşhisini sağladığı gibi bu girişimle hastalığın tedavisi düşük oranda da olsa mümkündür. Histeroskopik cerrahi sonrası

adezyonun tekrarlanması, uterus perforasyonu, aşırı kanama ve enfeksiyon gibi büyük riskler içeren komplikasyonlar oluşabilmektedir (Yang, Chen, Chen, Yang, & Chen, 2016).

İUA tedavisi için hormonlar, büyüme faktörleri ve amniyon zarı dâhil olmak üzere çeşitli terapötik ajanlar kullanılmıştır ancak sadece düşük ve orta dereceli İUA'larda endometriyal rejenerasyonu desteklediği ve sağlıklı bir uterus eldesini sağladığı gösterilmiştir (Salazar vd., 2017). Klinik uygulamalarda İUA'lı vakalara rahim içi araç (RİA) yerleştirmek, tekrarlayan yapışıklık oluşumunu önlemek için bir seçenek olsa da şiddetli vakalarda kalıcı infertiliteye sebep olabilmektedir (Salazar vd., 2017).

İUA'ların tekrarlanmaması için uterusun karşı duvarlarını birbirlerinden ayrı tutan bariyerlerin kullanımı da adezyon oluşumuna engellemek için kullanılan stratejilerdendir. Bu işlem için intrauterin balonlar, kateterler ve intrauterin cihazlar kullanılabilir. Ancak tüm bu RİA'ların kullanımıyla ilgili çalışmalarda adezyon oluşumu veya tekrarlanmasının engellenmesinde istatistiksel anlamlı bir azalma sağlanamamıştır. Teoride önerilen ve pratikte uygulanan diğer tüm yöntemlerden daha etkili bir çözüm sağlamadığı için RİA kullanımı da İUA'larda tedavi amaçlı tercih edilen yöntemlerden biri olamamıştır (Di Spiezio Sardo vd., 2016; X. N. Lin vd., 2015; Nappi vd., 2007).

Johary ve arkadaşları 2013 yılında yaptığı bir meta-analizde İUA'larda sıklıkla kullanılan hormon tedavilerinden biri olan östrojenin, adezyolizis uygulanan İUA'lı hastaların %64'ünden fazlasında iyileşme veya pozitif anlamda etki gösterdiğini bildirilmiştir. Bununla birlikte, incelenen 26 çalışmanın 19'unda hormon tedavisine ek yardımcı tedavi olarak RİA, foley kateter, hyaluronik asit jel veya amniyon grefti yöntemlerinden en az biri kullanılmış ve bu çalışma gruplarının orta üstü şiddete sahip İUA vakası olması durumunda maksimum sonuç elde edebilmek için östrojen tedavisine ek yardımcı tedavi yöntemlerinin de kullanılması gerektiği belirtilmiştir (Johary, Xue, Zhu, Xu, & Velu, 2014).

İUA tedavisinde kullanılan bir başka materyal ise yapışma önleyici jellerdir. Bosteels ve arkadaşlarının yaptığı araştırma sonuçlarına göre, İUA'larda tedavi amaçlı kullanılan herhangi bir yapışma önleyici jelin güvenilir sonuçlar vermediği ve bununla birlikte bu konudaki çalışmaların sınırlı ve düşük kalitede olduğu bildirilmiştir (Bosteels vd., 2015). Tüm bunlar değerlendirildiğinde İUA'ların yapışma önleyici jel

kullanımı herhangi bir yönüyle şu anda tedavi amaçlı tercih edilebilecek bir yöntem olmadığı söylenebilir.

Bu tez çalışmasında temel amaç; deneysel İUA modeli uygulanmış sıçanların eldesinden sonra bu sıçanlar üzerinde ghrelin etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla öncelikle deney hayvanlarının östrus döngüleri değerlendirilmiştir. Bunun için östrus döngüsünün fazlarında meydana gelen farklılıklar iyi bilinmelidir (Byers, Wiles, Dunn, & Taft, 2012). Dişi sıçanlarda, 4-5 gün süren östrus döngüsünün proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus olmak üzere dört evresi vardır (Auta & Hassan, 2016). Davranış değişikliklerinin yanı sıra üreme sistemindeki morfolojik, sitolojik ve histolojik değişiklikler de bu evrelerin tanımlanmasında önemlidir. Östrus döngüsünü tanımlamak için ilkel çalışmalarda vulvada (vulva şişmesi), vajinal sekresyonlarda (kanama ve mukus) ve uterusu (tıkanıklık) makroskobik değişiklikler ve üreme sistemindeki mikroskobik değişiklikler kullanılmıştır. Ancak küçük kemirgenlerde bu tarz makroskobik bulguların güvenilirliği tartışmalar yaratmıştır. 1928'de Yunanlı patolog, Papanicolaou östrus siklusu sırasında vajina değişikliklerini histoloji ve sitoloji yoluyla tanımlamış ve sonrasında kendi adıyla anılacak olan PAP smear testini literatüre kazandırmıştır. Yapılan sonraki çalışmalarda hayvanın fizyolojisi ve anatomisindeki değişiklikleri baz alarak östrus döngüsünü değerlendirmek için çeşitli yöntemler de kullanılmıştır. Görsel değerlendirme, üreme organlarının histolojik incelenmesi, idrar biyokimyası ve vajinal duvar empedansı canlı veya ölü hayvanlarda östrus döngüsünü değerlendirmek için sıkça kullanılan yöntemlerdendir (Andrews & Ojeda, 1981; Auta & Hassan, 2016; McLean vd., 2012; Rodriguez, Araki, Khatib, Martinou, & Vassalli, 1997).

Östrus döngülerinin belirlenmesinde çeşitli yöntemlerin varlığı söz konusu olsa da vajinal smear/ sitoloji yöntemi canlı hayvanlarda öncelikle tercih edilen standart bir prosedürdür. Vajinal smear ucuz oluşuyla, hızlı ve güvenilir sonuçlar vermesiyle östrus döngüsünün fazlarını belirlemek için kullanılan en yaygın tekniktir (Sahoo, Nandy, Senapati, Sarangi, & Sahoo, 2014). Bu sebeple bu tez çalışmasında da östrus fazlarını belirlemek için smear yöntemi kullanıldı. Deneysel çalışmalara, menstrüal dönemden kaynaklı farklılıkları minimize edebilmek ve tüm deney grupları arasında standardizasyonu sağlayabilmek için deneklerin aynı menstrüal sıklusta eşitlenmesi sağlandıktan sonra başlanmıştır. Literatürden elde edilen bulgular doğrultusunda çalışmadaki uygulamalar için sıçanların proöstrus evresinde olması tercih edilmiştir.

Dejenerasyonun çok az olması ve inflamatuvar hücrelerin çok az infiltrasyonu olan epitel hücrelerinde mitoz varlığının olması çalışmanın proöstrus evresinde yapılmasında tercih sebebidir (Westwood, 2008).

İUA oluşumlarının patofizyolojisinin hücresel ve moleküler mekanizmaların incelenebilmesi ve etkili bir tedavi yöntemi bulunabilmesi için klinik yansımalara benzer şekilde deneysel model oluşturulmasına ihtiyaç vardır (Xue vd., 2015). Bu amaçla yapılan literatür taramalarında çeşitli yöntemlerle İUA modeli oluşturulabileceği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada yüksek moleküler ağırlıklı hiyaluronik asitin İUA'ya bağlı endometriyal fibrozis üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bunun için oluşturulan İUA modelinde kullanılan farelerin abdominal orta hattından uzunlamasına 1 cm'lik kesi yapılarak uterus ortaya çıkarılıp 27 G branül kullanılarak kazınmış ve dört farklı yönde döndürülerek mekanik hasarlama oluşturulmuştur. Araştırmacılar çalışma sonunda yapılan analizlere dayanarak model oluşumunu teyit etmişlerdir (Y. Zhu, Hu, Yu, Ren, & Hu, 2016).

Xin ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise İUA'larda mezenkimal kök hücrelerden elde edilen apoptotik cisimlerin hiyaluronik asit hidrojel aracılığıyla etkinliğini araştırmışlardır. Deneysel model olarak uterin boynuzların birleşme noktasından tuba uterina'ya kadar uzunlamasına bir kesi atılması sonrası endometriyuma ulaşılmış ve bir T10 neşter ile endometriyum kazınmıştır. Model oluşturma işleminden 15 gün sonra uterus dokularında İUA gelişimini değerlendirmek için Hematoksilen-Eozin ve Masson trikrom boyaması yapılmış ve model oluşumu teyit edilmiştir (Xin vd., 2022). Bir başka çalışmada ise Liu ve arkadaşları, İUA modelinde endometriyal yaralanmayı mezenkimal kök hücre-sekretom ile entegre hiyaluronik asit hidrojeli ile tedavi etmeyi amaçlamıştır. İUA modelini oluşturmak için uterusun her iki yanında küçük kesi yapılmış ve bir elektrokoagülasyon ucu yerleştirilmiştir. Elektrokoagülasyon ucu uterus boynuzundan servikse kadar ilerletirken bir elektrokoagülasyon makinesi kullanılarak 5 saniye boyunca dokuya 3V'lik elektrik akımı verilmiştir. Sonrasında İUA modelinin oluşumunu histopatolojik analizlerle teyit eden araştırmacılar çalışma konularının adezyonlu endometriyumda iyileşmeyi sağladığını bildirmişlerdir. (Liu, Hu, Yang, vd., 2019). Gao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da İUA'da kemik iliği mezenkimal kök hücreler (Kİ-MKH'ler) ile kaybedilen endometriyum fonksiyonunu tekrar sağlanabileceği göstermişlerdir. Çalışmada İUA modeli oluşturmak için uterus boynuzunda ilki

serviksin hemen arkasında ikincisi uterotubal bileşkeye olmak üzere iki milimetrelık kesiler yapılmıştır. Bu kesilerden uterus içine 5 numara beslenme tüpleri yerleştirilmiş ve uterus içindeki bu tüplerden 90 saniye boyunca 85°C sıcak su geçirilerek doku irrigasyonu sağlanmıştır. Bu yöntemle endometriyum hasarlanması amaçlanmış ve bu doğrultuda ilerleyen süreçteki farklı günlerde uterus dokuları alınarak Hematoksilen-Eozin ve Masson trikrom boyamasıyla model oluşumu doğrulanmıştır (Gao vd., 2019).

İUA modeli oluşturmanın bir yolu da çeşitli kimyasalların kullanılmasıdır. Bu kimyasallardan birisi olan TCA, sistemik olarak emilmeyen ve proteinleri denatüre ederek kimyasal koterizasyona neden olan topikal uygulanan bir ajandır. Uterusa TCA uygulanması insanlarda düzensiz menstrüal dönemde tedavi amaçlı kullanılan kimyasal bir tekniktir (Cocuzza vd., 2011). Literatürdeki araştırma makalelerinde uterusta oluşturulan TCA maruziyetinin deneysel İUA modeli için kullanılabilir bir yöntem olduğuna dair kaynaklar mevcuttur (Kilic vd., 2014). Deneysel bir çalışmada, kullanılan sıçanların sağ uterus boynuzuna 0,1 ml TCA enjeksiyonu yapıldıktan sonra İUA modelinin oluşması için 2 hafta beklenmiş ve sonrasında yapılan histolojik incelemelerde İUA modelinin oluşturulduğu bildirilmiştir (Çil vd., 2020). Benzer başka bir çalışmada ise 0,2 ml IL-33 uterusu enjekte edilmiş ve İUA modelin oluşması için üç östrus siklusu beklenmiştir. Sonrasında yapılan histolojik incelemelerde modelin oluştuğu bildirilmiştir (Büyük & Beyazıt, 2019). Bu tez çalışmasında, cerrahi prosedürler yüksek maliyetli oluşları, tecrübe gerektirmeleri, oluşacak farklı komplikasyonların öngörülememesi ve deney hayvanlarının ajite olma ihtimalinden dolayı tercih edilmemiştir. Bunun yerine yapılan literatür taraması sonucu elde edilen bulguların ışığında, İUA modeli oluşturmada beklenen sonuçları veren transvajinal TCA yöntemi uygulanmıştır. Kullanılan kimyasal ajanın uterusta adezyon modeli oluşturması için üç östrus siklusu süresince beklenip sonrasında yapılan histokimyasal analizler sonucunda İUA modelinin varlığı teyit edilmiştir.

İUA'ların önlenmesi, tedavisi veya nüksünün engellenmesi uzun yıllardır bilim dünyasının güncel gündeminde olan konulardan biridir. Dünya çapında bu hastalığı konu edinen birçok araştırma ekibi olmasına karşın henüz kabul görmüş bir tedavi stratejisi mevcut değildir. Çeşitli antioksidant antikoagulan, antifibrotik ajanlar uzun zamandır deneysel İUA modellerinin tedavisinde denenmeye devam etmektedir. Bu doğrultuda Büyük ve Beyazıt yaptıkları bir çalışmada, TCA ile oluşturulan İUA sıçan modelinde tedavi amaçlı kullanılan Ankaferd Blood Stopper (ABS) uygulamasının endometriyal proliferasyona etkisi ve normal endometriyum oluşum sürecine olan

etkileri incelenmiştir. 15 günlük tedavi sürecinin sonucunda histokimyasal ve immünohistokimyasal olarak incelenen uterus dokularında ABS varlığında fibrozis ve inflamasyonun anlamlı olarak azaldığı bildirilmiş ve İUA tedavisi için ABS kullanılabileceği önerilmiştir (Büyük & Beyazıt, 2019). Salama ve arkadaşları 2020 yılında yaptığı bir çalışmada İUA modeli oluşturulan sıçanlarda Kİ-MKH'lerin etkisi araştırılmıştır. Yapılan deneyden elde edilen histokimyasal veri sonuçlarına göre Kİ-MKH'ler ile tedavi edilen çalışma grubunda endometriyal iyileşme ile birlikte fibroziste azalma olduğu saptanmıştır. İHC boyama sonuçlarına göre PCNA ve VEGF immün ekspresyonunda artış gözlenmiştir. Çalışma sonucunda Kİ-MKH tedavisinin İUA'larda önemli ölçüde iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Salama vd., 2020). İUA'ların tedavisi için yapılan tüm bu araştırmalar literatüre katkı sağlayıp, çalışma alanlarını geliştirip, yeni fikirlerin önünü açsa da ne yazık ki hiçbiri kabul görmüş ve güvenilirliği klinik olarak kanıtlanmış veya yeterli görülmüş değildir. Tüm bunların ışığında günümüzde İUA tedavisi için adezyon oluşumunun tekrarlanmadan önlenbilmesinin önemli bir sorun olduğu ve yapılan tüm uygulamaların etkili bir tedavi sağlayamadığı söylenebilir. Bu tez çalışmasında İUA tedavisi için kullanılan yaygın yöntemlerin dışında terapötik etkisi olduğu bilinen yeni bir tedavi ajanı olan ghrelinin etkinliği araştırılmıştır. Ghrelin, insanlarda P/D1 tipi hücrelerde gastrik fundusta ve sıçanlarda oksintik bezlerin nöroendokrin X/A benzeri hücrelerinden üretilen bir peptittir (Kojima vd., 1999). Ghrelin, kan dolaşımı ile hipofiz bezinin ön lobundaki somatotropik hücrelere bağlanır ve GH sentezini uyarır. Ghrelin ekspresyonunun varlığı vücutta pek çok organda gerçekleştiği yapılan önceki çalışmalarda saptanmıştır (Raghay vd., 2008). Primer olarak mideden eksprese olan hormonun kalp, beyin, akciğer, pankreas, karaciğer ve böbrek gibi organların yanı sıra her iki cinsiyetin üreme sisteminde de salgılandığı bildirilmiştir (Gnanapavan vd., 2002; Miller vd., 2005; Tena-Sempere vd., 2002). Çeşitli nörolojik ve fizyolojik süreçlerde yer alan ghrelin sinyali, çoğunlukla açlığı ve metabolik düzenlemeyi kontrol etmedeki rolleriyle iyi bilinir. Ghrelin, çeşitli organlarda ve çeşitli hücre tiplerinde oksidatif hasar üzerinde antiinflamatuvar bir etkiye sahiptir. Yapılan önceki çalışmalarda ghrelinin farklı organ sistemleri üzerindeki etkilerini araştırmak için çeşitli dozlarda uygulamaları yapılmıştır.

Erener ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmanın verilerine göre, oluşturulan bir femur kırık modelinde 2 ve 4 hafta boyunca i.p. 50 µg/kg/gün ghrelin uygulaması yapılmış ve ghrelinin kırık iyileşmesine doğrudan katkıda bulunduğunu sonucu elde

edilmiştir (Erener vd., 2021). Başka bir çalışmada ghrelinin sisplatin toksisitesi oluşturulan sıçan karaciğerdeki koruyucu etkilerini gözlemlemek için 3 gün boyunca düşük ve yüksek doz olarak bir çalışma grubuna 5 mg/kg/gün sisplatin ve 10 ng/kg/gün ghrelin, diğer çalışma grubundaki sıçanlara 5 mg/kg/gün sisplatin ve 20 ng/kg/gün ghrelin uygulaması yapılmış ve özellikle yüksek doz ghrelinin sisplatinin karaciğerdeki toksik etkisini azaltmak için kullanılabileceği bildirilmiştir (Bademci vd., 2021). Bir başka çalışmada ghrelin uygulamasının kolonik anastomoz iyileşmesindeki etkileri incelenmek üzere sıçanlara 7 gün boyunca 1 ml salin solüsyonunda çözdürülmüş 10 ng/kg/gün ghrelin i.p. olarak uygulanmış ve ghrelinin sıçanlarda kolonik anastomozların iyileşmesini desteklediği bildirilmiştir (Ceran vd., 2013). Bianchi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada postoperatif peritoneal adezyon fare modelinde ghrelin etkilerini incelemek üzere günde iki kez 0,1 ml salin içinde çözdürülmüş 0,16 mg/kg ghrelin uygulaması i.p. olarak yapılmıştır. Araştırma sonuçlarında yapılan analizlere göre ghrelinin postoperatif peritoneal adezyonlarda adezyon oluşumunu ve fibrotik yanıtı azalttığı ve iyileşmeye yardımcı olduğu bildirilmiştir (Bianchi vd., 2016). Bu tez çalışmasında da tüm bu veriler değerlendirilerek ghrelin dozları saptanmıştır. Yapılan modele uygun şekilde en etkin olacağı düşünülen iki farklı doz düşük (20 ng/kg) ve yüksek (40 ng/kg) olmak üzere belirlendi ve bir hafta boyunca i.p. olarak uygulanmıştır.

Ghrelin çoğunlukla “açlık hormonu” olarak bilinmektedir. Obezite, glikoz metabolizması ve diyabet ile ilgili çalışmalarda daha yoğun olarak kullanılsa da etki mekanizmasının neredeyse tüm sistemlerde aktif olduğu bildirilmiştir. Ghrelinin, antiinflamatuvar ve antifibrinolitik özelliklerini baz alarak yapılan bazı deneysel çalışmalarda, ghreline bağlı kilo artışı olduğu saptanmıştır. Literatürdeki bir çalışmada postoperatif peritoneal adezyonun giderilmesi amacıyla kullanılan ghrelinin, çalışma grubunda deney grubuna göre kilo artışı olduğu bildirilmiştir (Bianchi et al., 2016). Bu deneysel tez çalışmasında da ghrelinin, kullanılan deney hayvanlarının ağırlıkları üzerindeki etkisi incelenip literatürde karşılaşılan verilere benzer bulgular elde edilmiştir. Çalışmada kontrole ve model grubuna kıyasla düşük ve yüksek doz verilen ghrelin gruplarında doza paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı kilo artışı olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$).

Yapılan bir çalışmada, İUA modelinde uterus morfolojisini değerlendirmek için Hematoksilen-Eozin boyama sonuçlarına göre uterus dokusunda fibrotik odaklar ve kolajen birikiminde artış, uterus lümeninde hasar oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca

endometriyum, uterus duvar kalınlığı ve uterus bez sayısında azalma olduğu saptanmıştır (Büyük & Beyazıt, 2019). Bu tez çalışmasında oluşturulan modelde, TCA ile hasarlanan uterusun normal histolojik yapısının neredeyse tamamen değiştiğitespit edilmiştir. Buna bağlı olarak uterinal bezlerin sayısında ve uterus duvar kalınlığında azalma gözlenmiştir. Ghrelin tedavisi alan gruplarda ise doza bağlı olarak hem bez sayısında hem de uterus duvar kalınlığında doğru orantılı artma tespit edilmiş, ayrıca uterus genel morfolojisinin korunmuş/iyileşmiş ve kontrol grubuna yakın görünümde olduğu saptandı.

Fibrozis, aşırı kolajen birikimi ile karakterize olan karmaşık bir doku formasyonudur (Postlethwaite, 1995). Fibrozis patofizyolojisi kan yoluyla taşınan hücreler (nötrofil, eozinofil), mezenkimal hücreler, mikrovasküler hücrelerin değişimi ve yerleşik hücrelerin aktivasyonu gibi süreçleri içerir. Fibrozisin erken evrelerinde dokuda inflamatuvar hücre birikiminin gözlenmesi patofizyolojik olayın en belirgin özelliğidir (Fleischmajer, Perlish, & West, 1977). Yara iyileşmesi sürecinde ekstraselüler matriks birikimi sürekli olarak yeniden ve sıkı bir şekilde düzenlenirken fibrozis oluşumu sırasında yeniden şekillenme olayı süreksiz ve nispeten yetersizdir (Kulozik, Hogg, Lankat-Buttgereit, & Krieg, 1990). Yapılan bu tez çalışmasında fibrozis ile karakterize İUA modeli oluşturuldu ve yapılan histokimyasal boyamalar sonucunda uterus dokusunda fibrotik yapıların varlığı gözlenmiştir. İUA'nın kök hücre ile tedavisinin incelendiği deneysel bir çalışmada, Masson trikrom boyama sonuçlarında model grubunun kontrol ve tedavi gruplarına göre yüksek oranda fibrotik odaklara sahip olduğu bildirilmiştir (B. Li, Zhang, Sun, & Lai, 2019). Bu çalışmada da benzer şekilde fibrotik alanları belirleme amacıyla yapılan Masson trikrom boyama sonuçlarında literatüre paralel sonuçlar elde edilmiştir. Ghrelin ile tedavi edilen dokularda fibrotik alan sayısı ve kolajen birikiminde azalma gözlendi. Fibrozis düzeyi en yüksek adezyon grubunda saptanmıştır ($p < 0,001$).

Anjiyogenez, proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörleri içeren karmaşık bir süreçtir. Normal koşullarda yeni kan damarlarının oluşumu yara iyileşmesinde, organ rejenerasyonunda ve kadın üreme sisteminin çeşitli dönemlerinde meydana gelir. Bu tanımlamaların ışığında anjiyogenezin yara iyileşmesinde, menstrüel döngüde, çeşitli iskemik ve inflamatuvar hastalıklar varlığında ayırt edici bir özellik olduğu söylenebilir. Anjiyogenezde etkin rolü olan ve endotelial hücreler için spesifik bir

mitojen olan VEGF, artan mikrovasküler geçirgenliğin uyarılmasında ve anjiyogenezde önemli rol oynayan bir proanjiyogenik faktördür (Ferrara, 1999). Anjiyogenez belirteci olan VEGF, deneysel çalışmalarda damar oluşumunun değerlendirilebilmesi için kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre tedavisinin İUA üzerine etkisi incelenmiş ve anjiyogenezin immunohistokimyasal analizleri için VEGF belirteci kullanılmıştır. Çalışma sonunda adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre tedavisi uygulanan deney gruplarında uterus stromal hücreleri ve epitel hücrelerinde pozitif VEGF ekspresyonu gözlenmiştir. Araştırmacılar, İUA modelinde uygulanan kök hücre tedavisinde uterus dokusunun tam olarak iyileşmediğini ancak VEGF ekspresyonunun pozitif olması dokunun kendi kendini iyileştirme sürecine girdiği anlamına gelebileceğini bildirmişler (Çil vd., 2020). Li ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, deneysel İUA modelinde kök hücre ile tedavi sonrasında VEGF ekspresyonu incelenmiştir. İUA grubu ile karşılaştırıldığında insan amniyotik epitel hücreleri ile tedavi edilen grubun endometriyumunda VEGF ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı bulunmuştur (B. Li vd., 2019). Monsef ve arkadaşlarının çalışmasında, İUA modelinde yağ kaynaklı stromal vasküler fraksiyonun (SVF) endometriyumda proliferasyon ve anjiyogenez üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Endometriyum kazıma yöntemiyle oluşturulan İUA modelinde uterin boynuzlarından birine lokal olarak SVF uygulanmıştır. SVF transplantasyonundan iki hafta sonra, endometriyal kalınlık, fibrotik doku varlığı ve VEGF ekspresyonu değerlendirilmiştir. Oluşturulan İUA modelinde ince endometriyum, artmış fibrozis ve azalmış VEGF bulunurken bu değerlerin hepsi SVF transplantasyonundan sonra tersine dönmüştür. Sonuç olarak lokal SVF enjeksiyonunun İUA tedavisinde alternatif bir yöntem olabileceği bildirilmiştir (Monsef, Artimani, Ramazani, vd., 2020). Yapılan histolojik ve immünohistokimyasal bir başka çalışmada, mezenkimal kök hücrelerin İUA'larda inflamasyon ve fibrozis üzerindeki etkileri incelenmiştir. Deney sonunda yapılan incelemelerde model gruplarında kontrol grubuna kıyasla endometriyal incelmeye, fibrozis ve endometrial epitel dejenerasyonu ile birlikte ve VEGF ekspresyonunda azalma kaydedilmiştir. Tam aksine Kİ-MKH enjeksiyonu ile tedavi edilen gruplarda ise Kİ-MKH'lerin antiinflamatuvar ve antifibrotik etkileri ve VEGF ekspresyonunda artış kaydedilmiştir

(Salama vd., 2020). Bu deneysel tez çalışmasında histopatolojik değerlendirme sonucu tüm deney gruplarında VEGF ekspresyonunun istatistiksel değişimleri incelendiğinde 20 ng ve 40 ng ghrelin grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bunun dışındaki tüm ikili farklar anlamlılık göstermiştir. Adezyon grubunda VEGF en düşük seviyede iken kontrol grubunda en yüksek düzeyde saptandı ($p < 0,001$). Sonuç olarak, çalışmamızın verileri ile literatür paralellik göstermektedir.

İUA'nın intrauterinal operasyonlar veya endometriyal inflamasyon sonucu oluşan hipoksi nedeniyle oluştuğu bilinmektedir. Hipoksi ayrıca, tip 1 kolajen üretimini de tetiklemektedir. Dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF- β 1), kolajen oluşumunda önemli bir rol oynar ve bozulmasını engeller. Ek olarak, İUA hastalarında adezyonla artmış sitokin üretimi görülür. Bunlar arasında trombosit kaynaklı büyüme faktörü, dönüştürücü büyüme faktörü-beta ve fibroblast büyüme faktörü bulunur (Liu, Hu, Wang, & Cheng, 2019). Hasarlı dokularda tip 1 kolajen sentezinin aşırı artmasıyla fibrotik odaklar oluşmaktadır (Leeming vd., 2012). Postoperatif peritoneal adezyon modelinde ghrelinin tedavi amacıyla kullanıldığı çalışmada, tip 1 kolajen yoğunluğunun model oluşturulan gruba kıyasla oldukça azalma gösterdiği bildirilmiştir (Bianchi vd., 2016). Monsef ve arkadaşlarının yaptığı bir deneysel çalışmada, deneysel İUA modeli oluşturulmuş sıçanlara kök hücre tedavisi uygulanmıştır. Kök hücre tedavisi uygulanan tüm gruplarda, hasarlı endometriyum üzerinde iyileştirici bir etki görüldüğü saptanmıştır. Tip 1 kolajen birikimini tespit için immünohistokimyasal yöntemler kullanarak İUA modeli uygulanan gruba kıyasla kök hücre tedavi gruplarında azalma olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca lokal mezenkimal kök hücre enjekte edilen sıçanlarda fibrozisin diğer gruplara göre azaldığını saptamışlardır (Monsef, Artimani, Alizadeh, vd., 2020). Başka bir çalışmada, deneysel İUA modeli yapılan farelerde, insanlardan elde edilen platelet zengin plazma (PRP) uygulaması yapılmıştır. Çalışma sonucunda deneysel İUA modeli uygulanan sıçanlardan alınan örnekler histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Histokimyasal olarak Hematoksilen-Eozin ve Masson trikrom boyaması yapılan çalışmada immünohistokimyasal boyamalar için TGF- β 1, tip 1 kolajen ve Timp 1 belirteçlerini kullanmışlardır. Çalışma sonunda, tip 1 kolajen ekspresyonun İUA modeli oluşturulmuş grupta en yüksek seviyede olduğu, İUA modeli oluşturulup PRP uygulanan grupta ise tip 1 kolajen ekspresyonunun düşük ve intakt kontrol grubuna yakın seviyede olduğu saptanmıştır (J. H. Kim vd., 2020). Bu tez çalışmasında da kolajen ekspresyonu açısından gruplar arası tüm ikili farklar anlamlı bulunmuştur

($p < 0,001$). Adezyon grubunda tip 1 kolajen ekspresyonunun en yüksek seviyede olduğu görülmüştür. Ghrelin tedavisi sonrasında ise doza bağlı olarak ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır.

TNF α , anjiyogenez gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip bir inflamatuvar sitokindir ve endotel hücrelerinin proliferasyonunu dolaylı olarak etkiler (Hoeben vd., 2004). Skarlı dokuların iyileşme sürecinde aktif rol oynayan TNF α , inflamasyonun erken evrelerinde salgılanır. Yara oluşumu ile artan TNF α ekspresyonu, fibröz doku hiperplazisi ve skar oluşumunun göstergesi olarak kabul edilmektedir (Lennard vd., 2000). Yapılan literatür incelemelerinde bir makalede adezyon varlığında kullanılan ghrelinin TNF α ekspresyon seviyesinin model ve deney grupları arasında farklılık göstermediği bildirilmiştir (Bianchi vd., 2016). Başka bir çalışmada ise dondurularak kurutulmuş amniyon greftlerinin, adezyonlu uterustaki etkileri incelenmiş ve TNF α gibi adezyonla ilişkili sitokinlerin ekspresyon seviyelerinde azalma kaydedilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlara göre, İUA'da dondurularak kurutulmuş amniyon greftlerinin kullanılabilceğini bildirmişlerdir (S. Wang vd., 2022). Farklı bir çalışmada ise İUA modelinde, insan göbek kordonu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin (GK-MKH'ler) endometriyum üzerindeki etkileri immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Uterusa etanol enjeksiyonu ile oluşturulan İUA modeline GK-MKH'ler kuyruk damarından enjekte edilmiştir. Deney sonunda endometriyal fibrozis, endometriyumun epitelyal ve stromal hücrelerinin belirteçleri, hücre proliferasyonu ve anjiyogenez ve inflamatuvar faktörleri incelemek için analizler yapılmıştır. İnflamasyon belirteci olan TNF α 'nın GK-MKH'ler ile tedavi edilen grupta düşük seviyede eksprese edildiği belirtilmiştir. Yapılan diğer analizler sonunda, İUA'larda GK-MKH transplantasyonunun fibrozisi ve inflamasyonu baskıladığı, endometriyal hücre proliferasyonu ve vasküler reepitelizasyonu arttırdığı dolayısıyla endometriyal hasarın onarımına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2018).

Bu deneysel tez çalışmasında İUA modelinin ghrelinle tedavisinin ardından uterus dokularındaki TNF α ekspresyonu incelendiğinde gruplar arası ikili farklar anlamlı bulunmuştur. Adezyon grubunda TNF α ekspresyonu en yüksek seviyede iken ghrelin uygulaması sonrası doza bağlı olarak TNF α ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır ($p < 0,001$). Kontrol grubuna en yakın sonucu veren deneysel model grubunun ise ghrelin 40 ng grubu olduğu görülmüştür.

Oksijen (O₂) homeostazını sürdürme yeteneği, tüm çok hücreli organizmaların hayatta kalması için çok önemlidir. Anormal derecede yüksek O₂ seviyeleri (hiperoksi), hücre veya organel membranlarına zarar veren reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olabilir. Hem hücresel hem de sistemik hipoksik tepkilerin birincil transkripsiyon düzenleyicisi, heterodimerik transkripsiyon faktörü HIF'dir. HIF heterodimerleri, bir HIF α ve bir HIF β alt biriminden oluşur. HIF α 'nın alt birimi olan HIF-1 α , hedef genlerin transkripsiyonunu doğrudan aktive edebilir. Ayrıca HIF-1 α , endometriyal onarım ve damar proliferasyonu için önemli bir transkripsiyon faktörüdür. HIF-1 α , hücresel ve sistemik homeostatik tepkiye aracılık eder ve böylece yara iyileşmesine katkıda bulunur (Maybin vd., 2018). HIF-1 α , insan ve fare dokularında normal olarak bulunmaktadır (Covello & Simon, 2004). Normoksik koşullar altında, HIF-1 α üretilir ancak hızla bozulur ve normal dokularda düşük bazal seviyelere neden olur. Hipoksi, HIF-1 α 'in çoğalmasını ve bozulmasını engelleyerek hücrelerde hızlı birikmesine neden olur (Stroka vd., 2001). Critchley ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, menstrüal siklus boyunca HIF-1 α ekspresyonunun zamana bağlı değişimi gösterilmiştir. HIF-1 α proteinin, sekresyon fazından menstrüal dönemine kadarki süreçte insan endometriyumunda artan bir yoğunlukla eksprese edildiği gösterilmiştir. Proliferatif fazda alınan endometriyal dokuların analizlerinde HIF-1 α immünoaktivitesinin olmadığını göstermişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar en güçlü HIF-1 α ekspresyonunun endometriyumun fonksiyonel tabakası olduğu bildirilmiştir (Critchley vd., 2006). Park ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, İUA modelinde uygulanan perivasküler kök hücre türevli siklofilin A'nın, HIF-1 α bağımlı anjiyogenezin uterus dokusunda rejenerasyonu sağladığı bildirilmiştir (Park vd., 2020). Literatüre kazandırılmış başka bir çalışmada da benzer şekilde sekresyon fazında ve menstrüal dönemde HIF-1 α 'nın endometriyal dokuda stabilizasyonu sağladığı tespit edilmiştir (Maybin, Hirani, Brown, Jabbour, & Critchley, 2011). Ghrelinin tedavi edici ajan olarak kullanıldığı çalışmalar incelendiğinde, hipoksik akciğer dokusunda ghrelinin tedavi amacıyla kullanılmasının HIF-1 α düzeyini azalttığı gösterilmiştir (Mirzaei Babil vd., 2015). Bu tez çalışmasında yapılan analizler sonucunda kontrol grubunda oldukça az seviyede HIF-1 α ekspresyonu olduğu görülmüştür. Adezyon grubunda ise endometriyal alanların tamamında oldukça yoğun HIF-1 α ekspresyonunun olduğu saptanmıştır. Ghrelinin doza bağlı grupları arasında paralel oranda HIF-1 α ekspresyonunun azaldığı fakat kontrol grubundan fazla bir ekspresyon paterni gösterdiği saptanmıştır. Yapılan istatistikseldeğerlendirmede ise

tüm ikili farklar anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Bu veriler ışığında yapılan tez çalışmasının bulgularının literatürle benzerlikler gösterdiği tespit edilmiştir.

FGF2, doku onarımı ve anjiyogenezi uyararak yara iyileşmesinde rol oynayan bir mitojendir. Menstrüasyon döngüsü sırasında FGF2, endometriyumda reepitelizasyon, anjiyogenez ve stromal hücre proliferasyonu için önemli bir faktördür (Virag vd., 2007). Normal endometriyumun bozulduğu durumda ve kan damarlarının azalmasıyla kemik iliği ve endometriyal hücrelerden kaynaklanan anjiyojenik faktör FGF2 azalır ve anjiyogenezin bozulmasına sebep olur. Dolayısıyla FGF2 ekspresyonunun azalması endometriyal onarımı ve rejenerasyonu engeller (Murayama vd., 2002). Literatüdeki bir çalışmaya göre, kolajen bağlayıcı FGF2'nin infertil kadınların skarlı endometriyumunda iyileşmeyi sağladığı bildirilmiştir. Çalışmada FGF2'nin, endometrial kalınlığı ve skarlı endometriyal alanın iyileştiği gösterilmiştir. Ayrıca yapılan histolojik incelemelerde endometriyum kalınlığında ve kan damarı yoğunluğunda artış olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar, FGF2 uygulamasının hasarlı endometriyumun iyileştirilmesinde kullanılabilir bir yaklaşım olduğunu beyan etmişlerdir (Jiang vd., 2019). Bu tez çalışmasında FGF2 immünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre gruplar arası çoklu karşılaştırma sonucundaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). En yüksek FGF2 ekspresyonu adezyon grubunda bulunurken, en düşük ekspresyon kontrol grubunda görülmüştür. Bu veriler ışığında, yapılan bu tez çalışmasının bulguları incelendiğinde İUA varlığında kullanılan ghrelinin FGF2 ekspresyonunu kontrol grubuna yakın hale getirerek literatürle benzer sonuçlar verdiği saptanmıştır.

Sonuç ve Öneriler

1. Dünya genelinde kadınlarda menstrüel anomaliler ve infertilite gibi problemlerle öne çıkan intrauterin adezyon oluşumu ciddi bir sağlık problemidir. Bu konu ile ilgili altın standart bir tedavi stratejisi henüz bulunamamıştır.
2. Bu deneysel çalışmada transvajinal TCA uygulaması ile intrauterin adezyon modeli oluşturulmuştur. Radyopak madde kullanarak radyografik görüntü alınmış ve işlemin doğruluğu teyit edilmiştir. Yapılan literatür taramasında bu uygulamanın olduğu başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.
3. İştah hormonu olarak bilinen ghrelinin etkisinin teyidi için deneye katılan tüm sıçanların başlangıç, 1., 3., 5., 7. ve 8. günlerinde ağırlıkları ölçülmüştür. 3. günde kontrol ve adezyon grupları ile ghrelin (20 ng) grubu arasındaki fark anlamsız iken kontrol ve adezyon grupları ile ghrelin (40 ng) grupları arasındaki tüm farklar anlamlı bulunmuştur. Ghrelin gruplarındaki deneklerin ağırlıkları ise kontrol ve adezyon gruplarına göre daha yüksek görülmüştür. Bu bulgu deneyde tedavi edici ajan olan ghrelinin *in vivo* olarak etkinlik belirtisi olarak kabul edilmiştir.
4. Literatürde immünomodülatör, antifibrotik, antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler gösterdiği bilinen ghrelin, deneysel intrauterin adezyon modeli üzerinde fibrozis, inflamasyon oluşumunu deney grubuna kıyasla engellemiştir.
5. Deney gruplarında duvar kalınlıkları değerlendirildiğinde adezyon grubunda duvar kalınlığının en düşük olduğu saptanmıştır.
6. Deney gruplarında endometriyum kalınlıkları değerlendirildiğinde adezyon grubunda endometriyum kalınlığının en düşük seviyede olduğu görülmüştür. Ghrelin uygulamasının ise endometriyum kalınlığını arttırdığı/koruduğu saptanmıştır.
7. Deney gruplarında ortalama inflamasyon değerlendirildiğinde adezyon grubunda en yüksek seviyede iken ghrelin uygulamasının doza bağlı olarak inflamasyonu azalttığı saptanmıştır.

8. Deneş gruplarında ortalama fibrozis değerlendirildiğinde fibrozis seviyesi en yüksek adezyon grubunda en düşük kontrol grubunda saptanmıştır.
9. Deneş gruplarında VEGF ekspresyonu değerlendirildiğinde adezyon grubunda VEGF en düşük seviyede iken kontrol grubunda en yüksek düzeyde saptanmıştır.
10. Deneş gruplar arasındaki tip 1 kolajen dağılımı değerlendirildiğinde adezyon grubunda tip 1 kolajen ekspresyonu en yüksek seviyede iken ghrelin tedavisi sonrası doza bağlı olarak ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır.
11. Deneş gruplarında TNF α ekspresyonu değerlendirildiğinde adezyon grubunda TNF α ekspresyonu en yüksek seviyede gözlenirken, ghrelin tedavisi sonrası doza bağlı olarak ekspresyonu azalmaktadır.
12. Deneş gruplarında HIF-1 α ekspresyonu açısından adezyon grubunda en yüksek seviyede iken doza bağlı ghrelin tedavisi sonrası ekspresyonu azalmaktadır.
13. Deneş gruplarında FGF2 ekspresyonu açısından adezyon grubunda en yüksek bulunurken, en düşük kontrol grubunda saptanmıştır.
14. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda deneşsel intrauterinal adezyon modelinde tedavi edici ajan olarak ghrelinin kullanıldığı başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmanın literatüre yenilik getireceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmada kullanılan ghrelin dozları da ilk kez bu çalışmada kullanılmıştır (güvenli aralık içinde).
15. Kadınlarda ghrelin tedavisinin kullanılabilirliği ile ilgili daha ileri klinik çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Aboul Nasr, A. L., Al-Inany, H. G., Thabet, S. M., & Aboulghar, M. (2000). A clinicohysteroscopic scoring system of intrauterine adhesions. *Gynecologic and obstetric investigation*, 50(3), 178–181. <https://doi.org/10.1159/000010305>
- Ameer, M. A., Fagan, S. E., Sosa-Stanley, J. N., & Peterson, D. C. (2022). *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Uterus*. StatPearls. Tarihinde adresinden erişildi <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470297/>
- Amin, T. N., Saridogan, E., & Jurkovic, D. (2015). Ultrasound and intrauterine adhesions: a novel structured approach to diagnosis and management. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 46(2), 131–139. <https://doi.org/10.1002/UOG.14927>
- Andrews, W. W., & Ojeda, S. R. (1981). A detailed analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty. *Endocrinology*, 109(6), 2032–2039. <https://doi.org/10.1210/ENDO-109-6-2032>
- Arung, W., Meurisse, M., & Detry, O. (2011). Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions. *World journal of gastroenterology*, 17(41), 4545–4553. <https://doi.org/10.3748/WJG.V17.I41.4545>
- Auta, T., & Hassan, A. T. (2016). Alteration in oestrus cycle and implantation in *Mus musculus* administered aqueous wood ash extract of *Azadirachta indica* (neem). *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(3), 188–192. <https://doi.org/10.1016/J.APJR.2016.03.003>
- Bademci, R., Erdoğan, M. A., Eroğlu, E., Meral, A., Erdoğan, A., Atasoy, & Erbaş, O. (2021). Demonstration of the protective effect of ghrelin in the livers of rats with cisplatin toxicity. *Human & experimental toxicology*, 40(12), 2178–2187. <https://doi.org/10.1177/09603271211026722>
- Bianchi, E., Boekelheide, K., Sigman, M., Lamb, D. J., Hall, S. J., & Hwang, K. (2016). Ghrelin ameliorates adhesions in a postsurgical mouse model. *The Journal of surgical research*, 201(1), 226–234. <https://doi.org/10.1016/J.JSS.2015.10.044>

- Binn, M., Albert, C., Gougeon, A., Maerki, H., Coulie, B., Lemoyne, M., ... Poitras, P. (2006). Ghrelin gastrokinetic action in patients with neurogenic gastroparesis. *Peptides*, 27(7), 1603–1606. <https://doi.org/10.1016/J.PEPTIDES.2005.12.008>
- Bosteels, J., Weyers, S., D’Hooghe, T. M., Torrance, H., Broekmans, F. J., Chua, S. J., & Mol, B. W. J. (2017). Anti-adhesion therapy following operative hysteroscopy for treatment of female subfertility. *The Cochrane database of systematic reviews*, 11(11). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011110.PUB3>
- Bosteels, J., Weyers, S., Kasius, J., Broekmans, F. J., Mol, B. W. J., & D’Hooghe, T. M. (2015). Anti-adhesion therapy following operative hysteroscopy for treatment of female subfertility. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2015(11). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011110.PUB2>
- Buttram, V. C., Gomel, V., Siegler, A., DeCherney, A., Gibbons, W., & March, C. (1988). The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, müllerian anomalies and intrauterine adhesions. *Fertility and sterility*, 49(6), 944–955. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)59942-7](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)59942-7)
- Büyük, B., & Beyazıt, F. (2019). The efficacy of Ankaferd Blood Stopper® in an experimental Asherman syndrome model created in rats. *Turkish journal of obstetrics and gynecology*, 16(1), 7–14. <https://doi.org/10.4274/TJOD.GALENOS.2018.21298>
- Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., & Taft, R. A. (2012). Mouse estrous cycle identification tool and images. *PloS one*, 7(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0035538>
- Ceran, C., Aksoy, R. T., Gülbahar, Ö., & Öztürk, F. (2013). The effects of ghrelin on colonic anastomosis healing in rats. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 68(2), 239–244. [https://doi.org/10.6061/CLINICS/2013\(02\)OA19](https://doi.org/10.6061/CLINICS/2013(02)OA19)
- Chang, L., Ren, Y., Liu, X., Li, W. G., Yang, J., Geng, B., ... Tang, C. (2004). Protective effects of ghrelin on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 43(2), 165–170. <https://doi.org/10.1097/00005344-200402000-00001>
- Chen, C.-Y., & Tsai, C.-Y. (2012). Ghrelin and motilin in the gastrointestinal system.

Current pharmaceutical design, 18(31), 4755–4765.
<https://doi.org/10.2174/138161212803216915>

Chen, L., Zhang, H., Wang, Q., Xie, F., Gao, S., Song, Y., ... Sui, L. (2017). Reproductive Outcomes in Patients With Intrauterine Adhesions Following Hysteroscopic Adhesiolysis: Experience From the Largest Women's Hospital in China. *Journal of minimally invasive gynecology*, 24(2), 299–304. <https://doi.org/10.1016/J.JMIG.2016.10.018>

Chen, Y., Chang, Y., & Yao, S. (2013). Role of angiogenesis in endometrial repair of patients with severe intrauterine adhesion. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 6(7), 1343. Tarihinde adresinden erişildi
</pmc/articles/PMC3693199/>

Chun, E. Y., Lee, J. B., Lee, K. H., & Rubin, M. G. (2004). Focal trichloroacetic acid peel method for benign pigmented lesions in dark-skinned patients. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]*, 30(4 Pt 1), 512–516. <https://doi.org/10.1111/J.1524-4725.2004.30166.X>

Çil, N., Yaka, M., Ünal, M. S., Dodurga, Y., Tan, S., Seçme, M., ... Mete, G. A. (2020). Adipose derived mesenchymal stem cell treatment in experimental asherman syndrome induced rats. *Molecular biology reports*, 47(6), 4541–4552. <https://doi.org/10.1007/S11033-020-05505-4>

Cocuzza, M. A., Cocuzza, M., MacIel, G. A. R., Da Motta, E. V., Cardoso, A. P. T., Soares, J. M., & Baracat, E. C. (2011). Development of an animal model for endometrial ablation using trichloroacetic acid. *Fertility and sterility*, 95(7), 2418–2421. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2011.03.064>

Conforti, A., Alviggi, C., Mollo, A., De Placido, G., & Magos, A. (2013). The management of Asherman syndrome: a review of literature. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-118>

Cooke, P. S., Spencer, T. E., Bartol, F. F., & Hayashi, K. (2013). Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Molecular human reproduction*, 19(9), 547–558. <https://doi.org/10.1093/MOLEHR/GAT031>

Covello, K. L., & Simon, M. C. (2004). HIFs, Hypoxia, and Vascular Development.

Current Topics in Developmental Biology, 62, 37–54.
[https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(04\)62002-3](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(04)62002-3)

Critchley, H. O. D., Osei, J., Henderson, T. A., Boswell, L., Sales, K. J., Jabbour, H. N., & Hirani, N. (2006). Hypoxia-inducible factor-1alpha expression in human endometrium and its regulation by prostaglandin E-series prostanoid receptor 2 (EP2). *Endocrinology*, 147(2), 744–753. <https://doi.org/10.1210/EN.2005-1153>

Cunha, G. R., Kurita, T., Cao, M., Shen, J., Cooke, P. S., Robboy, S. J., & Baskin, L. S. (2018). Tissue interactions and estrogenic response during human female fetal reproductive tract development. *Differentiation; research in biological diversity*, 101, 39–45. <https://doi.org/10.1016/J.DIFF.2018.04.002>

Cunha, G. R., Robboy, S. J., Kurita, T., Isaacson, D., Shen, J., Cao, M., & Baskin, L. S. (2018). Development of the human female reproductive tract. *Differentiation; research in biological diversity*, 103, 46–65. <https://doi.org/10.1016/J.DIFF.2018.09.001>

Di Spiezio Sardo, A., Calagna, G., Scognamiglio, M., O'Donovan, P., Campo, R., & De Wilde, R. L. (2016). Prevention of intrauterine post-surgical adhesions in hysteroscopy. A systematic review. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 203, 182–192. <https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2016.05.050>

Erener, T., Ceritoğlu, K. U., Aktekin, C. N., Dalgic, A. D., Keskin, D., Geneci, F., ... Sezgin, Ö. (2021). Investigation of the effect of ghrelin on bone fracture healing in rats. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 48(10), 1382–1390. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13544>

Evans, G. E., Martínez-Conejero, J. A., Phillipson, G. T. M., Sykes, P. H., Sin, I. L., Lam, E. Y. N., ... Evans, J. J. (2014). In the secretory endometria of women, luminal epithelia exhibit gene and protein expressions that differ from those of glandular epithelia. *Fertility and sterility*, 102(1). <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2014.04.005>

Fathpour, K., Khoroushi, M. (2013). Effect of trichloroacetic acid hydrogel on self-etch adhesive bond strength to dental tissues. *The journal of contemporary dental practice*, 14(3), 375–380. <https://doi.org/10.5005/JP-JOURNALS-10024-1331>

- Ferenczy, A., Bergeron, C. (1991). Histology of the human endometrium: from birth to senescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 622(1), 6–27. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1991.TB37847.X>
- Ferrara, N. (1999). Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 77(7), 527–543. <https://doi.org/10.1007/S001099900019>
- Fleischmajer, R., Perlish, J. S., & West, W. P. (1977). Ultrastructure of Cutaneous Cellular Infiltrates in Scleroderma. *Archives of Dermatology*, 113(12), 1661–1666. <https://doi.org/10.1001/ARCHDERM.1977.01640120029002>
- Gao, L., Huang, Z., Lin, H., Tian, Y., Li, P., & Lin, S. (2019). Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells (BMSCs) Restore Functional Endometrium in the Rat Model for Severe Asherman Syndrome. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 26(3), 436–444. <https://doi.org/10.1177/1933719118799201>
- Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, S. A., Morris, D. G., McGee, P., Fairclough, P., ... Korbonits, M. (2002). The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 87(6), 2988–2991. <https://doi.org/10.1210/JCEM.87.6.8739>
- Gray, C. A., Bartol, F. F., Tarleton, B. J., Wiley, A. A., Johnson, G. A., Bazer, F. W., & Spencer, T. E. (2001). Developmental biology of uterine glands. *Biology of reproduction*, 65(5), 1311–1323. <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD65.5.1311>
- Guo, E. J., Chung, J. P. W., Poon, L. C. Y., & Li, T. C. (2019). Reproductive outcomes after surgical treatment of asherman syndrome: A systematic review. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 59, 98–114. <https://doi.org/10.1016/J.BPOBGYN.2018.12.009>
- Herendael, B. J. V., Stevens, M. J., Flakiewicz-Kula, A., & Hansch, C. (1987). Dating of the endometrium by microhysteroscopy. *Gynecologic and obstetric investigation*, 24(2), 114–118. <https://doi.org/10.1159/000298789>
- Hoeben, A., Landuyt, B., Highley, M. S., Wildiers, H., Van Oosterom, A. T., & De Bruijn, E. A. (2004). Vascular endothelial growth factor and angiogenesis.

Pharmacological reviews, 56(4), 549–580. <https://doi.org/10.1124/PR.56.4.3>

Houglund, J. L. (2019). Ghrelin octanoylation by ghrelin O-acyltransferase: Unique protein biochemistry underlying metabolic signaling. *Biochemical Society transactions*, 47(1), 169–178. <https://doi.org/10.1042/BST20180436>

Imazu, Y., Yanagi, S., Miyoshi, K., Tsubouchi, H., Yamashita, S. I., Matsumoto, N., ... Nakazato, M. (2011). Ghrelin ameliorates bleomycin-induced acute lung injury by protecting alveolar epithelial cells and suppressing lung inflammation. *European journal of pharmacology*, 672(1–3), 153–158. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2011.09.183>

Jiang, P., Tang, X., Wang, H., Dai, C., Su, J., Zhu, H., ... Hu, Y. (2019). Collagen-binding basic fibroblast growth factor improves functional remodeling of scarred endometrium in uterine infertile women: a pilot study. *Science China Life Sciences* 2019 62:12, 62(12), 1617–1629. <https://doi.org/10.1007/S11427-018-9520-2>

Johary, J., Xue, M., Zhu, X., Xu, D., & Velu, P. P. (2014). Efficacy of estrogen therapy in patients with intrauterine adhesions: systematic review. *Journal of minimally invasive gynecology*, 21(1), 44–54. <https://doi.org/10.1016/J.JMIG.2013.07.018>

Kaiserman-Abramof, I. R., & Padykula, H. A. (1989). Angiogenesis in the postovulatory primate endometrium: the coiled arteriolar system. *The Anatomical record*, 224(4), 479–489. <https://doi.org/10.1002/AR.1092240405>

Kanamoto, N., Akamizu, T., Tagami, T., Hataya, Y., Moriyama, K., Takaya, K., ... Nakao, K. (2004). Genomic structure and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene. *Endocrinology*, 145(9), 4144–4153. <https://doi.org/10.1210/EN.2003-1718>

Kilic, S., Yuksel, B., Pinarli, F., Albayrak, A., Boztok, B., & Delibasi, T. (2014). Effect of stem cell application on Asherman syndrome, an experimental rat model. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 31(8), 975–982. <https://doi.org/10.1007/S10815-014-0268-2>

Kim, J. H., Park, M., Paek, J. Y., Lee, W. S., Song, H., & Lyu, S. W. (2020). Intrauterine Infusion of Human Platelet-Rich Plasma Improves Endometrial Regeneration and Pregnancy Outcomes in a Murine Model of Asherman's

Syndrome. *Frontiers in physiology*, 11.
<https://doi.org/10.3389/FPHYS.2020.00105>

Kim, S. H., Ko, H. C., Oh, C. K., Kwon, K. S., & Kim, M. B. (2009). Trichloroacetic acid matricectomy in the treatment of ingrowing toenails. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]*, 35(6), 973–979. <https://doi.org/10.1111/J.1524-4725.2009.01165.X>

Kishimoto, I., Tokudome, T., Hosoda, H., Miyazato, M., & Kangawa, K. (2012). Ghrelin and cardiovascular diseases. *Journal of cardiology*, 59(1), 8–13. <https://doi.org/10.1016/J.JJCC.2011.11.002>

Kjer, J. J. (2014). Asherman syndrome in a Danish population. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 93(4), 425–427. <https://doi.org/10.1111/AOGS.12347>

Kohn, D. F., & Clifford, C. B. (2002). Biology and Diseases of Rats. *Laboratory Animal Medicine*, 121. <https://doi.org/10.1016/B978-012263951-7/50007-7>

Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., & Kangawa, K. (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402(6762), 656–660. <https://doi.org/10.1038/45230>

Kojima, M., Hosoda, H., Matsuo, H., & Kangawa, K. (2001). Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 12(3), 118–122. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00362-3](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00362-3)

Kojima, M., & Kangawa, K. (2005). Ghrelin: structure and function. *Physiological reviews*, 85(2), 495–522. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00012.2004>

Kulozik, M., Hogg, A., Lankat-Buttgereit, B., & Krieg, T. (1990). Co-localization of transforming growth factor beta 2 with alpha 1(I) procollagen mRNA in tissue sections of patients with systemic sclerosis. *The Journal of clinical investigation*, 86(3), 917–922. <https://doi.org/10.1172/JCII14793>

Laganà, A. S., Ciancimino, L., Mancuso, A., Chiofalo, B., Rizzo, P., & Triolo, O. (2014). 3D sonohysterography vs hysteroscopy: a cross-sectional study for the evaluation of endouterine diseases. *Archives of gynecology and obstetrics*, 290(6), 1173–1178. <https://doi.org/10.1007/S00404-014-3366-6>

- Leeming, D. J., Sand, J. M., Nnielsen, M. J., Ggenovese, F., Martinez, F. J., Hhogaboam, C. M., ... Karsdal, M. A. (2012). Serological investigation of the collagen degradation profile of patients with chronic obstructive pulmonary disease or idiopathic pulmonary fibrosis. *Biomarker insights*, 7, 119–126. <https://doi.org/10.4137/BMI.S9415>
- Lennard, C. M., Mann, E. A., Sun, L. L., Chang, A. S., & Bolger, W. E. (2000). Interleukin-1 beta, interleukin-5, interleukin-6, interleukin-8, and tumor necrosis factor-alpha in chronic sinusitis: response to systemic corticosteroids. *American journal of rhinology*, 14(6), 367–373. <https://doi.org/10.2500/105065800779954329>
- Li, B., Zhang, Q., Sun, J., & Lai, D. (2019). Human amniotic epithelial cells improve fertility in an intrauterine adhesion mouse model. *Stem Cell Research & Therapy*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/S13287-019-1368-9>
- Li, W. G., Gavril, D., Liu, X., Wang, L., Gunnlaugsson, S., Stoll, L. L., ... Weintraub, N. L. (2004). Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation*, 109(18), 2221–2226. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000127956.43874.F2>
- Lin, T. C., & Hsiao, M. (2017). Ghrelin and cancer progression. *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer*, 1868(1), 51–57. <https://doi.org/10.1016/J.BBCAN.2017.02.002>
- Lin, X. N., Zhou, F., Wei, M. L., Yang, Y., Li, Y., Li, T. C., & Zhang, S. Y. (2015). Randomized, controlled trial comparing the efficacy of intrauterine balloon and intrauterine contraceptive device in the prevention of adhesion reformation after hysteroscopic adhesiolysis. *Fertility and sterility*, 104(1), 235–240. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2015.04.008>
- Liu, F., Hu, S., Wang, S., & Cheng, K. (2019). Cell and biomaterial-based approaches to uterus regeneration. *Regenerative biomaterials*, 6(3), 141–148. <https://doi.org/10.1093/RB/RBZ021>
- Liu, F., Hu, S., Yang, H., Li, Z., Huang, K., Su, T., ... Cheng, K. (2019). Hyaluronic Acid Hydrogel Integrated with Mesenchymal Stem Cell-Secretome to Treat Endometrial Injury in a Rat Model of Asherman's Syndrome. *Advanced healthcare materials*, 8(14), e1900411.

<https://doi.org/10.1002/ADHM.201900411>

- Maciver, A. H., McCall, M., & James Shapiro, A. M. (2011). Intra-abdominal adhesions: cellular mechanisms and strategies for prevention. *International journal of surgery (London, England)*, 9(8), 589–594. <https://doi.org/10.1016/J.IJSU.2011.08.008>
- Maclean, A., Kamal, A., Adishesh, M., Alnafakh, R., Tempest, N., & Hapangama, D. K. (2020). Human Uterine Biopsy: Research Value and Common Pitfalls. *International journal of reproductive medicine*, 2020, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2020/9275360>
- Malhotra, N., Bahadur, A., Kalaivani, M., & Mittal, S. (2012). Changes in endometrial receptivity in women with Asherman's syndrome undergoing hysteroscopic adhesiolysis. *Archives of gynecology and obstetrics*, 286(2), 525–530. <https://doi.org/10.1007/S00404-012-2336-0>
- March, C. M., Israel, R., & March, A. D. (1978). Hysteroscopic management of intrauterine adhesions. *American journal of obstetrics and gynecology*, 130(6), 653–657. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(78\)90322-8](https://doi.org/10.1016/0002-9378(78)90322-8)
- Maybin, J. A., Hirani, N., Brown, P., Jabbour, H. N., & Critchley, H. O. D. (2011). The regulation of vascular endothelial growth factor by hypoxia and prostaglandin F₂ α during human endometrial repair. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(8), 2475–2483. <https://doi.org/10.1210/JC.2010-2971>
- Maybin, J. A., Murray, A. A., Saunders, P. T. K., Hirani, N., Carmeliet, P., & Critchley, H. O. D. (2018). Hypoxia and hypoxia inducible factor-1 α are required for normal endometrial repair during menstruation. *Nature communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-017-02375-6>
- McKee, K. K., Palyha, O. C., Feighner, S. D., Hreniuk, D. L., Tan, C. P., Phillips, M. S., ... Howard, A. D. (1997). Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 11(4), 415–423. <https://doi.org/10.1210/MEND.11.4.9908>
- McLean, A. C., Valenzuela, N., Fai, S., & Bennett, S. A. L. (2012). Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse

estrous cycle staging identification. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (67). <https://doi.org/10.3791/4389>

Miller, D. W., Harrison, J. L., Brown, Y. A., Doyle, U., Lindsay, A., Adam, C. L., & Lea, R. G. (2005). Immunohistochemical evidence for an endocrine/paracrine role for ghrelin in the reproductive tissues of sheep. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 3. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-60>

Mirzaei Babil, F., Alipour, M. R., Keyhanmanesh, R., Alihemmati, A., Ghiyasi, R., & Mohaddes, G. (2015). Ghrelin Decreases Angiogenesis, HIF-1 α and VEGF Protein Levels in Chronic Hypoxia in Lung Tissue of Male Rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 5(3), 315. <https://doi.org/10.15171/APB.2015.044>

Moncada-Madrado, M., & Valero, C. R. (2022). Embryology, Uterus. *StatPearls*. Tarihiinde adresinden erişildi <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547748/>

Monsef, F., Artimani, T., Alizadeh, Z., Ramazani, M., Solgi, G., Yavangi, M., & Asl, S. S. (2020). Comparison of the regenerative effects of bone marrow/adipose-derived stem cells in the Asherman model following local or systemic administration. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 37(8), 1861–1868. <https://doi.org/10.1007/S10815-020-01856-W>

Monsef, F., Artimani, T., Ramazani, M., Alizadeh, Z., Solgi, G., Yavangi, M., & Soleimani Asl, S. (2020). Effects of adipose-derived stromal vascular fraction on asherman syndrome model. *Acta histochemica*, 122(5). <https://doi.org/10.1016/J.ACTHIS.2020.151556>

Moreno, M., Chaves, J. F., Sancho-Bru, P., Ramalho, F., Ramalho, L. N., Mansego, M. L., ... Bataller, R. (2010). Ghrelin attenuates hepatocellular injury and liver fibrogenesis in rodents and influences fibrosis progression in humans. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 51(3), 974–985. <https://doi.org/10.1002/HEP.23421>

Murayama, T., Tepper, O. M., Silver, M., Ma, H., Losordo, D. W., Isner, J. M., ... Kalka, C. (2002). Determination of bone marrow-derived endothelial progenitor cell significance in angiogenic growth factor-induced neovascularization in vivo. *Experimental Hematology*, 30(8), 967–972. [https://doi.org/10.1016/S0301-472X\(02\)00867-6](https://doi.org/10.1016/S0301-472X(02)00867-6)

- Nappi, C., Di Spiezio Sardo, A., Greco, E., Guida, M., Bettocchi, S., & Bifulco, G. (2007). Prevention of adhesions in gynaecological endoscopy. *Human reproduction update*, 13(4), 379–394. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DML061>
- Neary, N. M., Small, C. J., Wren, A. M., Lee, J. L., Druce, M. R., Palmieri, C., ... Bloom, S. R. (2004). Ghrelin increases energy intake in cancer patients with impaired appetite: acute, randomized, placebo-controlled trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(6), 2832–2836. <https://doi.org/10.1210/JC.2003-031768>
- Obagi, Z. E., Obagi, S., Alaiti, S., & Stevens, M. B. (1999). TCA-based blue peel: a standardized procedure with depth control. *Dermatologic surgery: official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]*, 25(10), 773–780. <https://doi.org/10.1046/J.1524-4725.1999.98178.X>
- Papotti, M., Ghè, C., Cassoni, P., Catapano, F., Deghenghi, R., Ghigo, E., & Muccioli, G. (2000). Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 85(10), 3803–3807. <https://doi.org/10.1210/JCEM.85.10.6846>
- Park, M., Hong, S. H., Park, S. H., Kim, Y. S., Yang, S. C., Kim, H. R., ... Song, H. (2020). Perivascular Stem Cell-Derived Cyclophilin A Improves Uterine Environment with Asherman's Syndrome via HIF1 α -Dependent Angiogenesis. *Molecular Therapy*, 28(8), 1818. <https://doi.org/10.1016/J.YMTHE.2020.05.015>
- Postlethwaite, A. E. (1995). Role of T cells and cytokines in effecting fibrosis. *International reviews of immunology*, 12(2–4), 247–258. <https://doi.org/10.3109/08830189509056716>
- Raghuay, K., García-Caballero, T., Bravo, S., Álvarez, C. V., González, R., Diéguez, C., ... Gallego, R. (2008). Ghrelin localization in the medulla of rat and human adrenal gland and in pheochromocytomas. *Histology and histopathology*, 23(1), 57–65. <https://doi.org/10.14670/HH-23.57>
- Rindi, G., Necchi, V., Savio, A., Torsello, A., Zoli, M., Locatelli, V., ... Solcia, E. (2002). Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochemistry and cell biology*, 117(6), 511–519. <https://doi.org/10.1007/S00418-002-0415-1>

- Roach, M. K., & Andreotti, R. F. (2017). The Normal Female Pelvis. *Clinical obstetrics and gynecology*, 60(1), 3–10.
<https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000259>
- Rodriguez, I., Araki, K., Khatib, K., Martinou, J. C., & Vassalli, P. (1997). Mouse vaginal opening is an apoptosis-dependent process which can be prevented by the overexpression of Bcl2. *Developmental biology*, 184(1), 115–121.
<https://doi.org/10.1006/DBIO.1997.8522>
- Sabry, D., Mostafa, A., Mekawey, D., Altaib, Z., Shamaa, A., Hany, A., ... Khalifa, W. A. (2018). An experimental model: intrauterine adhesion versus subendometrial fibrosis. *Biomedical Research*, 29(17), 3311–3318.
<https://doi.org/10.4066/BIOMEDICALRESEARCH.29-18-849>
- Sahoo, H. B., Nandy, S., Senapati, A. K., Sarangi, S. P., & Sahoo, S. K. (2014). Aphrodisiac activity of polyherbal formulation in experimental models on male rats. *Pharmacognosy research*, 6(2), 120–126. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.129029>
- Salama, N. M., Zaghlol, S. S., Mohamed, H. H., & Kamar, S. S. (2020). Suppression of the inflammation and fibrosis in Asherman syndrome rat model by mesenchymal stem cells: histological and immunohistochemical studies. *Folia histochemica et cytobiologica*, 58(3), 208–218.
<https://doi.org/10.5603/FHC.A2020.0024>
- Salazar, C. A., Isaacson, K., & Morris, S. (2017). A comprehensive review of Asherman's syndrome: causes, symptoms and treatment options. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 29(4), 249–256.
<https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000378>
- Schenker, J. G., & Margalioth, E. J. (1982). Intrauterine adhesions: an updated appraisal. *Fertility and sterility*, 37(5), 593–610. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)46268-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)46268-0)
- Smith, R. G., Van der Ploeg, L. H. T., Howard, A. D., Feighner, S. D., Cheng, K., Hickey, G. J., ... Patchett, A. A. (1997). Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocrine reviews*, 18(5), 621–645.
<https://doi.org/10.1210/EDRV.18.5.0316>

- Stroka, D. M., Burkhardt, T., Desbaillets, I., Wenger, R. H., Neil, D. A. H., Bauer, C., ... Candinas, D. (2001). HIF-1 is expressed in normoxic tissue and displays an organ-specific regulation under systemic hypoxia. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15(13), 2445–2453. <https://doi.org/10.1096/FJ.01-0125COM>
- Sun, G. X., Ding, R., Li, M., Guo, Y., Fan, L. P., Yue, L. S., ... Zhao, M. (2015). Ghrelin attenuates renal fibrosis and inflammation of obstructive nephropathy. *The Journal of urology*, 193(6), 2107–2115. <https://doi.org/10.1016/J.JURO.2014.11.098>
- Tanaka, M., Hayashida, Y., Iguchi, T., Nakao, N., Nakai, N., & Nakashima, K. (2001). Organization of the mouse ghrelin gene and promoter: occurrence of a short noncoding first exon. *Endocrinology*, 142(8), 3697–3700. <https://doi.org/10.1210/ENDO.142.8.8433>
- Ten Broek, R. P. G., Stommel, M. W. J., Strik, C., Van Laarhoven, C. J. H. M., Keus, F., & Van Goor, H. (2014). Benefits and harms of adhesion barriers for abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*, 383(9911), 48–59. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61687-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61687-6)
- Tena-Sempere, M., Barreiro, M. L., González, L. C., Gaytán, F., Zhang, F. P., Caminos, J. E., ... Aguilar, E. (2002). Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology*, 143(2), 717–725. <https://doi.org/10.1210/ENDO.143.2.8646>
- Torres-De La Roche, L. A., Campo, R., Devassy, R., Di Spiezio Sardo, A., Hooker, A., Koninckx, P., ... De Wilde, R. L. (2019). Adhesions and Anti-Adhesion Systems Highlights. *Facts, Views & Vision in ObGyn*, 11(2), 137. Tarihinde adresinden erişildi [/pmc/articles/PMC6897521/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35111111/)
- V Gomel, B Urman, & T Gurgan. (1996). Pathophysiology of adhesion formation and strategies for prevention - PubMed. *J Reprod Med.*, 41(1), 35–41. Tarihinde adresinden erişildi <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8855074/>
- Virag, J. A. I., Rolle, M. L., Reece, J., Hardouin, S., Feigl, E. O., & Murry, C. E. (2007). Fibroblast growth factor-2 regulates myocardial infarct repair: effects on cell proliferation, scar contraction, and ventricular function. *The American journal of pathology*, 171(5), 1431–1440.

<https://doi.org/10.2353/AJPATH.2007.070003>

- Wang, S., Duan, H., Li, B., Wang, Y., Guo, Z., & Zhu, X. (2022). Efficacy of Freeze-Dried Amnion Grafts on Cytokines in Uterine Exudates Following Hysteroscopic Adhesiolysis of Severe Intrauterine Adhesions. *International journal of general medicine*, 15, 1703–1713. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S333836>
- Wang, Y. Q., Song, X. H., Wu, S. L., Huang, Y. Z., Yan, L., & Li, C. Z. (2020). Comparison of Autocross-Linked Hyaluronic Acid Gel and Intrauterine Device for Preventing Intrauterine Adhesions in Infertile Patients: A Randomized Clinical Trial. *Gynecology and minimally invasive therapy*, 9(2), 74–80. https://doi.org/10.4103/GMIT.GMIT_103_19
- Westwood, F. R. (2008). The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicologic pathology*, 36(3), 375–384. <https://doi.org/10.1177/0192623308315665>
- Wiedmer, P., Nogueiras, R., Broglio, F., D'Alessio, D., & Tschöp, M. H. (2007). Ghrelin, obesity and diabetes. *Nature clinical practice. Endocrinology & metabolism*, 3(10), 705–712. <https://doi.org/10.1038/NCPENDMET0625>
- Wren, A. M., Seal, L. J., Cohen, M. A., Brynes, A. E., Frost, G. S., Murphy, K. G., ... Bloom, S. R. (2001). Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(12), 5992–5992. <https://doi.org/10.1210/JCEM.86.12.8111>
- Wu, R., Zhou, M., Das, P., Dong, W., Ji, Y., Yang, D., ... Wang, P. (2007). Ghrelin inhibits sympathetic nervous activity in sepsis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 293(6). <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00098.2007>
- Wynne, K., Giannitsopoulou, K., Small, C. J., Patterson, M., Frost, G., Ghatei, M. A., ... Choi, P. (2005). Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: a randomized, placebo-controlled trial. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 16(7), 2111–2118. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005010039>
- Xin, L., Wei, C., Tong, X., Dai, Y., Huang, D., Chen, J., ... Zhang, S. (2022). In situ

delivery of apoptotic bodies derived from mesenchymal stem cells via a hyaluronic acid hydrogel: A therapy for intrauterine adhesions. *Bioactive Materials*, 12, 107. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2021.10.025>

Xue, X., Chen, Q., Zhao, G., Zhao, J. Y., Duan, Z., & Zheng, P. S. (2015). The Overexpression of TGF- β and CCN2 in Intrauterine Adhesions Involves the NF- κ B Signaling Pathway. *PloS one*, 10(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0146159>

Yan, Y., & Xu, D. (2018). The Effect of Adjuvant Treatment to Prevent and Treat Intrauterine Adhesions: A Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of minimally invasive gynecology*, 25(4), 589–599. <https://doi.org/10.1016/J.JMIG.2017.09.006>

Yang, J. H., Chen, C. D., Chen, S. U., Yang, Y. S., & Chen, M. J. (2016). The influence of the location and extent of intrauterine adhesions on recurrence after hysteroscopic adhesiolysis. *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*, 123(4), 618–623. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.13353>

Ye, L., Mayberry, R., Lo, C. Y., Britt, K. L., Stanley, E. G., Elefanty, A. G., & Gargett, C. E. (2011). Generation of human female reproductive tract epithelium from human embryonic stem cells. *PloS one*, 6(6). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0021136>

Yu, D., Wong, Y. M., Cheong, Y., Xia, E., & Li, T. C. (2008). Asherman syndrome--one century later. *Fertility and sterility*, 89(4), 759–779. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2008.02.096>

Yug, A., Lane, J. E., Howard, M. S., & Kent, D. E. (2006). Histologic study of depressed acne scars treated with serial high-concentration (95%) trichloroacetic acid. *Dermatologic surgery: official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]*, 32(8), 985–990. <https://doi.org/10.1111/J.1524-4725.2006.32220.X>

Zhang, L., Li, Y., Guan, C. Y., Tian, S., Lv, X. D., Li, J. H., ... Xia, H. F. (2018). Therapeutic effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on injured rat endometrium during its chronic phase. *Stem Cell Research & Therapy*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/S13287-018-0777-5>

Zhu, R., Gan, L., Wang, S., & Duan, H. (2019). A cohort study comparing the severity and outcome of intrauterine adhesiolysis for Asherman syndrome after first- or second-trimester termination of pregnancy. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 238, 49–53.
<https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2019.02.030>

Zhu, Y., Hu, J., Yu, T., Ren, Y., & Hu, L. (2016). High Molecular Weight Hyaluronic Acid Inhibits Fibrosis of Endometrium. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 22, 3438–3445.
<https://doi.org/10.12659/MSM.896028>



Ekler

EGE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

SAYI: 2021-081
KONU: Onay

27.10.2021

Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda "DENEYSSEL İNTRAUTERİN YAPIŞIKLIK MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARIN UTERUSUNDA GHRELİN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ" isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

Yürütücü: Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL, EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD
YL. Öğr. Ebru EROĞLU, EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD
Araş. Gör. Dr. Canberk TOMRUK, EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD
Doç.Dr. Timur KÖSE, EÜ Tıp Fak. Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim AD

Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda 28 adet Wistar Albino dişi sıçan deney hayvanı kullanarak araştırmayı gerçekleştirmeniz kurumumuz tarafından uygun bulunmuştur. Saygılarımla bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD

Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD

(EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD)

(EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD)

(EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD)

(EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD)

(EÜ Tıp Fak. Histoloji Embriyoloji AD)

Teşekkür

Yüksek lisans eğitimim ve tez sürecim boyunca emeğini ve desteğini hiç esirgemeyen, her zaman sabır ve anlayışla yanımda olan, bilgi ve deneyimlerini aktararak yol gösteren kıymetli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL'e çok teşekkür ederim.

Eğitim ortamımızda sağladığı disiplinli çalışma ortamı için anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU başta olmak üzere eğitim sürecimde kıymetli bilgi ve tecrübelerini aktaran değerli öğretim üyelerimiz Prof. Dr. Ayşegül UYSAL, Prof. Dr. Hüseyin AKTUĞ, Prof. Dr. Gülperi ÖKTEM, Doç. Dr. Özlem YILMAZ ve Doç. Dr. Fatih OLTULU'ya, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın asistanları ve personellerine saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmada sağladığı kolaylıklar ve desteklerinden dolayı Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Prof. Dr. Murat OLUKMAN'a ve Merkez Sorumlusu Uzm. Veteriner Hekim F. Emrah SOYLU'ya, istatistiksel analizlerdeki emekleri için Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Timur KÖSE'ye teşekkür ederim. Ayrıca hem deney sürecindeki destekleri için hem de tüm eğitim sürecimde bana kattıkları her şey için sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. Canberk TOMRUK ve doktora öğrencisi Cansın ŞİRİN başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tez çalışması TYL-2022-23718 takip numarası ile Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'nün maddi desteği sayesinde hazırlanmıştır, üniversitemiz rektörlüğü ve destek olan tüm üniversite kurumlarımıza destekleri için teşekkür ederim.

Teşekkürün en büyüğünü benim bugün olduğum kişi olmamı sağlayan ve sancılı tez dönemimde bana hep anlayışla yaklaşan canım aileme ediyorum. Her zaman bana inandığı için sevgili babacığım Doğan EROĞLU'na, her zaman yanımda olan ve beni her zaman sevgiyle kucaklayan annem Vesile CEBİROĞLU'na, uzakta olsalar da varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim ablam Handan ATASOY'a ve abim Rıfat EROĞLU'na çok teşekkür ederim. Ve tabii ki tüm eğitim hayatım boyunca desteğini eksik etmeyen, başarılarımın arkasındaki gizli kahraman, sevgili ablam, can parçam

Rüzgâr Didem EROĞLU'na teşekkürü borç bilirim. Son olarak on yıldır her anlamda yanımda olan, her anlamda desteğini hiç esirgemeyen bana 'Gökyüzü'nü veren Cafer YEŞİL'e çok teşekkür ederim.

İzmir, 09.12.2022

Ebru EROĞLU



Özgeçmiş

Ebru Eroğlu

Kişisel Bilgiler

Uyruk T.C.

Doğum Tarihi

e-posta

Eğitim

Eylül 2020 – **Ege Üniversitesi**

Devam Yüksek Lisans, Histoloji ve Embriyoloji
İzmir, Türkiye

Eylül 2014 – **Ege Üniversitesi (2.63/4.00)**

Ağuş 2020 BSc, Biyoloji
İzmir, Türkiye

Deneyim

Temmuz 2018 **Stajyer**

Ege Üniversitesi, Tıbbi Patoloji
İzmir, Türkiye

Dil Türkçe, İngilizce (YÖKDİL 58,75)

Bilimsel Üyelikler Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği (THED)

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler Canbolat N, Ozkul B, Sever IH, Sogut I, **Eroğlu E**, Uyanıkgil Y, Erbas O. Vitamins C and E protect from sepsis-induced lung damage in rat and CT correlation. Bratisl Lek Listy. 2022;123(11):828-832. doi: 10.4149/BLL_2022_132. PMID: 36254641.

**Ulusal
Hakemli
Dergilerde
Yayımlanan
Makaleler**

Eroğlu E., Uyanıkgil Y. İntrabdominal Adezyon Oluşum Mekanizmalarına ve Tedavi Stratejilerine Histopatolojik Bakış. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi Aralık 2022 (Basımda)

**Katıldığı
Bilimsel
Kurslar**

- Ege Üniversitesi Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Eğitimi Sertifika Programı, İzmir, 2019
- Deney Hayvanları Kullanım Kursu (129 saat), İstanbul Medipol Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 07-17 Haziran, İstanbul, 2021
- Fundamentals of Neuroscience (20 hours), Cephalink Institute, September 11-12, 2021
- Ege Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi (EGESEM) Temel İlk Yardım Eğitimi Sertifika Programı (16 ssat), 15 Kasım- 13 Aralık, İzmir, 2021
- Ege Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi (EGESEM) Temel Türk İşaret Dili Eğitimi Sertifika Programı (16 saat), 15 Kasım- 13 Aralık, İzmir, 2021
- Hücre Kültürü ve Temel Moleküler Biyoloji Teknikleri Uygulamalı Eğitimi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, 15-18 Mart, Ankara, 2022

**Katıldığı
Bilimsel
Toplantılar**

- International Symposium of Cellular Therapies and Cancer: From Lab Bench to Clinic, 19-20 May, 2021
- International Symposium of Cellular Therapies and Regenerative Medicine: From Lab Bench to Clinic, 21-22 May, 2021
- 15th National 1st International Histology and Embryology Congress (NICHE 2022), 26-28 May, 2022