



T.C.

SAKARYA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**RAT MODELLERİNDE UTERUS VE OVER DOKUSUNA
UYGULANACAK OLAN PLATALET RİCH PLAZMA’NIN
OVER VE UTERUS ÜZERİNE VE FERTİLİTE ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZKAN DURMAZ

UZMANLIK TEZİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. NERMİN AKDEMİR

2022-SAKARYA

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RAT MODELLERİNDE UTERUS VE OVER DOKUSUNA
UYGULANACAK OLAN PLATALET RİCH PLAZMA’NIN
OVER VE UTERUS ÜZERİNE VE FERTİLİTE ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZKAN DURMAZ

UZMANLIK TEZİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. NERMİN AKDEMİR

2022-SAKARYA

TEZ ONAYI

Kurum : Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Program türü : Uzmanlık Tezi
Anabilim Dalı : Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Özkan DURMAZ
Sınav Tarihi : **Saat:**
Tez Başlığı : Rat Modellerinde Uterus ve Over Dokusuna Uygulanacak Olan Plazmalet Rich Plazma'nın Over ve Uterus Üzerine ve Fertilite Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Bu çalışma, içerik ve kalite bakımından Uzmanlık Tezi olarak Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

	Ünvan, Adı-Soyadı (Kurum adı)	İmza	Kabul/Red*
Danışman (Üye)	Prof. Dr. Nermin AKDEMİR		
Üye			
Üye			

* Red kararının gerekçesi onay dayfasının arkasında belirtilmelidir.

ONAY

“Bu tez ../../2022 tarihinde yukarıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

../../2022
Tıp Fakültesi Dekanı

BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim. Bu tez, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu Başkanlığı tarafından 2021-7-25-29 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 08/01/2020 tarihinde onay alarak hazırlanmıştır.

Tarih:

..../..../...

Özkan DURMAZ

İmza

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim ve en zorlu süreçlerden biri olan tez planlama, proje yürütme, yazma aşamalarında her zaman yanımda olan, bana bilgileri ve tecrübeleriyle hep destek olan, sadece mesleki tecrübelerini aktarmakla kalmayıp sosyal hayatımda da bir anne şefkati ve sevgisi ile bana her zaman yol gösterici olan sevgili hocam Prof. Dr. Nermin AKDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışma sürecinde bana desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Öğretim üyesi Özcan BUDAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Sakarya Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi'ndeki hocalarım Prof. Dr. Selçuk ÖZDEN, Prof. Dr. Arif Serhan CEVRİOĞLU, Doç. Dr. Mehmet Sühha BOSTANCI, Doç. Dr. Hilal Uslu YUVACI, Jin. Onk. Op. Dr. Osman Köse'ye tecrübelerime yenilerini katarak, bilgi ve deneyimlerimi arttırmama yardımcı oldukları için en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım tüm değerli asistan arkadaşlarıma, meslektaşlarıma, hemşirelerimize, ebelerimize ve diğer çalışanlarımıza da ayrıca teşekkür ederim.

Asistanlık hayatım boyunca her anımda yanımda olan sevgili aileme; bu süreçte bana desteğini her zaman gösteren sevgili eşime ve anneme çok teşekkür ediyorum.

Dr. Özkan DURMAZ

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iiii
TABLO LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	iii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Uterusun Anatomisi.....	3
2.2. Overler.....	4
2.3. Uterusun Damar Yapısı.....	4
2.4. Normal Menstrüel Siklus Fizyolojisi.....	5
2.4.1. Uterin siklus.....	5
2.4.1.1. Menstrüel endometriyum.....	6
2.4.1.2. Proliferatif faz.....	6
2.4.1.3. Sekresyon fazı.....	6
2.4.1.4. İmplantasyon fazı.....	6
2.4.1.5. Endometriyal yıkım fazı.....	7
2.4.2. Ovaryan siklus.....	7
2.4.2.1. Foliküler faz.....	7
2.4.2.1.1. Primordiyal folikül.....	8
2.4.2.1.2. Preantral folikül.....	8
2.4.2.1.3. Preovulatuvar folikül.....	8

2.4.2.2. Ovulasyon.....	9
2.4.2.3. Luteal faz.....	9
2.4.2.3.1.Luteal fazda hormonal fonksiyon ve düzenlenmesi.....	9
2.5. Endometriyal Reseptivite.....	10
2.5.1. Pinopodlar.....	10
2.5.2. Büyüme faktörleri ve sitokinler.....	11
2.5.2.1. Vasküler endotelyal büyüme faktörü.....	11
2.6. Ratlarda Östrüs Siklusu.....	12
2.7. İnfertilite.....	12
2.7.1. İnfertil çiftin değerlendirilmesi.....	13
2.7.1.1. Anamnez.....	14
2.7.1.2.Fizik muayene.....	14
2.7.2.İnfertil kadınlarda laboratuvar incelemeleri.....	15
2.7.2.1.Over rezervinin değerlendirilmesinde kullanılan testler.....	15
2.7.3.İnfertilite nedenleri.....	16
2.7.3.1.Ovulatuvar disfonksiyon.....	17
2.7.3.2.Düşük over rezervi (DOR).....	17
2.7.3.2.1.Over rezervi ve AMH ilişkisi.....	18
2.7.3.3.Açıklanamayan infertilite.....	18
2.7.3.4.Uterin faktör.....	19
2.7.3.5.Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı.....	20
2.8.Trombositten Zengin Plazma (PRP).....	20
2.8.1.PRP ana faktörleri ve endometriyum ve over dokusu üzerindeki olası etkileri.....	21
2.8.2.PRP'nin klinik uygulamaları.....	22
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1.Deney Hayvanları.....	24
3.2.Ratlara Anestezi Uygulaması.....	25
3.3.PRP Hazırlanması.....	26
3.4.Cerrahi İşlem.....	26

3.4.1.Cerrahinin ikinci aşaması.....	26
3.5.Histolojik İnceleme Yöntemi.....	27
3.5.1.Deparafinizasyon.....	28
3.5.2.Dehidratasyon.....	28
3.5.3.Blokaj.....	28
3.5.4.İmmünohistokimya boyama yöntemleri.....	29
3.5.5.İmmünohistokimya boyaması değerlendirilmesi.....	29
3.6.Biyokimyasal İnceleme.....	30
3.7.İstatiksel Analiz.....	31
4.BULGULAR.....	33
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	44
6.KAYNAKLAR.....	52
7.EKLER.....	62
7.1. EK-1 Etik kurul kararı.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	63

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

AFC: Antral Folikül Sayısı
AMH: Anti Müllerian Hormon
ASRM: Amerikan Üreme Tıbbı Derneği
bFGF: bazik Fibroblast Büyüme Faktörü
CCCT: Klorfen Sitrat Challenge Test
CFTR: Kistik Fibrozis Transmembran Regülatör
CFU: Santrifüj Dönme Hızı
CSF-1: Koloni Stimüle Edici Faktör-1
DOR: Düşük Over Rezervi
E2: Östradiol
EFORT: Ekzojen FSH Over Rezerv Testi
EGF: Epidermal Büyüme Faktörü
ESHRE: Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği
FSH: Folikül Stimulan Hormon
GAST: GnRH Agonist Stimulation Test
GF: Growth Faktör (Büyüme Faktörü)
GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
H&E: Hematoksilen Eozin
HB-EGF: Heparin Bağlayan Epitelyal Büyüme Faktörü
hCG: İnsan Koryonik Gonadotropin
HGF: Hepatosit Büyüme Faktörü
IGF-BP-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayan Protein-1
IGF-I: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I
IGF-II: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-II
IHC: İmmüno-histokimyasal
IL-1: İnterlökin-1
İVF: İn-Vitro Fertilizasyon

KGF: Keratinosit Büyüme Faktörü
LH: Luteotropik Hormon
LIF: Lösemi İnhibitör Faktör
NSAİİ: Nonsteroid Anti İnflamatuvar İlaç
PBS: Phosphate Buffered Saline
PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
POF: Prematür Over Yetmezliği
PRP: Platelet-Rich Plasma (Trombositten Zengin Plazma)
TGFb-I: Transforme Büyüme Faktörü bI
VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 4.1. PRP uygulaması sonrası ratların AMH ve FSH değerleri.....35

Şekil 4.2. Gruplar arası over ve uterus dokularındaki immünohistokimyasal boyama sonuçları.....36



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. İnfertilitenin değerlendirme zamanı.....	13
Tablo 2.2. İnfertilitenin etyolojik faktörleri.....	16
Tablo 3.1. Deneyde kullanılan ratların gruplandırılması.....	25
Tablo 3.3. Dehidratasyon aşamaları.....	28
Tablo 3.4. Boyanma derecesi.....	30
Tablo 4.1. Dört grup için ratların AMH ve FSH değerleri.....	34
Tablo 4.2. Gruplar arası over ve uterus dokularındaki immünohistokimyasal boyama sonuçları.....	35
Tablo 4.3. Dört grup için uterus dokularının histopatolojik skor sonuçları.....	36

RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. Doku takip cihazı.....	27
Resim 4.1. PRP uygulanan grupta H&E ile boyanmış endometriyum.....	37
Resim 4.2. Batının diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı grupta H&E ile boyanmış endometriyum.....	38
Resim 4.3. Uterus ve overlere enjektör ile girilip çıkılan grupta H&E ile boyanmış endometriyum.....	39
Resim 4.4. Serum fizyolojik uygulanan grupta H&E ile boyanmış endometriyum....	40
Resim 4.5. Ki-67 ekspresyonunun endometriyum üzerindeki aktivitesinin IHC boyama yöntemi ile gösterilmesi.....	41
Resim 4.6. VEGF ekspresyonunun endometriyum üzerindeki aktivitesinin IHC boyama yöntemi ile gösterilmesi.....	42
Resim 4.7. Ki-67 ekspresyonunun overler üzerindeki IHC boyama yöntemi ile gösterilmesi.....	43

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Platelet Rich Plazma uygulamaları endometriyumu uygun kalınlığa getirmek, azalmış over rezervini iyileştirmek, over kalitesini arttırmak için kullanılabilir. Over rezervi ve endometriyal reseptivite üzerine PRP uygulamasının etkin olup olmadığını, immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak gösterebilmek amacıyla bu çalışmayı planladık.

YÖNTEM: Aralık 2021/Mart 2022 tarihleri arasında 28 dişi Sprague-Dawley albino rat kullanıldı. Ratlar 4 gruba ayrılıp, işlem öncesi sedasyon sağlandı. Ratlardan AMH ve FSH ölçümü için 0,2 ml kan alındı. PRP uygulanacak ratlardan PRP hazırlığı için 0,8 ml kan alındı. 1. grubun batını diseksiyon makasıyla açılıp kapatıldı. 2. grubun overleri ve uterus hornlarına enjektör ile girip çıkılıp inflamasyon uyarıldı. 3. grubun overleri ve uterus hornlarına 0,2 ml serum fizyolojik uygulandı. 4. grubun overleri ve uterus hornlarına 0,2 ml PRP uygulandı. Gruplar 3 östrus izlendi. Gruplardan AMH ve FSH ölçümü için anestezi altında tekrar kan alındı. Ratların batını diseksiyon makasıyla açılıp uterus ve overleri alınıp formalin içinde sabitlendi. Hematoksilin-Eozinle over ve endometrium boyandı. Epitelyal, stromal ve vasküler hücrelerin büyümesi değerlendirildi. VEGF ve Ki-67 antikorları kullanılarak, PRP nin damarlaşma ve hücre proliferasyonu üzerine etkileri incelendi. Grupların işlem öncesi ve sonrası AMH-FSH değerleri ile histopatolojik bulguları karşılaştırıldı. Veriler SPSS 20,0 paket programı kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR: PRP uygulanan grupta AMH değerleri diğer 3 gruba karşılaştırıldığında; AMH seviyesindeki artış anlamlı olarak saptandı ($p<0,05$). Endometrium ve overler Ki-67 ve VEGF varlığı açısından incelendiğinde grup 4 de artış gözlenmiştir ($p<0,05$). PRP uygulaması uterus fibrozisi ve inflamasyonu azaltırken, damarsal gelişimi artırmıştır. 4. grupta histolojik bulguların olumlu yönde geliştiğini gözlemledik ($p<0,05$).

SONUÇ: PRP uygulamasının, over ve uterus üzerine olumlu etkileri olduğunu gözlemledik. PRP' nin fonksiyonel mekanizmasını belirlemek ve klinik kullanımlar için onaylanmış bir PRP uygulama dozu, sayısı ve zamanı bulmak; PRP tedavisini standart ve önerilen bir tedavi stratejisi haline getirmek için iyi kurgulanmış ve randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: AMH, düşük over rezervi, ince endometrium, infertilite, platelet-rich-plazma

ABSTRACT

Investigation of the effects of platelet rich plasma applied to uterus and ovarian tissue in rat models on ovary and uterus and fertility

AIM: Platelet Rich Plasma applications can be used to bring the endometrium to the appropriate thickness, to improve the decreased ovarian reserve, and to increase the quality of the ovary. We planned this study in order to demonstrate immunohistochemically and biochemically, whether PRP application is effective on ovarian reserve and endometrial receptivity.

MATERIALS AND METHODS: Between December 2021 and March 2022, 28 female Sprague-Dawley albino rats were used. Rats were divided into 4 groups and sedation was provided before the procedure. 0.2 ml of blood was taken from the rats for AMH and FSH measurement. For PRP preparation, 0.8 ml of blood was taken from the rats to which PRP was applied. The abdomen of the first group was opened and closed with dissecting scissors. Inflammation was stimulated by entering and exiting the ovaries and uterus horns of the 2nd group with an injector. 0.2 ml of saline was applied to the ovaries and uterine horns of the 3rd group. 0.2 ml of PRP was applied to the ovaries and uterine horns of the 4th group. Groups 3 estrus were observed. Blood was taken again under anesthesia for the measurement of AMH and FSH from the groups. The abdomen of the rats was opened with dissecting scissors, the uterus and ovaries were removed and fixed in formalin. Ovary and endometrium were stained with hematoxylin-eosin. The growth of epithelial, stromal and vascular cells was evaluated. The effects of PRP on vascularization and cell proliferation were investigated using VEGF and Ki-67 antibodies. AMH-FSH values and histopathological findings of the groups were compared before and after the procedure. The data were evaluated using the SPSS 20.0 package program.

RESULTS: When the AMH values in the PRP group were compared with the other 3 groups; The increase in AMH level was found to be significant ($p < 0.05$). When the endometrium and ovaries were examined for the presence of Ki-67 and VEGF, an increase was observed in group 4 ($p < 0.05$). While PRP application reduced fibrosis and inflammation in the uterus, it increased vascular development. We observed that histological findings improved positively in group 4 ($p < 0.05$).

CONCLUSION: We observed that PRP application has positive effects on ovary and uterus. To determine the functional mechanism of PRP and to find an approved PRP application dose, number and time for clinical uses; Well-designed and randomized controlled studies are needed to make PRP treatment a standard and recommended treatment strategy.

Keywords: AMH, infertility, low ovarian reserve, platelet rich plasma, thin endometrium

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Platelet-Rich Plasma (PRP) yöntemi; kişinin kendi kanından hazırlanması ile oluşturulan, trombosit ve büyüme faktörleri yönünden zengin plazmanın tedavi amacı ile organ ve/veya dokulara uygulanması olarak tanımlanır.

Uzun zamandır plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahi, medikal estetik, ortopedi gibi alanlarda da dâhil olmak üzere doku ve organlarda gelişen hasarların iyileşmesinde onarıma yardımcı olması için kullanılmaktadır. PRP seçeneği son yıllarda İn-Vitro Fertilizasyon (IVF) süreci içerisinde endometriyumu uygun kalınlığa getirmek için ve azalmış over rezervini iyileştirmek ve over kalitesini arttırmak için de kullanılabilmektedir.

Trombosit bakımından zengin plazma (PRP), “taban çizgisi üzerinde trombosit sayımı olan bir plazma hacmi” olarak tanımlanmaktadır. Trombositler kemik iliğinde bulunan megakaryositlerden salınan küçük, çekirdekleşmiş hücre parçalarıdır. Çok sayıda protein, birkaç büyüme faktörü (GF) ve sitoplazmik granüllerde depolanan sitokinler içerirler (Pietrzak ve ark., 2005). GF'ler, peptid hormonları ve makrofajlar, nötrofiller, kök hücreler ve fibrinojen ve fibrin gibi yüzlerce başka proteinler için kemoatraktanlar dâhil olmak üzere bazı proteinlerin fizyolojik etkileri incelenmiştir.

Trombositler tarafından depolanan ve salınan birkaç büyüme faktörü arasında vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), transforme büyüme faktörü bI (TGFb-I), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) bulunur (Pietrzak ve ark., 2005).

İnsan üreme teknolojilerinde PRP kullanımı ile ilgili ilk deneme Çinli bir grup tarafından IVF tedavisi alan hastalarda endometriyal kalınlığı sağlamak için uygulanmıştır (Chang ve ark., 2015). Önceki tedavi süreçlerinde ince endometriyum nedeni ile başarı sağlanamayan beş hasta, otolog kandan hazırlanan PRP ile tedavi edildi. PRP uygulanması, hormonal replasman tedavisinin 10. gününde, PRP hazırlandıktan hemen sonra uterin kavite içine direk verildi. Gebeliği XO fetüsün

küretajı ile sonlanan bir hasta haricinde, diğer dört hastada uygulanan PRP başarı ile sona erdi.

Yazarlar, PRP'nin ince endometriyumlu hastalarda endometriyal kalınlık artışına etkili bir tedavi yöntemi olduğunu saptamışlardır (Chang ve ark., 2015). Teşvik edici sonuçlar elde edilmesine karşılık, bu rapordan tek bir sonuç çıkarmak zordur. Bir çalışmada farklı menstrüel sikluslar karşılaştırıldığında PRP kullanılan sikluslarda PRP kullanılmayan sikluslara göre endometriyal kalınlık artışı saptanmıştır (Chang ve ark., 2015). Ya da aynı menstrüel döngüde PRP kademeli olarak uygulandığında endometriyal kalınlık artışı sağlanmıştır (Zadehmodarres ve ark., 2017). Her iki durumda da endometriyal kalınlık, tüm hastalar için 7 mm'ye ya da daha üstüne çıkmıştır (Chang ve ark., 2015). Bu nedenle, PRP 'nin intrauterin kaviteye uygulamasının endometriyum kalınlığını nasıl etkilediği açık değildir.

Endometriyal kalınlığın implantasyon ve canlı doğumdaki rolü üzerine yapılan araştırmalarda elde edilen sonuçlar farklılık göstermektedir. Bazı yazarlar PRP uygulamasının endometriyal kalınlık artışı ile bir ilişkisi olmadığını bildirmiştir (Cai ve ark., 2011; Remohí ve ark., 1997). PRP varlığında 10 gün boyunca kültürlenmiş taze veya dondurulmuş over dokusundan izole edilmiş primer foliküller veya pre-antral foliküller, fetal sığır serumu ile desteklenmiş besiyerinde kültürlenmiş foliküllerde büyüme hızındaki artış anlamlı ve daha iyi hücre canlılığı gösterdiği saptanmıştır (Hosseini ve ark., 2017). PRP'nin büyüme faktörlerinin, hücre proliferasyonu ve foliküler hayatta kalmayı ve gelişmeye yardımcı olan neoanjiyogenez üzerindeki olası rolünü vurgulamaktadır (Hosseini ve ark., 2017). Ovaryan ve endometriyal PRP enjeksiyonu son birkaç senede dünya literatüründe yerini alan, ülkemizde de yeni bir uygulama yöntemi olup deneysel bir tedavi yöntemidir.

Bu çalışma ile az sayıda veri mevcut olan bu konu hakkında literatüre katkı sağlamayı amaçladık. Biz de; over rezervi ve endometriyal reseptisivite üzerine PRP uygulamasının etkin olup olmadığını, infertilite nedeniyle tedavi gören hasta grubu için yeni bir tedavi seçeneğine dönüşme ihtimalinin gerçekliliğini, kanıta dayalı tıp çerçevesinde araştırmak için bu çalışmayı planladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Uterusun Anatomisi

Pelvik kavitede bulunan, mesane ile rektum arasında olan, ortalama boyu nullipar kadınlarda 6-8 cm, multipar kadınlarda 9-10 cm, kalınlığı 2-3 cm, genişliği 4-5 cm olan musküler yapıdaki anatomik organa uterus denir. Ağırlığı nullipar olanlarda 50-70 gr arasında, multipar olanlarda 80 gramdan fazladır (Langlois, 1970).

Uterus anatomik olarak üç bölümden oluşmaktadır:

Korpus uteri: Uterusun geniş ve üçgen şeklinde olan üst kısmıdır. Çoğunluğunu musküler tabaka oluşturmaktadır.

Fundus uteri: Tubaların uterusu giriş yerinin üzerinde bulunan konveks olan bölümü fundus olarak isimlendirilir.

Serviks uteri: Uterusun vajen içinde bulunan bölümüdür. Uzunluğu nullipar kadınlarda korpus uteri ile benzer; multipar kadınlarda toplam uzunluğun yalnızca üçte birinden oluşur. Vajen içinde bulunan kısmına portio vaginalis, üstteki kısmına portio supravaginalis denir. Uterusun posterioru tamamen periton tarafından örtülüdür. Bu peritonun alt kısmı rekto-uterin boşluğu ya da diğer ismi ile Douglas boşluğunu önden oluşturur. Uterusun ön duvarının yalnızca üst kısmı periton tarafından kaplıdır. Peritonun bu bölümü öndeki mesane kubbesine uzanır; vezikouterin boşluk oluşmuş olur. Uterus içten dışa doğru endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum olmak üzere 3 tabakadan oluşmaktadır (Schwalm ve Dubrausky, 1966).

Tunika seroza (perimetriyum): Uterusun en dış tabakası olan perimetriyumun yüzeyi mezotelden oluşur. Peritoneum ile devamlılık gösterir. Peritoneum ince bağ dokusu ile desteklenmektedir.

Tunika muskularis (miyometriyum): Düz kas lifleri tarafından oluşmuş olup bu tabakanın kalınlığı yaklaşık 12-15 mm'dir. Miyometriyum tabakası gebelik gerçekleştiğinde gelişir ve miyometriyal kas lifleri genişler. Uterusa gelen sinirler ve uterusun kanlanması sağlayacak kan damarlarının ana dalları bu tabakada yer alırlar. Uterin arter dallanarak uterusu girer ve stratum vaskülarde bir damar ağı meydana getirir. Miyometriyum içinde sirküler olarak seyir gösterir. Bu damarların bazıları kas tabakası içinde sonlanırken bazıları da endometriyuma dik şekilde girer ve stratum

bazaliste damar ağı meydana getirir. Bu arterioller spiral arterleri oluşturur. Spiral arterler endometriyumun içine uzanır ve endometriyumun stratum fonksiyonalis bölümünün beslenmesini sağlayan geniş bir kılcal damar yatağına açılırlar. Spiral arterlerin endometriyum tabakasında izlemiş olduğu kıvrımlı seyri kan basınca düşme ve nabızı azaltarak kan akımının devamlılık göstermesinde ve kan basıncının düşük seyretmesinde önemli rol oynar. Spiral arterlerdeki kıvrımlı yapı uterin artere göre daha düşük kan akım direnci görülmesinin nedenidir.

Tunika mukoza (endometriyum): Tunika muskularisi düz bir örtü şeklinde kaplayan en iç tabakadır. Özelleşmiş stroma ve kolumnar epitelden oluşmaktadır. Endometriyum yüzeysel tabaka ve derin bazal tabaka olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır. Yüzeysel tabaka her mestruel siklusta spiral arteriollerde meydana gelen kasılma ve spazmlar sonucu dökülür. Endometriyumun derin bazal tabakası ise beslenmesi spiral arteriollerden olmadığı için mestruel siklusta dökülmez ve bir sonraki siklus için yeni endometriyal tabaka oluşumundan sorumludur (Çiçek ve ark., 2006).

2.2. Overler

Uterusun sağında ve solunda bulunan; 4 x 3 x 2 cm büyüklüğünde ovaryan fossada yer alan iki adet adneksiyel yapıdır. Menapoza girdikten sonra over boyutları küçülür. Overlerin yüzey epiteli küboidal epitelidir. Korteks ve medulla epitel altında bulunur. Overin medullasında lenfatikler, sinir, damar ve düz kas bulunur. Farklı evrelerdeki foliküller overin korteksinde bulunmaktadır (Rock ve Jones, 2005).

2.3. Uterusun Damar Yapısı

Uterusun ana arteri internal iliak arterden dallanan hipogastrik arterin dalı olan uterin arterdir. Uterin arter ligamentum latum uterinin tabanında, iç yana doğru seyreder ve üreteri üstten dik açı ile çaprazlayarak ostium uteri hizasında serviks uteriye ulaşır (Rock ve Jones, 2005). Burada yan kenardan yükselen uterin arter, ovaryan arter ile anastomoz yapar. Arkuat arterler oluşan bu anastomoz kavsinden köken alır. Arkuat arterler uterusun iç tabakalarına doğru seyir gösterir. Arkuat arterin uterus derinliklerine doğru verdiği dallar arteria radialis adını alır. Radial arterler endometriyuma doğru dik açı ile seyir gösterir. Bazal-spiral arterioller olarak sonlanır. Endometriyumda yer alan bu 2 tip arteriol, bazal tabaka içinde düz yapıda, kısa;

fonksiyonel tabaka içinde kıvrımlı yapıdadır. Mens sonrası endometriyumun kalan bazal tabakasındaki arter kalıntılarından yeni arterioller oluşurlar. Östrojen ve progesterona yanıt veren spiral arterler kıvrımlı bir yapıya sahiptir. Spiral arterler endometriyumun tabanında seyir gösterirler. Bazal arterler hormonal değişimden etkilenmez. Endometriyal glandlar ve stromal doku endometriyumun tüm seviyelerinde spiral arterlerden kaynaklanan kapiller ile beslenir. Kapiller damarlar venöz pleksuslara, oradan miyometriyal arkuat venlere açılırlar. Arkuat venler ise vena uterinaya drene olur (Rock ve Jones, 2005).

2.4. Normal Menstrüel Siklus Fizyolojisi

Menstrüel siklus menarşın gerçekleşmesinden menopoza girene kadar düzenli periyotlar ile meydana gelen, endometriyumun fizyolojik olarak dökülmesidir. Her ay gerçekleşecek olan endometriyal dökülme ve endometriyal rejenerasyon süreci birbirini takip eden hiçbir kalıcı doku hasarı gelişmeden gerçekleşmektedir. Menstrüasyondan fonksiyonel endometriyum etkilenmez. Proliferatif endometriyum sürecini takip eden sekretuar endometriyuma kadar gerçekleşen süreçte endometriyal değişim hücre dökülmesi ve tekrar interaktif endokrinolojik ve reproduktif işlemler sonrasında endometriyum bir sonraki sıklusa hazırlanır (Berek JS. Üreme Fizyolojisi, 2004).

Menstrüel siklus kadınların büyük bir kısmında 21-35 günde bir gerçekleşen aralıklardır. Menstrüel siklus menarştan sonraki 5 ila 7. yılda doğurganlık çağındaki düzene ulaşır. Menstrüel siklusların süresinde 40'lı yaşlara gelince tekrar uzama gerçekleşir. Normal menstrüel kanama uzunluğu 3-5 gündür; 1-8 gün de olabilir. Bir menstrüasyon periyodunda 30-50 ml arası kan kaybı gerçekleşir. 80 ml üzeri kan kaybı anormal kabul edilir (Berek, 2004; Fritz, 2014).

Bu bilgiler ışığında menstrüel siklusu, uterin siklus ve ovaryan siklus olarak iki başlık olarak açıklamak daha doğru olacaktır.

2.4.1. Uterin siklus

Endometriyumdaki damarsal yapılar gland ve stromada oluşan fonksiyonel ve anatomik değişikliklere göre uterin siklus 5 bölümde değerlendirilecektir (Aplin ve ark., 2008).

Menstrüel endometriyum, Proliferatif faz, Sekresyon fazı (salgılama fazı), İmplantasyona hazırlanma, Endometrial yıkım fazı

2.4.1.1. Menstrüel endometriyum

Menstrüel endometriyum, proliferatif faz ile endometriyal yıkım fazı arasındaki geçici bir dönemdir. Bu evrede endometriyumun fonksiyonel kısmının 2/3'si kaybedilebilir. Fonksiyonel endometriyum, menstrüel siklusun iki ila üçüncü günü geçene kadar büyük ölçüde dökülür. Menstrüasyonda spongioz tabakada meydana gelen fonksiyonel durum sonucunda; bezler yıkılır, damar ve endometriyal stromada parçalanma olur (Ludwig ve Spornitz, 1991).

2.4.1.2. Proliferatif faz

Proliferatif fazda endometriyal kalınlık ortalama 3,5-5 mm'ye ulaşır. Gerçekleşen bu proliferasyon gelişen fonksiyonel tabakadadır. Menstrüel koldapstan tekrar stromal zemin oluşmaktadır. Endometriyal kalınlaşmada gerçekleşen temel durum endometriyal stromanın şişmesidir (Aplin ve ark., 2008).

2.4.1.3. Sekresyon fazı

Ovulasyon sonrası 1 ila 2. günde başlayan ortalama 14 gün devam edecek olan; endometriyumun progesteron etkisinde fonksiyonel tabakasının geliştiğı evredir (Roos ve ark., 2003). Korpus luteum tarafından salgılanan progesteron aracılığı ile bez epitelerinden glikojenden zengin salgı yapılmaktadır (Öktem ve Urman, 2012). Endometriyal bezlerin epitelerinden, glikojen miktarı fazla mukoid bir salgı salgılanır. İmplantasyon gerçekleşecek olursa, embriyonunun gelişimini desteklemek için glikojenden zengin bu salgı gereklidir. Endometriyal bezlerin lümeni salgıyla dolar. Sekresyon fazında epitel hücrelerinde gerçekleşen mitoz oldukça az sayıdadır (Roos ve ark., 2003).

2.4.1.4. İmplantasyon fazı

İmplantasyon zamanı, uterin siklusun 21-22. günlerinde gerçekleşmektedir. Endometriyal stromada oluşan ödem en belirgin morfolojik özelliktir. Endometriyumu besleyen kan damarlarının duvarında seks steroidlerinin işlev yapması için reseptörler bulunur. Prostaglandin sentezinin yapılabilmesi için olması gereken enzimatik sistem

arteriollerin endoteli ile kas tabakasında yer almaktadır. Mitoz endotelial hücrelerde siklusun 22. gününde gözlenmektedir. Spiral arteriollerin kıvrımlaşması için gerekli olan vasküler proliferasyon; prostaglandinler, seks steroidleri, progesteron ve östrojene cevap olarak oluşan parakrin ya da otokrin faktörler ile gerçekleşmektedir (Aplin ve ark., 2008).

2.4.1.5. Endometriyal yıkım fazı

Siklusun 25. gününde predesidual dönüşüm ile fonksiyonel tabakanın üst bölümünde kompakt bir tabaka oluşur. Fertilizasyonun gerçekleşmediği ve implantasyonun oluşmadığı durumda gebelik gerçekleşirse; oluşabilen trofoblast dokuları oluşmayacağı için, insan koryonik gonadotropin (hCG) desteği oluşamaz ve korpus luteum ortadan kalkar. Bununla ilgili olarak östrojen ve progesteron düzeyleri azalır (Schwarz, 1983).

2.4.2. Ovaryan siklus

Folikülogenez; oositlerin ve granüloza hücrelerinin çoğaldığı gelişim aşamasıdır. Folikülogenez, fetal hayatta başlar; oosit büyümesi, teka tabakasının gelişmesi ve granüloza hücrelerinin bölünmesi ile devamlılığı sağlamaktadır (Junqueira's Temel Histoloji, 2015). Foliküllerin gelişimi ve aktivitesi hipotalamus-hipofiz aksından salınım yapan gonadotropinler aracılığı ile düzenlenmektedir.

Overlerden bir oositin salınımıyla sonlanan her 28 günde bir gerçekleşen olaylar bütünü ovaryan siklusu ifade eder. Ovaryan siklus; folikül gelişimin olduğu foliküler faz, gelişen oositin fallop tüplerine atılımının gerçekleştiği ovulasyon fazı, oosit atılımından sonra geride kalan folikül dokusundan oluşan korpus luteumun olduğu luteal faz ve atrezi süreci olarak toplam 4 ayrı faz ile ifade edilmektedir (The Everything Fertility Book, 2010).

2.4.2.1. Foliküler faz

Bu evrede amaç her siklusta bir grup folikülün gelişmek üzere seçilip, ovulasyonun gerçekleşmesiyle tek bir dominant folikülün salınmasıdır.

2.4.2.1.1. Primordiyal folikül

En başta seçilecek olan primordiyal folikül grubu ve seçilen foliküllerin gelişmesi gonadotropin etkisine bağlı olmadan olup bu süreç birkaç ay devam etmektedir. Fakat her döngüde seçilecek olan belli bir folikül grubunu uyaranın ne olduğu bilinmemektedir.

Primordiyal folikül evresinde folikül büyüme ve farklılaşması Folikül Stimulan Hormon (FSH) tarafından kontrol edilmektedir. Bir folikül grubunda farklılaşmanın devamı FSH kontrolünde olmaktadır. Gözlemlenen ilk değişiklik, oositin büyümeye başlaması ile tek sıra halindeki foliküler granüloza hücrelerinin yerini çok katlı küboid hücrelerin almasıdır. Foliküler büyümeyi uyaran FSH'nın artışı luteal fazda yok olan korpus luteumdan sentezlenen progesteron ve inhibin düzeyindeki azalmadır (Erickson, 1986).

2.4.2.1.2. Preantral folikül

Korpus luteumun harap olmasını takip eden birkaç gün içinde seçilmiş foliküller FSH uyarısı ile büyümeye devam etmektedir. Zona pelusida olarak adlandırılan glikoproteinden zengin madde, büyümeye devam eden oositin salgılanır. Zona pelusida, oositi çevreleyen granüloza hücrelerinden oositi ayırmaktadır.

İki hücre östrojen salınımı ve üretimi için sinerjistik olarak görev almaktadır. Açığa çıkan östrojen kan dolaşımına verilmektedir. Gelişimin bu aşamasında birbiri ile benzer görünüme sahip her bir folikül iki yol izleyebilir; ya dominant folikül olarak gelişime devam edecek ya da atreziye uğrayacaktır.

Foliküler faz ilerledikçe FSH düzeyinde azalma olur. FSH düzeyindeki azalma foliküler büyüme için olumsuz bir durumdur. En çok FSH reseptörü bulunan ve FSH bağlamada seçici avantajı olan foliküller, elverişsiz şartlara karşı koyabilmektedir. Dominant folikül, en çok FSH reseptörü bulunan ve zengin bir östrojenik mikro çevresi olan folikül olarak tanımlanabilir (Son ve ark., 2011).

2.4.2.1.3. Preovulatuvar folikül

Bu evrenin özelliği granüloza hücrelerinin sekresyonları tarafından oluşan plazma ile dolu antrumun görülmesidir. Granüloza hücrelerinin oluşturduğu ve kumulus ooforus

ismi verilen bir sap aracılığıyla oosit folikül ile bağlantısını sağlamaktadır. FSH sekresyonu üzerine yükselen östrojen düzeyi negatif feedback etki göstermektedir.

Dolaşımda bulunan östrojenler tarafından Luteotropik Hormon (LH) salınımı bifazik olarak kontrol edilmektedir. LH sekresyonu östrojen seviyesi yüksek düzeylerde iken artmakta; düşük düzeylerde ise LH salgısı azaltılmaktadır. Bu uyarı östrojen kan düzeyi; 48 saatten fazla bir zaman 200pg/ml üzerinde olduğunda gerçekleşmektedir. Artan östrojen seviyesi pozitif feedback ile LH sekresyonunda ani bir artışa neden olmaktadır. LH artışına sekonder dominant folikülde özgün bir yanıt oluşmaktadır. Granüloza hücrelerinde progesteron üretimi başlamakta, granüloza hücreleri luteinize olmakta ve ovulasyonun tetiği çekilmektedir (Messinis, 2006).

2.4.2.2. Ovulasyon

Ovulasyon; bir olgun tersiyer folikülünde, LH seviyesinin en tepe noktasına erişmesinden 10-12 saat geçtikten sonra ya da siklusun ortasında LH artışının başlangıcından 32-35 saat geçtikten sonra oluşmaktadır.

2.4.2.3. Luteal faz

Ovulasyon gerçekleşikten sonra geriye kalan folikül kalıntısı, luteal fazın esas düzenleyicisi olan korpus luteumu oluşturmaktadır. Folikülde kalan membranöz granüloza hücreleri lipit almaya başlamaktadır. Bunun sonucunda karakteristik sarı pigment görüntüsü ortaya çıkmaktadır. Folikülde geriye kalan membranöz granüloza hücreleri, luteal fazda endometriyumu destekleyen progesteronu üreten sekretuvar dokuyu oluşturmaktadır.

Aynı zamanda önemli ölçüde inhibin ve östrojen de sentezlemektedirler. Korpus luteumun bazal membranı, anjiyogenik faktörlerden birisi olan VEGF aracılığı ile çoğalan kan damarlarının, granüloza-luteal hücrelerin arasına girmesi için fayda sağlamaktadır. Bu anjiyogenik yanıt fazla miktarlarda LH'nın sistemik kan dolaşımına girmesiyle sonuçlanmaktadır.

2.4.2.3.1. Luteal fazda hormonal fonksiyon ve düzenlenme

Luteal fazda meydana gelen hormonal değişiklikler gebelik gerçekleşmediği zaman korpus luteum regresyonunun oluşmasını sağlayacak ardışık negatif feedback

basamaklarının oluşması ile karakterizedir. Korpus luteum steroidleri (progesteron ve inhibin) merkezi negatif feedback etki ile FSH ve LH sekresyonunda azalmaya neden olur. Her iki steroidin sekresyonunun devam etmesi sonraki folikül seçimi için uyarıyı azaltıcı etki yapmaktadır. Korpus luteumun işlevinin devam etmesi için LH etkisinin de devam etmesi gerklidir.

2.5. Endometriyal Reseptivite

İmplantasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için gerekli olan uterin mukoza kapasitesi olarak ifade edilebilir. Endometriyum hormonlar aracılığı ile embriyonun tutunabileceği hale gelir. Embriyonun implantasyonu için ardısıra gerçekleşecek 3 ana faz gerekir. Appozisyon, tutunma ve invazyon olarak isimlendirilir. Luteal faz esnasında endometriyum embriyo implantasyonu için kısa bir zamanda reseptivite gösterir. Endometriyal reseptivite, siklusun 20-24. günlerinde maksimum düzeydedir.

Endometriyumun en üst düzeyde reseptivite gösterdiği bu evre implantasyon penceresi olarak tanımlanmaktadır. Başarılı bir implantasyon olması için; kaliteli bir embriyo ve endometriyal reseptivite gereklidir. Henüz tamamlanmamış endometriyal reseptivite IVFde başarısızlık ile sonuçlanan önemli nedenlerden birisidir (Cavagna ve Mantese, 2003).

Östrojen ve progesteron steroid yapıda hormon olup, uterusun siklik değişimini sağlar ve endometriyumu reseptif hale getirir. Bu dönemde embriyodan ve endometriyumdan salgılanan büyüme faktörleri ve sitokinler de endometriyum ve blastokist arasındaki etkileşimde büyük rol oynar. Bu faktörler; hücre diferansiasyonunu, proliferasyonunu ve apoptoz olaylarını; parakrin etki, otokrin etki ve endokrin mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir (Cavagna ve Mantese, 2003; Kimber, 2000).

Endometriyal reseptiviteye etki eden biyolojik göstergeler; büyüme faktörleri ve sitokinler, hücre adhezyon molekülleri, pinopodlar, diğer endometriyal reseptivite belirteçleri diye gruplanabilir.

2.5.1. Pinopodlar

Endometriyumun yüzey epitelinde implantasyon penceresinde görülür. Pinopod oluşumu progesteron bağımlıdır. Endometriyumda oluşan fonksiyonel ve yapısal

değişimleri takiben oluşan pinopodlar blastokistin endometriyum ile ilk karşılaşma alanıdır. Adezyon ve appozisyon fazlarında görevli çeşitli moleküllerin ekspresyonu pinopodlar tarafından gerçekleştirilmektedir (Cavagna ve Mantese, 2003).

2.5.2. Büyüme faktörleri ve sitokinler

Hücre yüzey reseptörlerine bağlanma özelliği taşıyan endometriyal hücrelerin işlevini gerçekleştirmesini düzenleyen, hücre kökenli polipeptit ve protein yapısında olan faktörlerdir. Sitokinler, endometriyum ve embriyo tarafından sentezlenerek, embriyo ve endometriyumun birbirleri ile etkileşiminde, endometriyal reseptivitenin gerçekleşmesinde görev alırlar. Bu moleküller; vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) (Matsui ve ark., 2004), interlökin-1 (IL-1), lösemi inhibitör faktör (LIF), keratinosit büyüme faktörü (KGF), koloni stimüle edici faktör-1 (CSF-1), heparin bağlayan epitelyal büyüme faktörü (HB-EGF), insülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1 (IGF-BP-1) dir (Cavagna ve Mantese, 2003).

2.5.2.1. Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VEGF trombosit kökenli büyüme faktörleri süperaillesinin bir üyesidir (Ferrara ve ark., 2003). Endotel hücresinin proliferasyonuna, diferansiasyon ve migrasyonuna sebep olmaktadır (Bikfalvi, 2004). Anjiyogenez ve vaskülogenez için kritik bir önemi vardır. Menstrüel siklus süresince endometriyal VEGF düzeyinin fazlar süresince değişim gösterdiği bilinmektedir (Sugino ve ark., 2002).

Desidua gelişiminde, implantasyonun gerçekleşmesinde ve gebelik oluşumunda önemli rolleri vardır. Endometriyal stromal hücrelerin desidualizasyon ile VEGF yapımı arasında pozitif korelasyon vardır. (Matsui ve ark., 2004). İmplantasyon penceresi döneminde embriyo ve endometriyum; blastokistin uterin mukozaya tutunması için gerekli olan adezyon moleküllerini içerir. Adezyon molekülleri sinsityotrofoblastların endometriyuma invazyonunda, implantasyonun gerçekleşmesinde ve invazyonun sınırlandırılmasında önemli bir göreve sahiptir. Musinler ve integrinler de adezyon molekülleri arasında bulunur (Cavagna ve Mantese, 2003). Reseptivite üzerine etkili diğer faktörler; Prostaglandin, kalsitonin ve homeobox genler (HOXA-10, HOXA-11) diğer faktörlerdir (Cavagna ve Mantese, 2003).

2.6. Ratlarda Östrüs Siklusu

Ratlar; beslenme ve bakımlarının kolay olması ve araştırma sonuçlarında elde edilen bulguların diğer canlılar için de temel oluşturmaktan dolayı tercih edilmektedirler. Dişi ratların erişkin kitlesi 250-350 gr arasında değişmektedir. Su alımı 10 ml/100 g, besin alımı ise 5- 10g/100 g,'dır. Yaklaşık olarak 3-4 sene yaşarlar. Erişkinliğe geçiş dönemi 50 ila 60 gün arasında değişmektedir. Siklusları 65-110 gün arasında gerçekleşir (Andrews ve ark., 1981).

Dişi ratlar 4-5 günde bir düzenli olarak kızgınlık gösterip sene boyu poliöstrik hayvanlardır. Östrüs siklusu 4 evreden oluşmakta olup bunlar; proöstrüs, östrüs, meteöstrüs ve diöstrüstür. Dişi ratlarda proöstrüs 12 saat olup, östrüs 9-15 saat, metaöstrüs ise 21 saat sürmektedir. Dişi ratların diöstrüs evresi 57 saat sürmektedir (Lohmiller ve Swing, 2006). Ovulasyon öğleden sonrasında (proöstrüs) başlar ve öğleden önce (östrüs) biter. Ovulasyon gerçekleştikten sonra yerinde korpus luteum şekillenir. Korpus luteumun en çok büyüdüğü dönem erken diöstrüs evresidir. Östrüs siklusunun ikinci gününde progesteron en yüksek düzeyine ulaşır (Dluzen ve Ramirez,1986).

2.7. İnfertilite

İnfertilite; korunmasız ilişkiye rağmen bir çiftin kadın yaşı 35 den küçük olduğunda 12 ay süreyle, eğer kadın yaşı 35-40 yaş arasındaysa 6 ay süre ile gebelik oluşmaması şeklinde tanımlanmaktadır (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2013). Eğer kadın yaşı 40'ın üzerindeyse 6 aylık süre beklenmeden infertilite açısından değerlendirilme yapılmalıdır. Primer ve sekonder infertilite olarak 2 alt başlıkta tanımlanabilir. Primer infertilite gebeliğin hiç oluşmadığı grubu tanımlamak için kullanılmaktadır. Sekonder infertilite ise daha önce canlı doğum ile sonuçlanmamış olsa bile gebelik gerçekleşen grubu tanımlamak için kullanılmaktadır (Thoma ve ark., 2013).

İnfertilite, yaklaşık %15 oran ile gebelik isteyen çiftleri olumsuz etkileyen küresel sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (Ombelet ve ark., 2008). Sağlıklı genç bir çiftte korunmasız cinsel ilişki ile 1 ay sonrasında gebelik oluşma şansı %25, 6 ay korunmasız cinsel ilişki sonrasında gebelik oluşma şansı %70, birinci yılın sonunda

ise gebelik oluşma şansı yaklaşık %85'dir (RCOG, 2013). Fekundabilite, normal çiftlerde %20-25 oranında bir menstrüel siklus süresince gebelik gerçekteşme ihtimalini belirtir. Bir siklusun canlı doğumla sonlanma ihtimali ise fekundite olarak tanımlanmaktadır (Epidemiology of human reproduction, 1986). Kadın yaşı arttıkça fekundabilitede fizyolojik olarak azalma meydana gelmektedir (Maroulis, 1991).

Fertilite, kontrasepsiyona gereksinim duymayan toplumlarda 20 yaşında en üst seviyesine ulaşırken, 35 yaş ile birlikte azalmaya başlamaktadır. Fertilitedeki azalma 37 yaşından sonra daha belirgin bir hale gelmektedir. Bu sebeple 40 yaş sonrasında gebelik gerçekteşme oranı oldukça azalır (van Noord-Zaadstra ve ark., 1991). Günümüzde ise çocuk sahibi olma işteğinin ileri yaşlara ertelenmesi sonucunda, yaşa bağlı infertilite sorunlarında artma meydana gelmiştir. İnfertilitenin ne zaman değerlendirilmesi gerektiği tablo 2.1'de özetlenmiştir (ACOG, 2014).

Tablo 2.1. İnfertilitenin değerlendirme zamanı

1. En az 12 ay süre ile korunmasız ilişki sonrası değerlendirme:

35 yaş altında herhangi bir risk faktörü bulunmayan kadınlar

2. En az 6 ay süre ile korunmasız ilişki sonrası değerlendirme:

35-40 yaş arasında herhangi bir risk faktörü olmayan kadınlar

3. Başvuru anında değerlendirme gereken durumlar:

40 yaşın üzerindeki kadınlar

Oligomenore veya amenoresi olan kadınlar

Kemoterapi/radyasyon öyküsü veya ileri evre endometriyozisi olan kadınlar

Uterin faktör ya da tubal faktör saptanan kadınlar

Erkekde bilinen ya da şüphe edilen infertiliteye neden olan patolojiler

2.7.1. İnfertil çiftin değerlendirilmesi

2.7.1.1. Anamnez

İnfertilitenin süresi, dispareni, dismenore olup olmadığı koitus sıklığı, menstrüal siklus düzeni, galaktore ya da hirsutismus varlığı, sigara ve alkol kullanım sıklığı, ilaç kullanım öyküsü sorgulanmalıdır.

Hastalık geçmişi, önceki cerrahi operasyon öyküsü, varsa anormal smear sonucu veya öyküsü, tiroit bezi hastalıkları, mesleği, infertilite nedeniyle önceki uygulanmış olan tedaviler hasta öyküsü alınırken dikkat edilmesi gereken durumlardır. Ovulasyon zamanında veya ovulasyon zamanından bir hafta öncesine kadar olan süreçte nonsteroid anti inflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanım durumu o siklus için gebelik olasılığını düşürdüğü görülmüştür (Li ve ark., 2003). Kadında artmış infertilite oranlarına, azalmış fekunditeye, erkekte bozulmuş spermiyogram parametrelerine, düşük semen hacimi oranlarına neden olmaktadır (Fertility and Sterility, 2012).

2.7.1.2.Fizik muayene

İnfertil bir kadın hastada fizik muayene, önce genel değerlendirme (boy, kilo, vücut kitle indeksi, nabız, tansiyon), baş-boyun muayenesi (tiroid patolojileri, lenfadenopatiler), meme muayenesi (gelişim, kitle ve deri değişiklikleri), batin muayenesi (batında kitle, batında hassasiyet, skar izi varlığı), pelvis muayenesinde (dış genitalya, vajen, serviks, uterus, rektovajinal değerlendirme), cilt bulgularının (hirsutismus, akantozis nigrikans) değerlendirmeye yönelik olmalıdır (McLaren, 2012).

Erkek hasta değerlendirmesi yapılırken jinekomastinin olup olmadığına, mikropenis, varikosel, testis boyutları ve testis volumü açısından değerlendirilmelidir. Erkek infertilitesinin önemli bir nedeni olan konjenital bilateral vaz deferans yokluğu kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR) gen bozukluğu ile ilişkilidir (Fertility ve Sterility, 2012). Obez erkeklerde azalmış total sperm sayısı azalmış semen hacmi, ve azalmış hareketli sperm sayısı, obez olan kadınlarda ise ovulatuvar disfonksiyon, insülin rezistansı-hiperinsülinemi görülür (Broughton ve Moley, 2017; Craig ve ark., 2017).

2.7.2.İnfertil kadınlarda laboratuvar incelemeleri

Temel Laboratuvar Testleri: Anemi açısından değerlendirmek için tam kan sayımı yapılmalıdır. Kan grubu belirlenmeli, Rh tespiti yapılmalıdır. Prekonsepsiyonel dönemde gebeliğe hazırlık için servikovajinal smear alınmalı, hepatit B ve C, kızamık gereklilik halinde klamidya serolojisi bakılabilir (Fritz, 2014).

2.7.2.1.Over rezervinin değerlendirilmesinde kullanılan testler

Statik testler: Yaş, bazal antral follikül sayısı, bazal serum Anti Müllerian Hormon (AMH) düzeyi, bazal serum FSH düzeyi, bazal serum östradiol (E2) düzeyi, bazal FSH/LH oranı, over volumü, over stromal kan akımı oluşturur.

Dinamik testler: Ekzojen FSH over rezerv testi (EFORT), Klomifen sitrat challenge test (CCCT), GnRH (Gonadotropin salgılatıcı hormon) agonist stimulation test (GAST)

FSH: Menstrüel siklusun 3. gününde bakılan FSH düzeyi, ovaryan rezervin indirekt göstergesidir. FSH zayıf düzeyde gebe kalmayı öngörmekte ve azalmış over rezervini tespit etmede orta düzeyde bir etkiye sahiptir (Bancsi ve ark., 2003). Azalmış over rezervini tespit etmede $FSH \geq 10$ IU/L olması %83-100 spesifiktir. FSH seviyesinin 10-15 IU/L olduğu değerler eşik değer olarak görülür. FSH seviyesi 10 IU/L'nin altında ise kadının yeterli bir over rezervi olduğu düşünülür (McLaren, 2012).

Östradiol: Sikluslar arası farklılık göstermekle birlikte adet kanamasının 2 ila 4. günlerinde ölçüm yapıldığında düşük seviyelerde görülmektedir (<50 ng/L) (Bancsi ve ark., 2003). Östradiolün, menstrüel siklusun 3. gününde yapılan ölçümünde >80 ng/L olması düşük gebelik oranları ve İVF siklus iptali ile ilişkili bulunmuştur (Smotrich ve ark., 1995). Erken foliküler fazda 60-80 ng/L'nin üstünde saptanan E2 değerleri hızlanmış oosit gelişimi ve reproduktif yaşlanmayı göstermektedir (McLaren, 2012).

AMH: TGF-beta ailesinin üyesi olan primer, preantral ve antral foliküllerde bulunan granüloza hücreleri tarafından salınan bir glikoproteindir. Over rezervini saptamada en iyi biyokimyasal parametrelerden olmakla birlikte primordiyal folikül havuzunu yansıtmada da önemli bir belirteçtir (Iliodromiti ve Nelson, 2015).

Gonadotropinlerden bağımsız dönemde bulunan foliküllerden sentezlendiği için siklus içinde dalgalanma göstermez (Gracia ve ark., 2018).

Reproduktif yaşlanma gerçekleştikçe oosit sayısında azalma meydana gelir. Oosit sayısı azaldıkça AMH düzeyi azalır. Menopoza girişle birlikte ölçülemeyecek seviyelere iner. Saptanan AMH düzeyi oosit kalitesi hakkında bilgi vermemektedir (Steiner ve ark., 2017). AMH' in 0.7-1.3 ng/ml (5.0-9.3 pmol/L) saptanan değeri normal değerlendirilmesi gereken aralık olarak kullanılmaktadır (Kupka ve ark., 2014). AMH düzeyi 1ng/dl altında saptandığı durumlarda zayıf over yanıtı, kötü embriyo transferi ve kötü gebelik sonuçları ile ilişkili bulunmuş olup; AMH düzeyi 3,5 ng/dL üzerinde saptandığı durumlarda ise hiperstimülasyon riskinde artma ile ilişkili bulunmuştur (Ecochard ve ark., 2001). AMH düzeyi 1,1 ng/mL altında saptandığında düşük over rezervi olarak kabul görmektedir (Lie Fong ve ark., 2012).

2.7.3.İnfertilite nedenleri

Günümüzde infertilite sebebiyle her altı kişiden biri gebelik oluşamadığı için doktora başvurmaktadır. İnfertilitenin etyolojik faktörleri sınıflandırıldığında % 35 oran ile tubal ve peritoneal patolojiler, %35 oran ile erkek faktörü olarak saptanmış bu nedenlerden sonra % 15 oran ile anovulasyon sebep olark gösterilmiştir. İnfertilite etyolojisini açıklamaya yönelik nedenler arasında % 10 açıklanamayan infertilite ve % 5 sık olmayan sebepler olarak sınıflandırılma yapılmıştır. Tablo 2.2' de açıklanmıştır (Hugh S Taylor ve ark., 2019).

Tablo 2.2. İnfertilitenin etyolojik faktörleri

Tubal ve Peritoneal Patoloji	%35
Erkek Faktörü	%35
Anovulasyon	%15
Açıklanamayan İnfertilite	%10
Sık olmayan sebepler	%5

2.7.3.1.Ovulatuvar disfonksiyon

İnfertilitenin sık sebeplerinden biri ovulatuvar disfonksiyondur. Ovulatuvar fonksiyon bozukluklarına tanı koymak için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Midluteal dönemde serum progesteron düzeyinin ölçülmesi ovulasyonun belirlenmesinde en kolay yöntemdir. Menstrüel siklusun 21. gününde ölçülen progesteron seviyesinin 3 ng/ml'nin üzerinde saptanması ovulasyonun olduğunun göstergesidir (Wathen ve ark., 1984). Eğer siklusun 21. gününde ölçülen progesteron seviyesi 3 ng/ml'nin altında saptanırsa ovulasyonun olmadığına göstergesidir.

2.7.3.2.Düşük over rezervi (DOR)

Overlerdeki gonadotropinler aracılığı ile uyarılabilen folikül havuzu ve istirahat halinde bulunan primordiyal folikül sayısı over rezervi olarak tanımlanabilir. IVF sonuçlarında alınacak başarı infertil kadınların over rezervinin saptanıp buna uygun tedavi protokollerinin kullanımından etkilenmektedir. IVF tedavi protokolleri uygulanan kadınlarda toplanan oosit sayısı tedavi başarısını etkileyen önemli bir faktördür. İleri yaş over rezervinin azalmasının önemli nedenlerinden biridir.

Geçirilmiş ovaryan cerrahi öyküsü, endometriyozis, prematür over yetmezliği (POF), radyoterapi/kemoterapi öyküsü, geçirilmiş pelvik enfeksiyon, sigara-alkol tüketim alışkanlıkları da over rezervinin azalmasının nedenleri arasında gösterilmektedir. IVF tedavi protokollerinde; zayıf ovaryan cevabın altında kötü over rezervinin sebep olduğu düşünülmektedir. Kötü over yanıtı olan infertil hastalarda gebelik oranları düşmektedir. Kötü ovaryan yanıtı tanımlayabilmek için Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği (ESHRE) ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) konsensusu ile Bologna kriterleri belirlenmiştir. Bologna kriterleri (Ferraretti ve ark., 2011):

1. İleri anne yaşı (≥ 40 yaş) veya DOR için diğer risk faktörlerinin saptanması,
2. Önceki DOR öyküsünün olması (konvansiyonel bir stimülasyon protokolü ile 3 ya da 3 ten az oosit toplanmış olması)
3. Anormal over rezervi testi olması (AMH<0.5-1.1 Antral folikül sayısı (AFC) 5-7'den az olması,)

Yukarıda belirtilen üç kriterden ikisini sağladığında kötü ovaryan yanıt tanısı koyulmaktadır. Over rezervini belirlemede serum AMH düzeyi ve AFC (2-10 mm) kullanılmaktadır. AFC; ortalama çapları 2-10 mm arasında değişen foliküllerin menstrüel siklusun herhangi bir evresinde transvajinal ultrasonografi ile saptanan toplam sayısını ifade eder (Ruess ve ark., 1996).

2.7.3.2.1.Over rezervi ve AMH ilişkisi

Preantral ve boyutları 2-6 mm arasında olan antral foliküllerde bulunan granüloza hücreleri tarafından AMH üretilmektedir (Weenen ve ark., 2004). Preantral ve küçük antral foliküllerde AMH ekspresyonu en fazla düzeyine ulaşmaktadır (Weenen ve ark., 2004). AMH ekspresyonu büyük çaplı foliküllerde kaybolur ve FSH bağımlı evreleri sırasında AMH ekspresyonu gerçekleşmez (Tsepelidis ve ark., 2007). AMH seviyesinin bu sebeple siklik olarak değişim göstermediğini vurgulayan çalışmalar vardır (La Marca ve ark. 2013).

Hipofizer FSH'a benzer bir patern gösterdiği düşünülen serum AMH seviyesinin erken luteal fazda, erken foliküler faza göre daha düşük olduğu yapılan son çalışmalarda saptanmıştır (Hadlow ve ark., 2013). Over rezerv değerlendirilmesinde AMH; menstrüel siklus içinde seviyesindeki değişiminin az olması nedeni ile over rezervini değerlendirmede iyi bir öngörü sağladığı düşünülmektedir (La Marca ve ark., 2007).

2.7.3.3.Açıklanamayan infertilite

Açıklanamayan infertilite bir ekartasyon tanısıdır. Sistematiik olarak değerlendirilen infertil bir çiftte herhangi bir neden saptanmaması sonucu tanı koyulmaktadır. İnfertil topluluklarda yaklaşık %15-20 olarak sıklığı saptanmıştır (Guzick ve ark., 1994). Tam olarak bir sebebe bağlanamasa da, defektif endometriyal reseptivite sebebiyle implantasyon anomalileri, semen analizi yapıldığında konsantrasyon ve motilite değerlerinin referans alınan alt sınıra yakın olması ve gamet anomalileri gibi farklı hipotezler ortaya atılmıştır (Leach ve ark., 1997).

35 yaş üstü kadınlarda açıklanamayan infertilite çok daha sık izlenmiştir. Yaş ilerledikçe oosit kalitesi ve doğurganlık azalmaktadır (Somigliana ve ark., 2016). Uzun yıllardır açıklanamayan infertilitede bozulmuş endometriyal reseptivitenin etyolojide

rol alan bir parametre olduğu düşünölmektedir. Ancak endometriyal reseptiviteyi objektif olarak değerdendirebilecek biyomarkerlar ya da radyolojik değerdendirme uzun yıllardır ortaya konulmaya çalışılsa da objektif bir belirteç elde edilememiştir. Bozulmuş endometriyal reseptivitenin blastokistin endometriyuma tutunma aşamasını, invazyon ve implantasyon aşamasını önlediğı düşünölmektedir. Bazı tekrarlayan gebelik kaybı ve açıklanamayan infertilite olgularından bozulmuş endometriyal reseptivitenin sorumlu olabileceğı düşünölmektedir (Lessey, 2011).

2.7.3.4.Uterin faktör

İmplantasyon başarısızlığı uterus ile ilgili infertilitenin temelini oluşturur. Uterin infertilite nedenleri arasında intrauterin adezyonlar, uterin anomaliler, uterin fibroidler, endometriyal polipler yer almaktadır. Bu mekanik sebepler veya endometriyal reseptivitedeki bozukluklarla ilişkili olabilir.

Uterin fibroidler düz kas monoklonal tümörleridir. Yaygın görülür ve iyi huylu olan tümörlerdir. Çelişkili veriler bulunmasına rağmen, uterin kavitede submukozal veya intrakaviter bileşeni olan uterin fibroidlerin gebelik oluşumunu ve implantasyon oranlarını düşürdüğü düşünölmektedir. Uterin fibroidlerin çıkarılmasını takip eden süreçte gebelik oranlarında meydana gelen artış bu görüşü desteklemektedir (Metwally ve ark., 2020).

Gelişimsel uterin anomaliler obstetrik komplikasyonlar ve oluşan gebeliklerin kaybı ile ilişkili iken gebe kalabilme potansiyelini etkilemediğı düşünölmektedir. Mülleryan anomaliler içinde en fazla uterin septum görölmektedir. Tekrarlayan gebelik kayıpları ve reproduktif bozukluklar ile en çok ilişkili olan anomali uterin septumdur (Homer ve ark., 2000).

Uterin infertilite nedenleri arasında intrauterin adezyonlar da bulunmaktadır. İntauterin oluşan adezyonlar intrauterin girişim yapılmış kadınlarda sekonder amenore veya hipomenore ile klinik bulgu vermektedir (Salazar ve ark., 2017).

Semptom vermeyen endometriyal polipleri bulunan subfertil kadınlarda yapılacak polipektomi işlemi fertilitayı artırabilir. Yapılan bir çalışmada endometriyal polibi olan subfertil kadınlarda, intrauterin inseminasyondan önce histeroskopik polipektomi

yapılan ve histeroskopik polipektomi yapılmayan iki grup arasında gebelik oranları karşılaştırılmış ve yapılan polipektominin gebelik oranlarını önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (Pérez-Medina ve ark., 2005).

2.7.3.5.Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı

40 yaşından küçük bir kadında, IVF tedavi yöntemleri ile en az 3 siklus ve en az 4 kaliteli embriyo transferinden sonra gebeliğin gerçekleşmemesi olarak tanımlanmaktadır (Coughlan ve ark., 2014). İmplantasyon başarısızlığının etyolojik nedenlerine bakılacak olursa endometriyal reseptivite, embriyo kalitesi, uterusu ve tubaya ait faktörler, immünolojik faktörler, kültür ortamı ve peritoneal faktörler yer alır (Ola ve Li, 2006).

Başarılı bir implantasyon süreci için endometriyum ile embriyo arasında gerekli uygun ilişkinin kurulması gerekmektedir. Reseptif endometriyum tekrarlayan implantasyon başarısızlığında, maternal açıdan gerekli ön koşul gibi görülmektedir. Reseptif endometriyum implantasyon başarısızlığı olan kadınların yaklaşık üçte ikisinden sorumludur (Defrère ve ark., 2005).

Başarılı bir implantasyon gerçekleşebilmesi için sağlıklı bir blastokist ve reseptivitesi normal olan endometriyuma ihtiyaç vardır. Endometriyum her menstrual döngüde kısa süreliğine implantasyonun gerçekleşmesi için uygun bir hal alır. Bu süreç implantasyon penceresi olarak tanımlanmaktadır. Normal bir menstrüel döngünün içinde embriyonun endometriyal kaviteye ulaşması ovulasyondan yaklaşık 4 gün sonra gerçekleşir (Croxatto ve ark., 1978).

2.8.Trombositten Zengin Plazma (PRP)

Kandaki bazal seviyeden çok daha fazla miktarda trombosit bulunduran otolog plazmadır (Marx, 2001; Pietrzak ve Eppley, 2005). Plazmada bulunan trombositler diğer kan elemanlarından ayrıştırılıp, trombositler konsantre edilir. Kanda 150 000-400 000/mm³ trombosit bulunur. PRP’de bulunan trombosit sayısı 1 000 000/mm³’tür (Marx, 2001). PRP trombosit kaynaklı birçok büyüme faktörü içermektedir. PRP’de bulunan başlıca büyüme faktörleri EGF, IGF, VEGF, PDGF olup birbirleriyle

sinerjistik etki oluşturarak PRP'nin etkinliğini artırmaktadır (Haynesworth ve ark., 2002).

2.8.1.PRP ana faktörleri ve endometriyum ve over dokusu üzerindeki olası etkileri

Transforming Growth Faktör- β (TGF- β): Endometriyal desidualizasyonda, uterin immün cevapta görev alır. Menstrüasyonda ve endometriyal rejenerasyonda görev almaktadır. Primordiyal folikülden primer foliküle geçiş aşamasındaki regülasyonda görev almaktadır. Overlerde FSH reseptör sentezinde görev almaktadır (Knight ve Glistler 2006; Stoikos ve ark. 2008).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF): Endometriyal stroma, desidua ve epitel üzerine mitojenik etkiye sahiptir. Endometriyal stromal hücrelerde DNA sentezini artırır. Kemotaksis için uyarıcı bir rolü vardır. Primordiyal folikül aşamasından primer foliküle geçişte rol almaktadır (Matsumoto ve ark.2005; Nilsson ve ark.2006).

Epidermal growth faktör (EGF): Endometriyal hücrelerin çoğalmasında, endometriyumun yeniden epitelizasyonunun desteklenmesinde, blastositin enerji sağlaması için gerekli glikojenolizis aşamasında, oosit büyümesini teşvik ederek folikül boyutunda artış aşamasında görev almaktadır (Gargett ve ark. 2012; Silva JR ve ark. 2004).

Fibroblast growth faktör (FGF): Endometriyumda anjiyogenik süreçlerin başlatılmasında, endometriyumda VEGFR2'nin 'up regülasyon'unda, endotelyal proliferasyon ve organizasyonun desteklenmesinde, folikül gelişiminin desteklenmesinde, granüloza ve over stromal hücrelerinin çoğalmasında görev almaktadır (Demir ve ark.2010; Garor ve ark.2009).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF): Endometriyumda anjiyogenezin desteklenmesinde, oksidatif stresin neden olduğu hasarların baskılanmasında, foliküler aktivasyonun desteklenmesinde, overde granüloza hücrelerinin apoptozunun inhibisyonunda görev almaktadır (Kosoka ve ark., 2007).

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF): AKT/mTOR yoluyla endometriyum proliferasyonunun indüksiyonunda, endometriyal hücrelerin desidualizasyonunda,

IGF-I ve IGF-II aracılığı ile sekonder foliküllerin gelişmesinde, granüloza hücrelerinin çoğalmasının ve steroidogenezin uyarılmasında görev almaktadır (Carlson 2012; Silva J ve ark.2009).

Hepatosit growth faktör (HGF): Endometriyal epitel hücrelerinin çoğalmasının uyarılmasında, menstrüel siklusta endometriyal rejenerasyonda, granüloza hücrelerinin steroidogenez regülasyonu yoluyla folikülogenezi desteklemede, granüloza hücrelerinde apoptozun baskılanmasında, primordiyal folikül gelişiminin indüksiyonunda görev almaktadır (Canipari ve ark.2012; Gargett ve ark.2012; Üzümcü ve ark.2006).

2.8.2.PRP'nin klinik uygulamaları

Yara iyileşmesi: PRP uygulanan yara bölgesinde iyileşme aşamasında epitelyal farklılaşma, dermal bölgede matriksin organizasyonu daha düzenli olmaktadır. Uygulanan PRP etkisi ile fibroblast proliferasyonu, vasküler büyüme, kollajen sentezi artarak yara bölgesinde epitelizasyon daha hızlı gerçekleşmektedir (Carter ve ark., 2003). Deneysel olarak oluşturulan kutanöz yaralar incelendiğinde PRP uygulanmasının yaranın epitelizasyonunda artışa sebep olduğu görülmüştür (Kimura ve ark., 2005).

Sinir iyileşmesi: Sinir iyileşmesi üzerine PRP kullanımı ile ilgili az sayıda yapılmış çalışma vardır. PDGF'nin nörotrofik aktiviteyi artırdığı bulunduktan sonra sinir iyileşmesi üzerine PRP çalışmaları başlamıştır. Çalışma gruplarında fasiyal sinir hasarı yapılmış ve onarımı sonrasında PRP uygulaması yapılmıştır. PRP uygulaması sonrasında sinir iyileşmesinin daha iyi olduğu saptanmıştır (Farrag ve ark., 2007).

Tendon ve ligaman iyileşmesi: PDGF'nin tendon ve ligamanların tedavisi için yapılan deneysel çalışmalar vardır. Sıçanların aşıl tendonu rüptüre edildikten sonra PRP uygulanan gruplarda tendon iyileşmesi yönünde anlamlı sonuçlar saptanmıştır (Aspenberg ve Virchenko, 2004).

Kemik iyileşmesi ve periodontal cerrahi: Kemik hücrelerinin yenilenmesi üzerine PRP'nin olumlu etkileri saptanmıştır. Bu nedenle çene cerrahisinde ve maksillofasiyal cerrahide kullanılmaktadır. Kemiğe yerleştirilen implantlarda, maksillofasiyal

bölgenin tümör cerrahisinde ve mandibulanın rekonstriksiyon işlemini takiben, maksiller sinüsün cerrahilerinde, alveolar yarıkların cerrahi işlemlerinde başarıyla kullanılmaktadır (Klongnoi ve ark., 2006). Ayrıca antikoagülan kullanımına bağlı kanama-pıhtılaşma bozukluğu olan hastaların tedavisinde kanama kontrolü için kullanılmış, kanamayı durdurmada başarı sağlanmıştır (Della Valle ve ark., 2003).

Kozmetik uygulamalarda ve plastik cerrahisinde: Dokularda adezyon ve hemostaz üzerine etkisi sayesinde PRP kullanımı kemik greft uygulamalarında ve deri greftlerinde, blefaroplastilerde kullanılmaya başlanmıştır. Yağ greft uygulamalarına PRP eklendiğinde yağ emilimi gerçekleşmeden uzun vadede kontur yenilenmesinde fayda sağlamıştır (Welsh, 2000).

Spinal cerrahiler: Titanyum implantlar ile yapılan spinal füzyon ameliyatlarında bölgeye PRP uygulandığında kemik rejenerasyonun arttığı görülmüştür (Bose ve Balzarini, 2002).

Koroner by-pass cerrahisi: Kardiyopulmoner by-pass cerrahisi geçiren hastalara operasyon sonrasında hastaya otolog PRP hazırlanıp uygulandıktan sonra ameliyat sonrası zamanda kanama kontrolü daha erken dönemde sağlanmış olup, kan parametrelerinin düzelebileceği bildirilmiştir (DelRossi ve ark., 1990).

Kadın hastalıkları ve doğum: PRP uygulaması özellikle IVF tedavi sürecine ek olarak kullanılmaya başlanmıştır. IVF tedavisi gören hasta grubunda tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan infertil kadınların endometriyal gelişimin sağlanamadığı hastalarda kullanılmaktadır. PRP nin intrauterin uygulaması kronik endometrit ve Asherman sendromu olan hastalarda deneme çalışmaları olarak yer almaya başlamıştır. Over torsiyonu yapılan rat modellerinde yapılan çalışmalarda over hasarını önlediğine yönelik sonuçlar saptanmıştır. Ayrıca intraovaryan PRP uygulaması DOR hasta grubunda tedaviye yardımcı metod olarak daha yeni deneysel çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Hajipour ve ark., 2021).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nde, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek 7.1.) izin alınarak 12.2021/03.2022 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma esnasında 5199 numaralı “Hayvanları Koruma Kanunu” ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan deney hayvanlarının korunması, deney hayvanlarının üretim yerleri ile deney yapacak olan laboratuvarların kuruluş, çalışma, denetleme, usul ve esaslarına dair yönetmeliğine uyuldu.

Çalışmamızın cerrahi bölümü, ratların barındırılması, bakımı, beslenmesi, sakrifiye edilmesi işlemi belirli olan usul ve işleyiş esasları doğrultusunda Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmamızın histomorfolojik değerlendirilmesi, alınan örneklerin ışık mikroskopları altında değerlendirilmesi ve uygun histolojik yöntemler kullanılarak immünohistokimyasal incelemesi Sakarya Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1.Deney Hayvanları

Bu çalışmada, Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nden temin edilen yaklaşık 4/6 aylık 300-350 gram ağırlığında, dişi cinsiyete ve normal fonksiyonlara sahip 28 adet Sprague-Dawley albino rat türü kullanıldı. Deney hayvanları uluslararası hayvan deney bakım ve deney kılavuzlarına göre standart laboratuvar koşullarında (sıcaklık $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, nem %45-65, 12 saat gündüz/gece siklusu) açık kafeslere alındı.

Deney Hayvanları, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda standart koşullarda beslenerek takip edildi. Çalışmamızda ratlar dört gruba ayrıldı ve her grupta yedi rat olacak şekilde hayvan modeli oluşturuldu (Tablo 3.1).

Grup 1: Kontrol grubudur. Yalnızca batının diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı gruptur.

Grup 2: Ratların her iki overine ve uterin hornlarına enjektör ile girilip çıkılan gruptur.

Grup 3: Ratların her iki overine ve uterin hornlarına 0,2 ml serum fizyolojik verilen gruptur.

Grup 4: Ratların her iki overine ve uterin hornlarına 0,2 ml PRP uygulanan gruptur.

Tablo 3.1. Deneyde kullanılan ratların gruplandırılması

Grup Adı	Deney Hayvan Sayısı	Yapılan İşlem
1. Grup	7	Kontrol grubudur. Yalnızca batının diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı gruptur
2. Grup	7	Ratların her iki overine ve uterin hornlarına enjektör ile girilip çıkılan gruptur.
3. Grup	7	Ratların her iki overine ve uterin hornlarına 0,2 ml serum fizyolojik verilen gruptur.
4. Grup	7	Ratların her iki overine ve uterin hornlarına 0,2 ml PRP uygulanan gruptur.

Tüm ratlara anestezi uygulandıktan sonra 0,2 ml kan alınıp antikoagülan içermeyen sarı kapaklı biyokimya tüplerine kayıldı.

3.2.Ratlara Anestezi Uygulaması

Çalışma grubunda ve kontrol grubunda yer alan bütün ratlara aynı anestezi işlemi uygulandı. İlk olarak pre-anestezik madde olan ketamin ratlara intramuskuler yöntem ile 80 mg/kg (Ketalar®- Ketamin 10 ml flakon, Pfizer) ve arkasından anestezik madde olan Xylazin hydroclorid 10 mg/kg (Basilazin 25 ml %2 flakon, Bavet) uygulamasından sonra cerrahi işleme başlandı. Cerrahi işlem esnasında ratlar spontan solunuma bırakıldı.

3.3.PRP Hazırlanması

Anestezi sonrası PRP uygulanacak gruptaki ratlardan PRP hazırlığı için 0,8 ml kan alınıp 0,2 ml sodyum sitrat ile karıştırıldı. İlk olarak 5 dakika 1200 CFU(santrifüj dönme hızı) santrifüj uygulandı. İlk santrifüj sonrası altta kalan eritrositler lökosit tabakasına kadar tüpten arındırıldı. İkinci santrifüjde 10 dakika 1200 CFU santrifüj uygulanıp kalan eritrositler de uzaklaştırıldı. Böylece uygulanacak olan PRP hazırlanmış oldu.

3.4.Cerrahi İşlem

Ratlara anestezi maddelerin uygulanmasını takiben ortalama 8- 10 dakika beklenildi. Çalışmaya alınan bütün ratlara aynı işlem uygulandı. Ratlar sırt üstü yatar pozisyona alındı ve abdominal traştan sonra alt karın orta hat bölgesinde diseksiyon makası ile 2 cm'lik uzunlamasına bir kesi yapıldı. Daha sonra peritoneal insizyon yapılarak uterus boynuzları ve overleri izlendi.

Grup 1 deki ratların uterus hornları ve overler gözlendikten sonra kesi 4/0 ipek sütür ile kapatıldı. Grup 2 deki ratların uterus hornlarına ve overlerine enjektör ile girilip çıkıldı. Ardından batın 4/0 ipek sütür ile kapatıldı. Grup 3 deki ratların uterus hornlarına ve overlerine 0,2 ml serum fizyolojik enjekte edildi. Batın 4/0 ipek ile suture edildi. Grup 4 deki ratların uterus hornlarına ve overlerine 0,2 ml hazırlanan PRP enjekte edildi. Batın 4/0 ipek ile suture edildi. Ardından tüm rat grupları kafeslerine alındı. Gruplar 3 östrus siklus takip edildi.

3.4.1.Cerrahinin ikinci aşaması

Tüm ratlara anestezi 80 mg/kg (Ketalar®- Ketamin 10 ml flakon, Pfizer) ve anestezi madde olan Xylazin hydroclorid 10 mg/kg (Basilazin 25 ml %2 flakon, Bavet) intramuskuler olarak uygulandıktan sonra işleme başlandı. Tüm ratlardan AMH ve FSH ölçümü için kan alındı. Ardından tüm ratlar sırt üstü yatar pozisyona alındı ve abdominal traştan sonra eski insizyon yerlerinden açılarak uterus ve over dokuları histopatolojik inceleme için alınıp biyopsi örnekleri histolojiye gönderildi. Ratlara servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi uygulandı.

3.5.Histolojik İnceleme Yöntemi

Dokular %10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna (Formaldehit 100 cc; Çeşme suyu 900 cc; NaH₂PO₄. H₂O 4 g; Na₂HPO₄ 6.5 g) alınıp 48 saat süresince fikse edildi. Fikse olan dokular formalin solüsyonundan çıkarılarak dekalsifiye olması için nitrik asit çözeltisinde bekletildi. Günlük olarak dekalsifikasyon kontrol edildi. Dokular kesit alınabilecek yumuşaklığa geldiğinde alkol ile dehidratasyona uğratıldı, ksilol ile şeffaflaştırma yapıldı ve parafinde gömme işlemi yapılarak rutin doku takibinden geçirildi. Bu histolojik işlemler SLEE Mainz (Mainz, Almanya) marka doku takip cihazı kullanılarak yapıldı (Resim 3.1).



Resim 3.1. Doku takip cihazı

Doku takip işlemleri sonlanan doku örnekleri parafine gömüldü. Oluşturulan parafin bloklardan Thermo Scientific HM 355S marka mikrotom (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanılarak 4 µm kalınlığında elde edilen kesitler polilizinli lamlara alındı. Mikrotom ile alınan kesitler Hematoksilen&Eozin (H&E) (Bio-Optica, Milano, İtalya) boyaması için rodajlı lamlara alındı. Alınan örnekler boyama işlemi yapılana kadar kuruması için oda sıcaklığında bekletildi. Alınan doku örnekleri Kİ-67 ve VEGF immün reaktivitesinin saptanabilmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz metodu uygulandı. Lamlara alınan doku örneklerinin parafinden kurtarılması için öncelikle deparafinizasyon aşaması uygulandı.

3.5.1. Deparafinizasyon

Klasik yöntemler kullanılarak kesitler deparafinize edildi. Deparafinizasyonun oluşması için alınan kesitler 59 santigrad derecede etüvde bir gece bekletildi. Örnekler sonraki gün etüvden çıkarılıp soğumaları için oda ısısında beklendi. 3x5 dk Ksilol'den geçirildikten sonra sırayla aşağıdaki işlemler uygulandı.

3.5.2. Dehidratasyon

Dehidratasyon aşamaları Tablo 3.3.'de özetlenmiştir.

Tablo 3.3. Dehidratasyon aşamaları

%100 etanol ile	5 dk süre
%96 etanol ile	3 dk süre
%80 etanol ile	3 dk süre
%70 etanol ile	3 dk süre

Dehidratasyon işlemi bittikten sonra doku örnekleri antijen maskesinden arındırma işlemi yapıldı. Sitrata Tamponu Solüsyonu (Ph:6.0) na aktarılan doku örneklerini taşıyan lamalar mikrodalga fırında 95-100 santigrad derecede 20 dk kadar ısıtılıp işleme maruz bırakıldı. Daha sonra doku örnekleri mikrodalga fırından çıkarılıp 20 dk soğumaları için bekletildi. Soğuma işlemi bittikten sonra doku örneklerinin çevresi hidrofobik kalem ile işaretlenip boyama yapılması planlanan alanlar işaretlendi. Daha sonra doku örnekleri 3x5 dk Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra endojen peroksit aktivitesi için blokaj yapıldı.

3.5.3. Blokaj

Bu basamakta nonspesifik antijenik bölgeleri bloke edildi. Otomatik mikropipet kullanılarak % 3 lük Hydrogen Peroxide Blocking Reagent (ab64218)'dan doku örnekleri üzerine aktarılıp 10 dk beklenildi. Daha sonra oda ısısında 3x5 dk doku örnekleri PBS ile yıkandı.

3.5.4.İmmünohistokimya boyama yöntemleri

Yıkama işlemi tamamlanınca dokuların üzerinde kalan sıvı kurutma kâğıdı ile dikkatli bir şekilde alındı. Sıvısı alınan doku örneklerine Ultra V Block solüsyonu (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) kullanılıp zemin boyasını engellemek için 15 dk muamele edildi. Daha sonra primer antikolar KI-67 ve VEGF, 1/400 dilüsyonu kullanılarak, doku üzerine mikropipet ile aktarılıp oda ısısında ve nemli ortamda yaklaşık 60 dk inkübe edildi. Primer antikor uygulaması işlemi tamamlandıktan sonra lamalar 3x5 dk PBS ile yıkandı. Ardından Biotinlated Goat anti-Rat (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) sekonder antikor 13 dk uygulandı. Sekonder antikor uygulandıktan sonra lamalar 3x5 dakika PBS ile tekrar yıkama işleminden geçirildi. Sonraki aşamada Streptavidin Peroxidase (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) 15 dk uygulandı. Ardından 3x5 dakika PBS ile 10 dk süre yıkama yapıldı. Yıkama işleminden sonra 10 dk DAB/Kromojen LabVision marka AEC Substrat System) ile karanlık ortamda dokulara uygulandı (20ml AEC kromojen + 1,5 ml AEC substrat iyice karıştırıldı). Daha sonra doku örnekleri 3x5 dk distile su ile yıkandı. Doku örnekleri Mayers Hematoksilen-Eosin de 40 saniye bekletilip ardından akan musluk suyunda 3 dk yıkama işlemi yapıldı. Doku örnekleri; sırası ile %70 alkolde 30 saniye, % 80 alkolde 30 saniye, %96 lık alkolde 30 saniye, %100 lük alkolde 1 dakika ve son olarak 2x1 dakika ksilene aktarıldı. Ksilenden sonra preperatlar kurulanıp kapatıcı (ScyTek marka Aqueous Mounting Medium) ile kapatıldı.

3.5.5.İmmünohistokimya boyaması değerlendirilmesi

Boyanma derecesi skorlaması rastgele seçilen beş alanda yapıldı. Skorun en fazla olduğu alan belirlendi. Her 40x büyütme alanı incelendiğinde en az 100 hücre işaretlendi. Alınan kesitlerde, boyanma derecesi ve boyanan hücrelerin yüzdesi kıstas olarak alındı. Skorum semikantitatif bir yöntemle yapıldı. Boyanma derecesi; 0 (boyanma yok), +1 (zayıf boyanma), +2 (orta boyanma), +3 (güçlü boyanma) olarak değerlendirildi (Tablo 3.4.). Her kesit için immünohistokimyasal boyanma skorlaması, H-SCORE adı verilen ve (I x PC), (I: boyanmanın derecesi, PC: her derecede boyanan

hücrelerin yüzdesi) formülüyle hesaplanan bir skortama algoritması kullanılarak hesap edildi (İrkorucu ve ark., 2009).

Tablo 3.4. Boyanma derecesi

Boyanma Derecesi	
0	Boyanma yok
+1	Zayıf boyanma
+2	Orta boyanma
+3	Güçlü boyanma

H -SCORE: $I \times PC$ (I: boyanmanın derecesi, PC: her derecede boyanan hücrelerin yüzdesi)

Hematoksilen-Eosin ile boyama işlemi yapıldıktan sonra, lamalar entellan ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelenecek duruma hazır hale getirildi. Her deneysel gruptan sekiz bağlantılı bölüm dikkatlice seçildi ve her bir enine kesitin 6 ardışık alanı sayıldı ve ortalama değerler sayısal olarak belirlendi.

3.6.Biyokimyasal İnceleme

Ratlardan alınan venöz kan örneği antikoagülan içermeyen sarı kapaklı biyokimya tüpleri ile biyokimya laboratuvarına gönderildi. Gelen numunelerin pıhtılaşma süreci sona erdikten sonra 10 dk, 4000g'de santrifüj uygulanılıp serumlarına ayrıldı. Çalışma gününe kadar numuneler porsiyonlanıp -800C' de muhafaza edildi. Çalışma günü oda ısısına getirilen numuneler homojenize edilerek Rat FSH ve AMH düzeyleri, BT LAB (Bioassay Technology Laboratory, Zhejiang, China) marka ticari ELISA kiti kullanılarak enzim bağlı immünoabsorbent yöntemi ile çalışıldı.

- 1- Numuneler uygun hacimde monoklonal antikorları ile kaplı kuyucuklara pipetlendi.
- 2- İşaretli monoklonal antikorları kuyucuklardaki antikorlara bağlanmış numunedeki partiküllere bağlanmak üzere pipetlendi.

3-Kör kuyucuğu dışında kuyucukların tamamına streptavidin-HRP konjugatı pipetlendi ve reaksiyona girmesi için 370 santigrad derecede 60 dk inkübe edildi.

4-İnkübasyondan sonra numune ile bağlı olmayan antikorları ortamdan uzaklaştırmak için yıkama işlemi uygulandı.

5- Kromojen A ve B solusyonlarından sırası ile eklenip oluşan bileşiği renklendirmek için ve 370 santigrad derecede 10 dk inkübe edildi.

6-Reaksiyon tamamlandığında mavi renk oluştu ve reaksiyonun sona ermesi için her kuyucuğa stop solusyonundan eklendi. Oluşan mavi rengin sarıya dönmesi ile reaksiyonun sona erdiği anlaşıldı. Oluşan sarı rengin yoğunluğunu analiz etmek için uygun dalga boyuna ayarlanan mikroelisa okuyucuda kolorimetrik olarak ölçüm yapıldı.

7-Standart değerleri ve buna karşılık gelen optik yoğunluk değerleri birbiriyle eşleştirildikten sonra standartların doğrusal regresyon eşitlik grafiği elde edildi. Standart grafiğindeki konsantrasyonlar ile numunelerin optik yoğunluk değerleri eşleştirildikten sonra numune konsantrasyonları otomatik olarak hesaplandı. Sonuçlar rat FSH için mU/mL, rat AMH için ng/ml olarak verildi.

ELISA Kit insertinde Rat-FSH için okuma aralığı 0,2-60 mU/mL, sensitivitesi ise 0,12 mU/mL, Rat-AMH için okuma aralığı 0,1-40 ng/mL, sensitivitesi ise 0,051 ng/mL, olarak verildi.

Üretici firma tarafından yapılmış presizyon çalışmasında kitlerin çalışma içi %CV'si <%8, çalışmalar arası %CV'si <%10 olarak verilmiştir.

3.7.İstatiksel Analiz

Verileri analiz etmede SPSS 20,0 paket programı kullanıldı. Toplanan verilerin aritmetik ortalaması ve standart sapma değerleri hesaplandı. Çalışmada verilerin analizinde öncelikle elde edilen verilerin normal dağılım gösterip göstermediğine bakılmıştır ve Shapiro-Wilk testinden yararlanılmıştır. İstatistiksel analizde gruplara öncelikle Kruskal Wallis testi yapıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak tanımlandı. Daha sonra grupları kendi arasında ikili olarak karşılaştırmak için Mann-

Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar sürekli değişkenlerde ortalama (ort), standart sapma (SS) olarak verildi, $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.



4.BULGULAR

Çalışmamızda ratlar dört gruba ayrıldı ve her grupta yedi rat olacak şekilde hayvan modeli oluşturuldu.

Grup 1: Kontrol grubudur. Yalnızca batının diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı gruptur.

Grup 2: Ratların her iki overine ve uterin hornlarına enjektör ile girilip çıkılan gruptur.

Grup 3: Ratların her iki overine ve uterin hornlarına 0,2 ml serum fizyolojik verilen gruptur.

Grup 4: Ratların her iki overine ve uterin hornlarına 0,2 ml PRP uygulanan gruptur.

Uterus dokusunda fibrozis, vasküler çoğalma ve inflamasyon (nötrofil infiltrasyon) dâhil olmak üzere histolojik bulgular değerlendirildi. Yarı nicel olarak, 0 ile 3 arasında bir puanlama ölçeği kullanılmıştır (Irkorucu ve ark., 2009). Fibrozis miktarı aşağıdaki gibi puanlanmıştır:

0 = fibrozis yok

1 = minimal fibrozis

2 = orta derece fibrozis

3 = yoğun fibrozis

İnflamasyon şu şekilde puanlandı:

0 = inflamasyon yok

1 = nadir lenfositler ve plazma hücreleri

2 = plazma hücrelerinin, eozinofillerin ve nötrofillerin varlığı

3 = birçok inflamatuvar hücrenin varlığı

Vasküler çoğalma şu şekilde puanlandı:

0 = vasküler çoğalma yok

1 = hafif vasküler çoğalma

2 = orta derecede vasküler çoğalma

3 = yoğun vasküler çoğalma

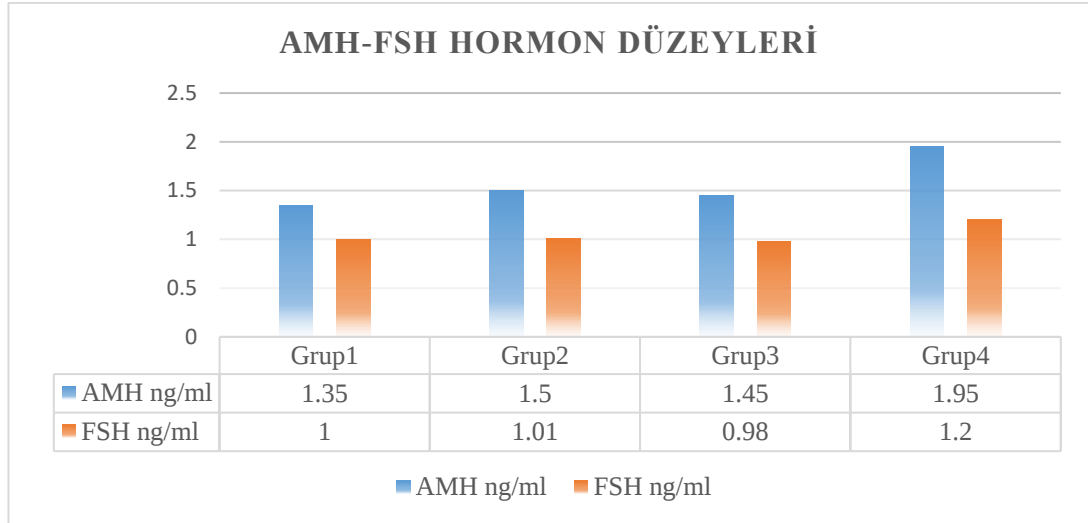
Over ve uterus dokusunda Ki-67 ve VEGF immünoaktivite değerlendirmesi için 200× büyütmede hafif bir mikroskop kullanıldı. Ki-67 için pozitif hücreler rastgele beş farklı alanda sayıldı (Sills ve Wood, 2019).

Bu çalışmanın kan hormonu sonuçları tablo 4.1 ve şekil 4.1'de özetlenmiştir. Kandaki AMH düzeyi ortalamaları; Grup 1de 1,35 ng/ml ve grup 2 de 1,5 ng/ml, grup 3 de 1,45 ng/ml ve grup 4 de 1,95 ng/ml olarak tespit edildi. Grup 4 de PRP uygulaması sonucunda AMH değerleri diğer 3 grup ile karşılaştırıldığında; AMH seviyesindeki artış anlamlıydı ($p<0,05$). PRP uygulamasının ratların kanındaki FSH seviyesi üzerinde grup 4 de artışa neden oldu. FSH seviyesi üzerinde grup 4 de saptanan bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Grup1, Grup2 ve Grup3'ü birbirleri arasında ikili ikili karşılaştırma yapıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Fakat bu grupları sırası ile grup 4 ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı değerler gösterdi ($p<0,05$).

Tablo 4.1. Dört grup için ratların AMH ve FSH değerleri

	Grup1	Grup2	Grup3	Grup4	p value
AMH ng/ml	1,35±0,11	1,5±0,33	1,45±0,28	1,95±0,56	p=0,005
FSH mU/ml	1±0,11	1,01±0,52	0,98±0,48	1,20±0,01	p> 0,05

$p<0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.



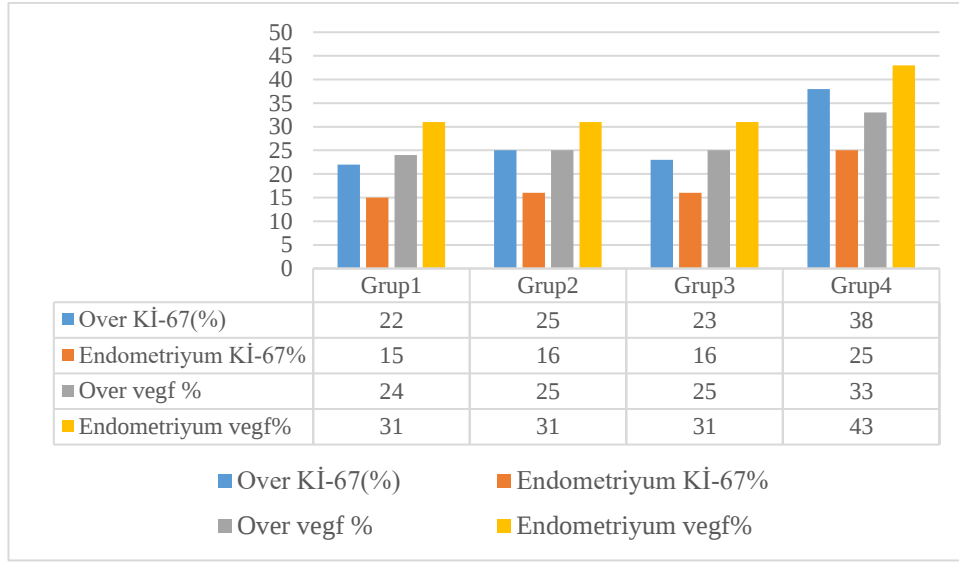
Şekil 4.1. PRP uygulaması sonrası ratların AMH ve FSH değerleri

Bizim çalışmamızdaki, over ve endometriyum dokuları için immünohistokimyasal sonuçlar tablo 4.2 ve şekil 4.2' de özetlenmiştir. Endometriyum ve overler Ki-67 ve VEGF varlığı açısından incelendiğinde grup 4 de istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,05$). Grup1, grup2 ve grup3'ü birbirleri arasında ikili olarak karşılaştırma yapıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$). Fakat bu grupları sırası ile grup 4 ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı değerler gösterdi ($p < 0,05$).

Tablo 4.2. Gruplar arası over ve uterus dokularındaki immünohistokimyasal boyama sonuçları

	Grup1	Grup2	Grup3	Grup4	p value
Over Ki-67 (%)	22±1,1	25±1,01	23±2,1	38±3,1	$p < 0,001$
Endometriyum Ki-67 (%)	15,8±0,23	16,1±0,32	16,3±0,51	25,1±0,21	$p < 0,002$
Over Vegf (%)	24,7±2,4	25,1±2,9	25,3±2,2	33,01±3,01	$p = 0,005$
Endometriyum Vegf (%)	31,3±1,6	32,1±2,1	31,5±1,8	42,3±2,9	$p < 0,001$

$p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.



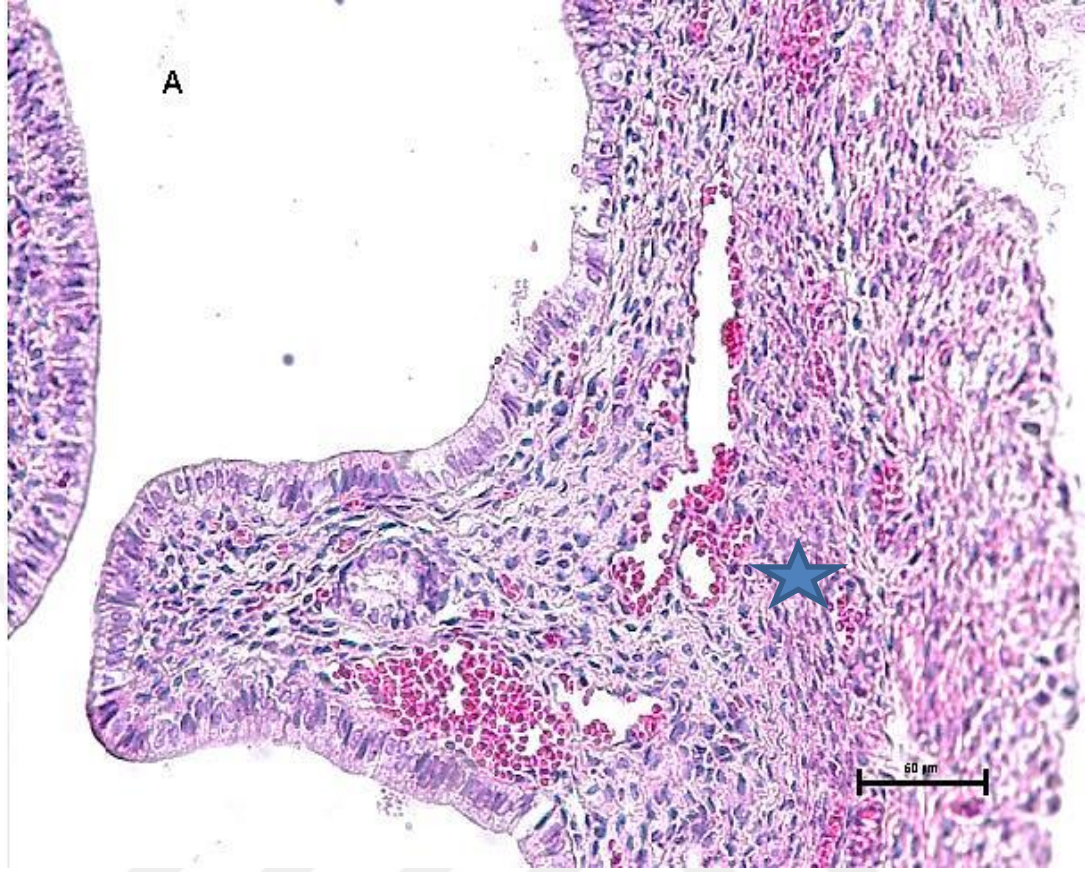
Şekil 4.2. Gruplar arası over ve uterus dokularındaki immünohistokimyasal boyama sonuçları

Uterus dokularının histopatolojik skor sonuçları 4 grup arasında karşılaştırılmış ve tablo 4.3'te özetlenmiştir. PRP uygulamasından sonra uterus dokusunda fibrozis ve inflamasyon miktarları azalırken, damarsal gelişimi artırdığı görülmüştür. Diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, PRP uygulanan grupta histolojik bulguların olumlu yönde geliştiğini ve istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu gözlemledik ($p < 0,05$).

Tablo 4.3. Dört grup için uterus dokularının histopatolojik skor sonuçları

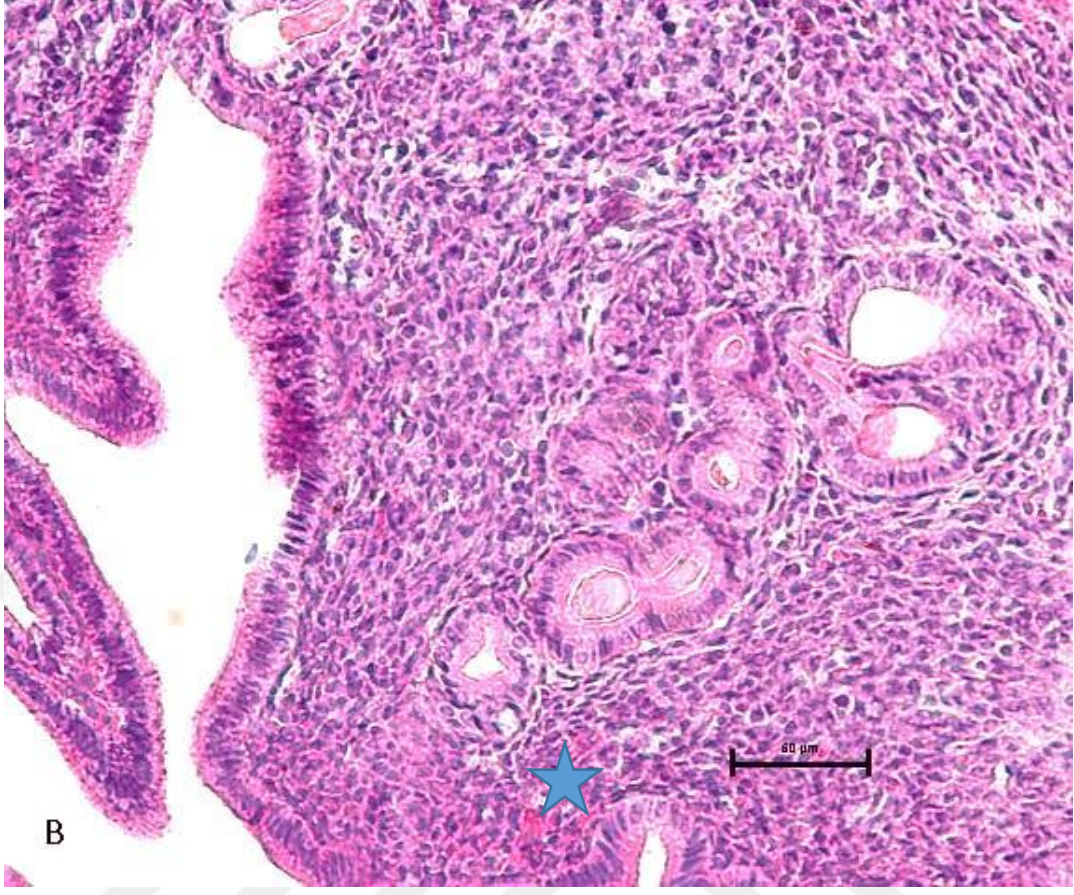
Uterus	Grup1	Grup2	Grup3	Grup4	p value
Fibrosis	0,57±0,11	0,51±0,21	0,54±0,51	1,29±0,42	$p < 0,006$
İnflamasyon	0,56±0,03	0,61±0,13	0,59±0,21	1,45±0,01	$p < 0,001$
Damarsal Çoğalma	1,0±0,1	1,1±0,19	1,0±0,2	2,1±0,23	$p=0,004$

$p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.



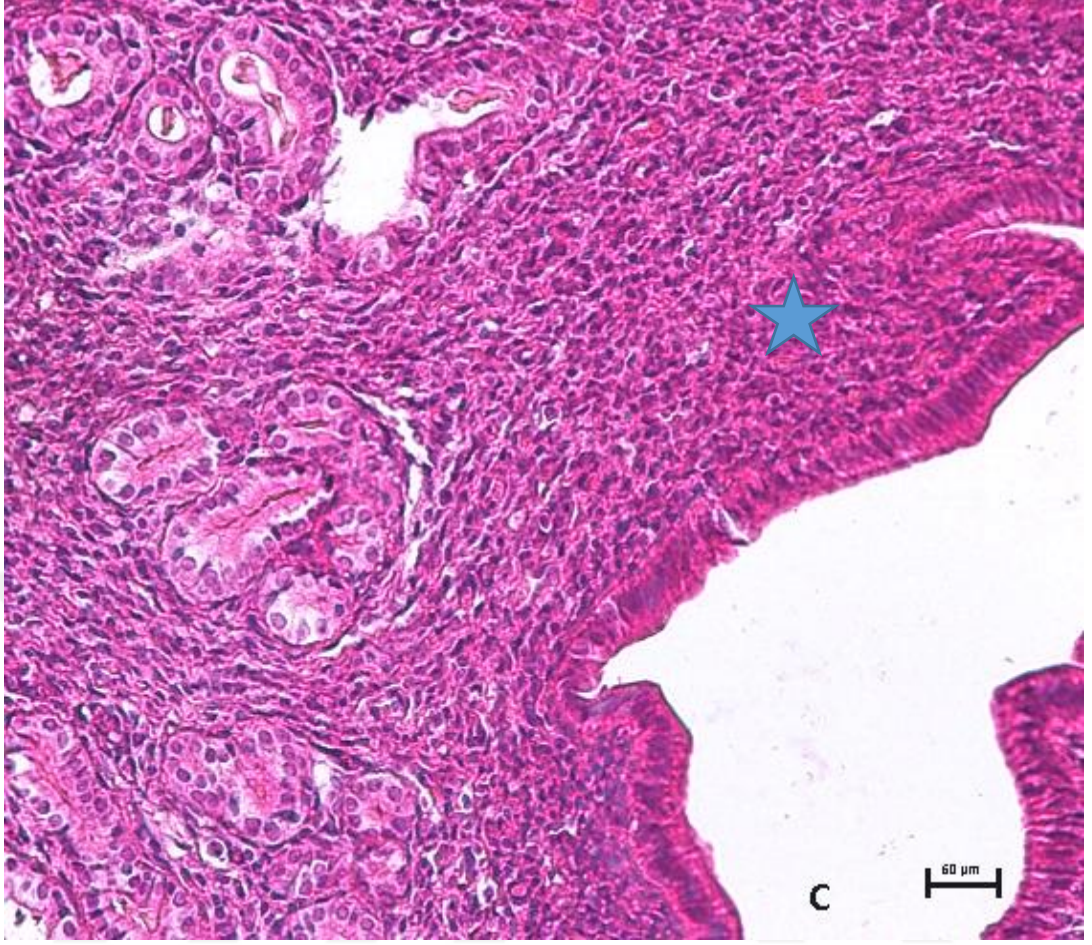
Resim 4.1. PRP uygulanan grupta H&E ile boyanmış endometriyum

200 X büyütmede H&E ile boyanmış endometriyum incelendiğinde epitel tabakası düzenli, endometriyumda inflamasyon yok, bez yapısı orta derece ve kan damarları gelişmiş olarak resim 4.1’de görülmektedir. Mavi yıldız kan damarları alanlarını gösteriyor.



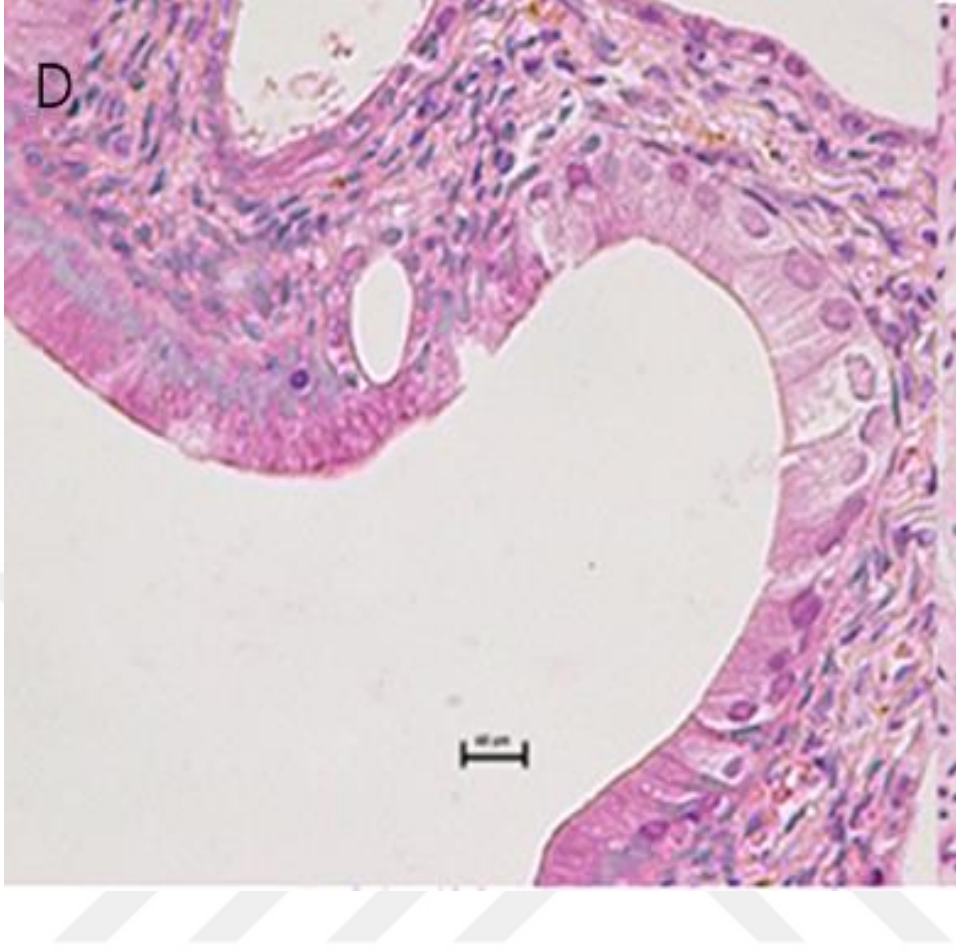
Resim 4.2. Batının diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı grupta H&E ile boyanmış endometriyum

200 X büyütmede çekilmiş H&E ile boyanmış endometriyum incelendiğinde epitel tabakası düzgün görünmekte ve bez yapısı gelişmiş fakat kan damarları küçük ve az sayıda olarak resim 4.2’de görülmektedir. Mavi yıldız kan damarları alanlarını gösteriyor.



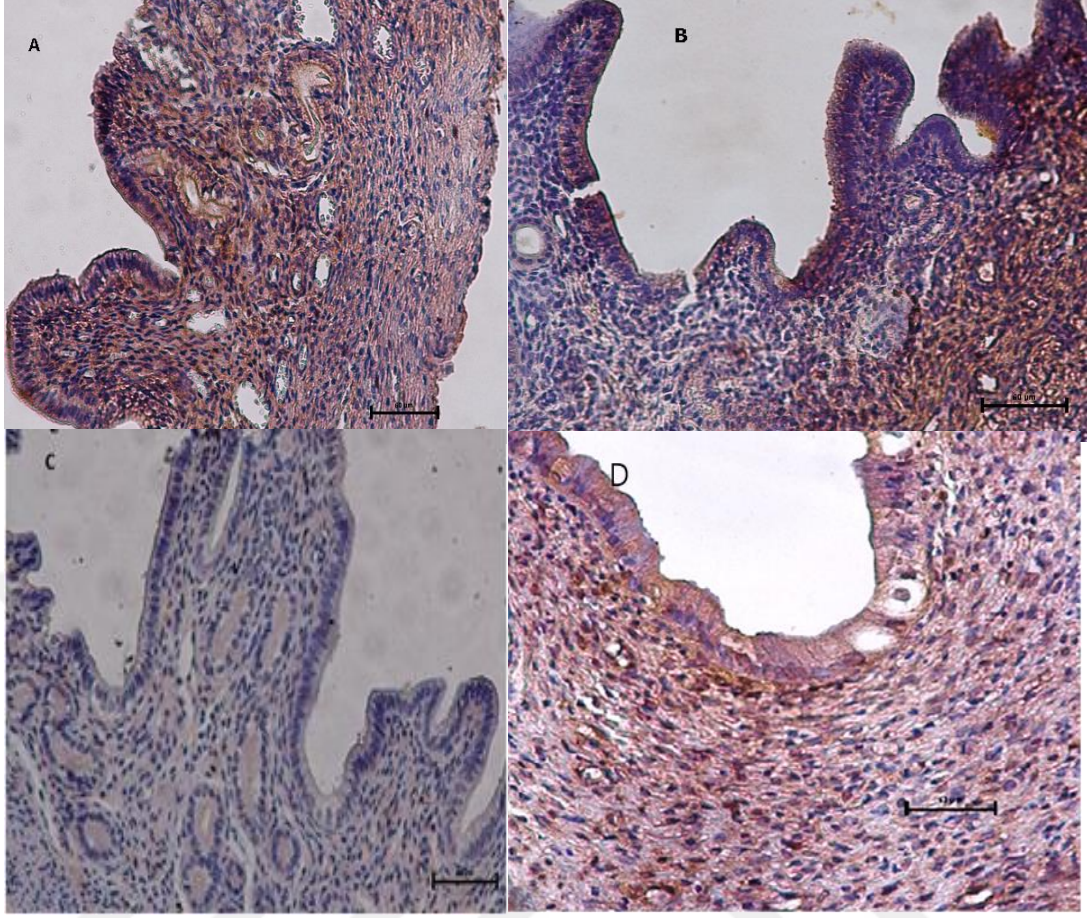
Resim 4.3. Uterus ve overlere enjektör ile girilip çıkılan grupta H&E ile boyanmış endometriyum

200 X büyütmede H&E ile boyanmış endometriyum incelendiğinde epitel tabakası düzenli durumda olsada lümene bakan alandaki kan damarları küçük olarak resim 4.3'te görülmektedir. Mavi yıldız kan damarları alanlarını gösteriyor.



Resim 4.4. Serum fizyolojik uygulanan grupta H&E ile boyanmış endometriyum

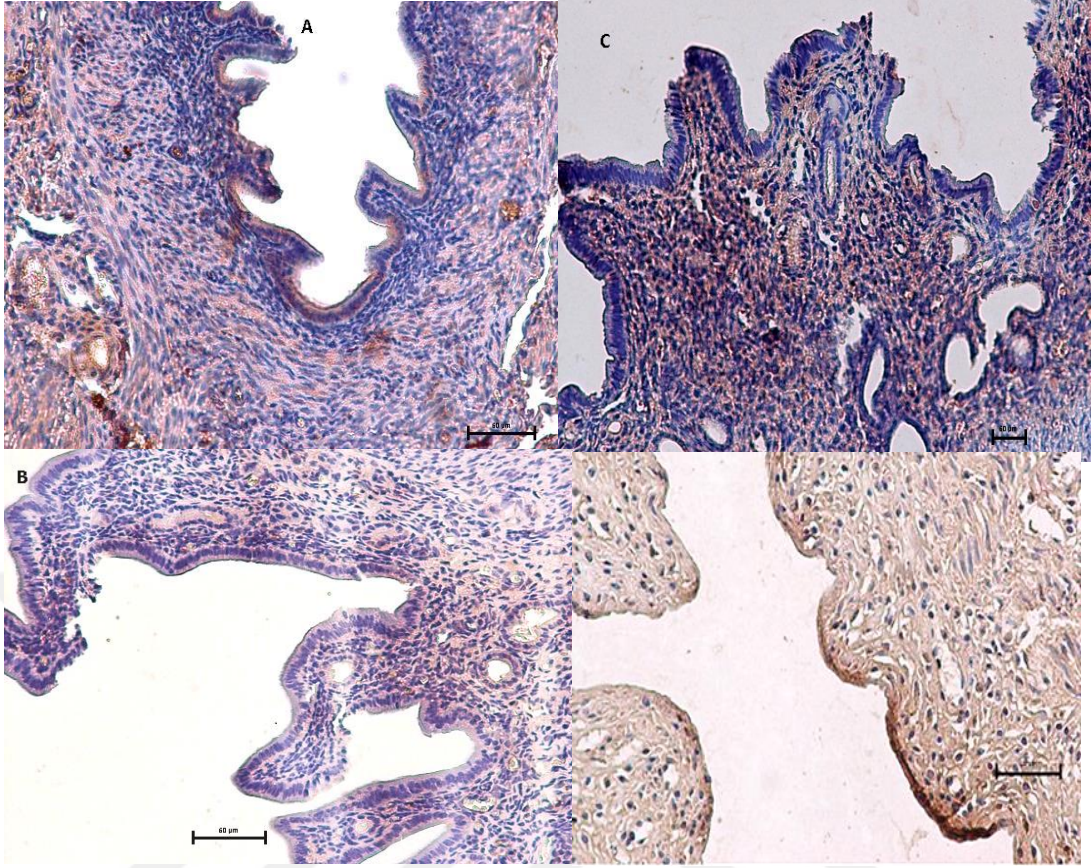
Endometriyal kan damarları PRP uygulanan grupta diğer üç grup ile karşılaştırıldığında daha gelişmiş durumda resim 4.4'te görülmektedir. Kan damarlarının gelişmiş görülmesi PRP uygulamasının embriyo implantasyonuna katkı sağlayacağını düşündürmektedir.



Resim 4.5. Ki-67 ekspresyonunun endometriyum üzerindeki aktivitesinin IHC boyama yöntemi ile gösterilmesi

A (PRP uygulanan grup), B (Batinın diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı grup), C (Uterus ve overlere enjektör ile girilip çıkılan grup), ve D (Serum fizyolojik uygulanan grup)

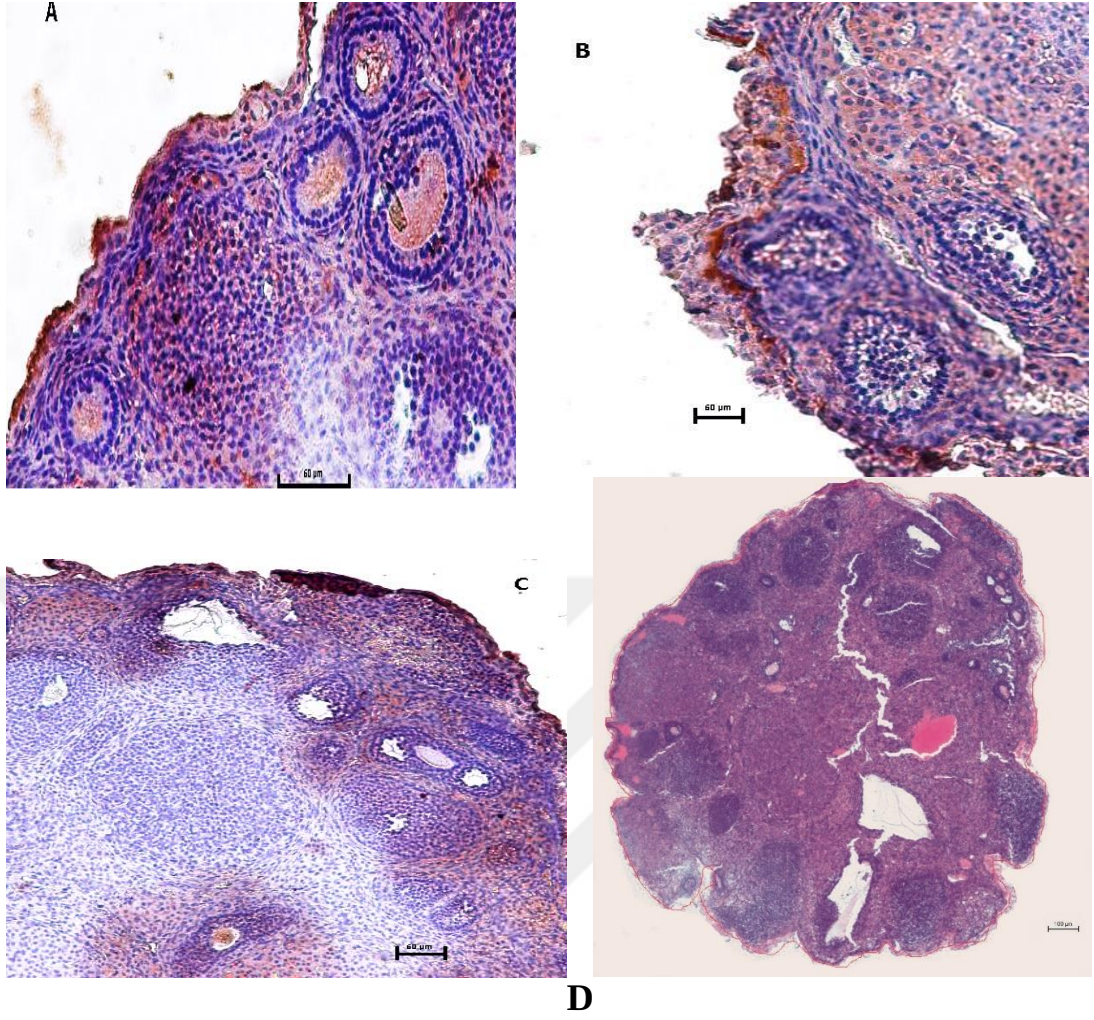
Resim 4.5'te 200 X büyütmede endometriyum incelendiğinde PRP grubunda Ki-67 ekspresyon yoğunluğu diğer gruplara göre daha yoğun alanlara sahip izlendi. Diğer gruplar arasında ise Ki-67 yoğunlukları arasında bir fark gözlenmedi.



Resim 4.6. VEGF ekspresyonunun endometriyum üzerindeki aktivitesinin IHC boyama yöntemi ile gösterilmesi

A (PRP uygulanan grup), B (Batinın diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı grup), C (Uterus ve overlere enjektör ile girilip çıkılan grup), ve D (Serum fizyolojik uygulanan grup)

Resim 4.6'da 200 X büyütmede PRP uygulama grubunda damarsal gelişim diğer gruplar ile kıyaslandığında daha fazla saptanmış, buna bağlı olarak İHC pozitif boyanmanın daha yoğun olduğu görüldü. Diğer gruplar arasında ise PRP grubuna göre daha az yoğunlukta görülmesiyle beraber, yapılan semi kantitatif boyanma değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel açıdan bir fark görülmedi.



Resim 4.7. Ki-67 ekspresyonunun overler üzerindeki IHC boyama yöntemi ile gösterilmesi

A (PRP uygulanan grup), B (Batinın diseksiyon makası ile açılıp kapatıldığı grup), C (Uterus ve overlere enjektör ile girilip çıkılan grup), ve D (Serum fizyolojik uygulanan grup)

Resim 4.7’de over dokusunda aylık gelişim ile özellikle folüküllerin yakın bölgelerinde hücre artışı görülmektedir. Çalışmadaki tüm gruplardaki preparatlarda benzer hücre artışı görüldü. 200 X büyütmede PRP uygulama grubunda, PRP etkisi ile hücre çoğalmasının diğer çalışma gruplarına göre daha fazla artış olduğu gözlemlendi.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

PRP tedavisi, uzun zamandır medikal estetik, plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahi, ortopedi gibi branşlarda da dâhil olmak üzere çeşitli tıbbi birimlerce, doku ve organ hasarlarının tedavisinde, onarıma yardımcı olması için kullanılmaktadır. PRP uygulaması, son yıllarda IVF tedavileri süreci içerisinde; endometriyumu uygun kalınlığa getirmek, azalmış over rezervini iyileştirmek ve over kalitesini arttırmak için de kullanılabilir.

PRP'nin endometrial reseptivite ve over fonksiyonu üzerinde varsayılan rolü birkaç mekanizma ile açıklanabilir. PRP'nin intraperitoneal infüzyonu sessiz foliküllerin aktivasyonu, over korteks hacminde artış, disfonksiyonel over dokusunda neoangiyogenezin indüklenmesi aracılığı ile over dokusu rejenerasyonunu ve reaktivasyonunu destekleyebilir. PRP'nin intrauterin infüzyonu araşidonik asidin prostaglandinlere dönüştürücüsü olan COX2'nin etkisini artırıcı yönde düzenlenmesinde, östrojen reseptörü ve progesteron reseptör ekspresyonunu artırarak ovaryan hormonların endometrium ve endometrial kalınlık üzerine etkilerinin oluşmasında rol almaktadır. Bunun sonucu olarak embriyo implantasyonunda rol almaktadır. Matriks metalloproteinaz ekspresyonunda artış ve sonucu olarak doku yenilenmesine olanak sağlamaktadır (Hajipour ve ark., 2018).

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı 40 yaş altında olan kadınlarda en az üç taze veya donma çözme tedavi protokolünde en az 4 iyi kalitede embriyo transferine rağmen klinik gebelik oluşmaması durumudur (Coughlan ve ark., 2014). RİF hastalarında ortama salgılanan büyüme faktörlerinin doğurgan kadınlara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (Sak ve ark., 2013). Bu nedenle büyüme faktörleri yönünden zengin olan PRP'nin bu eksikliği gidereceği varsayılabilir. RİF hastaları üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmış sonuçları artan implantasyon ve gebelik oranlarında PRP tedavisinin etkinliğini göstermektedir.

Bizim de yaptığımız çalışmada PRP uygulamasından sonra uterus dokusunda fibrozis ve inflamasyon miktarları azalırken, damarsal gelişimin arttığı görülmüştür. Ayrıca

endometriyum VEGF varlığı açısından incelendiğinde PRP uygulaması sonrasında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış saptanmıştır.

Zamaniyan ve arkadaşlarının 2020 yılında tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan 98 hasta ile yaptıkları bir çalışmada embriyo transferinden 48 saat önce intrauterin PRP infüzyonu uygulamışlar ve bu çalışma ile klinik gebelik oranında, devam eden gebelik oranında ve implantasyon oranında anlamlı derecede artış saptamışlardır. PRP infüzyonu tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlar için etkin bir tedavi seçeneği gibi görülmektedir (Zamaniyan ve ark., 2020).

Çoksuer ve arkadaşlarının 2019 yılında 36 hasta ile yaptıkları bir çalışmada tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalara embriyo transferinden 48 saat önce intrauterin PRP infüzyonu uygulamışlardır. Bu çalışmadan elde ettikleri sonuçlar ise intrauterin uygulanan PRP infüzyonu anlamlı derecede endometriyal kalınlık artışı sağlamıştır. Ayrıca klinik gebelik oranında ve canlı doğum oranında anlamlı derecede artış bulmuşlardır (Çoksuer ve ark., 2019).

Nazari ve arkadaşlarının 2020 yılında 49 hasta ile yapmış oldukları bir çalışmada tekrarlayan implantasyon başarısızlığına sahip hastalara embriyo transferinden 48 saat önce intrauterin PRP infüzyonu uygulanmış olup biyokimyasal ve klinik gebelik oranlarında anlamlı fayda saptamışlardır. Çok sayıda sitokin ve büyüme faktörü içeren PRP'nin, RIF hastalarında endometriyumun proliferasyonunu ve rejenerasyonunu motive edebileceği sonucuna varmışlardır.

Embriyo implantasyonu için endometrial kalınlık en az 7 mm olmalıdır (El-Toukhy ve ark., 2008). Son zamanlarda PRP endometriyal kalınlığı artırmada endometriyal reseptivite ve proliferasyon ile ilgili genlerin up regülasyonu ile ilgili güçlü etkisinden dolayı kullanılmaktadır (Marini ve ark., 2016). Otolog PRP'nin intrauterin uygulamasının, bir rat modelinde hasarlı endometriyumun rejenerasyonunu hızlandırabileceğini ve fibrozu azaltabileceğini buldu (Jang ve ark., 2017).

Bizim de yaptığımız çalışmada endometriyum Ki-67 ve VEGF varlığı açısından incelendiğinde PRP uygulanan grupta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). PRP uygulamasından sonra endometriyumda fibrozis ve inflamasyon

miktarları azalırken, damarsal gelişimi artırdığı görülmüştür. Diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, PRP uygulanan grupta histolojik bulguların olumlu yönde geliştiğini ve istatistiksel açıdan anlamlı olduğunu gözlemledik ($p<0.05$)

Molina ve arkadaşları 2018 yılında refraktör endometriyuma sahip olan hastalar ile çalışma yaptılar. Bu çalışmada refraktör endometriyumunu 6 mm'den az olarak ölçülen endometriyal kalınlık olarak tanımladılar. İntrauterin PRP uygulamasını hormon replasman tedavisinin 10. gününde ve takip eden 72 saat sonra ikinci kez PRP infüzyonu yaparak tasarladıkları 19 hasta ile yapmış oldukları çalışmada PRP infüzyonunun endometriyal kalınlık artışı olumlu etkilediklerini saptamış oldular. Ve bu endometriyal kalınlık artışı sonrasında %73,7 gebelik oranı ve %26,3 canlı doğum oranı saptamışlardır (Molina ve ark., 2018).

Colombo ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada endometriyal patoloji için negatif histeroskopik ve bakteriyolojik tarama ile 3 defa donma çözme tedavi siklusu başlanmış olup yeterli endometriyal kalınlık artışı sağlanamadığı için tedavi siklusları iptal olan 8 kadına intrauterin PRP uygulanmıştır. İntrauterin PRP uygulamasının endometriyal kalınlığı 6.9 mm'nin üzerine çıkardığını saptamışlardır. Çalışmaya alınan 8 kadının 6'sında pozitif beta-HCG saptanmıştır. 2 kadın canlı doğum yapmıştır (Colombo ve ark., 2017).

Zadehmodarres ve arkadaşları 2017 yılında yapmış oldukları bir çalışmada 10 hastaya intrauterin PRP infüzyonu yapmışlardır. Bu 10 hastanın yapılan ultrasonografi ölçümlerinde endometriyal kalınlığın 7 mm üzerine çıktığı tespit edilmiş ve %50 sinde gebelik oluşmuştur (Zadehmodarres ve ark., 2017).

Chang ve arkadaşlarının 2015 yılında 5 hasta ile yaptıkları çalışmada endometriyal kalınlığı 7 mm'den az olan hastalara intrauterin PRP infüzyonu uygulandı. Uygulamadan 48-72 saat sonra tekrar ölçülen endometriyal kalınlık 7 mm'den az ise 2. doz PRP uygulandı. 3 hastaya 2 kez PRP infüzyonu uygulandı. 5 hastanın tamamında gebelik gerçekleşmiş ve endometriyal kalınlık 7 mm'nin üzerine çıkmıştır. Yapılan bu çalışmada da intrauterin PRP infüzyonu endometriyal kalınlaşmaya yardımcı olarak bulunmuştur (Chang ve ark., 2015).

Allahveisi ve arkadaşlarının 2020 yılında 50 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada PRP infüzyonunun gebelik başarısına etkisini araştırmışlardır. 50 hasta iki gruba ayrılmış olup gruplardan birine embriyo transferinden 48 saat önce serum fizyolojik infüzyonu diğer gruba ise aynı miktarda PRP infüzyonu yapılmış olup her iki grupta gebelik sonuçları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Allahveisi ve ark., 2020).

PRP'nin endometriyal reseptiviteyi artırdığı mekanizmalar net değildir. Ancak büyüme faktörlerinin çok önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (Marini ve ark. 2016). PRP'nin büyüme faktörlerinin endometriyum üzerinde faydalı etkileri olmasına rağmen, PRP'nin düşük konsantrasyonunun (%5) sığır endometriyal hücrelerinin proliferasyonunu artırabileceğini, yüksek konsantrasyonun (%10) ise proliferasyon oranını önlediğini ve olumsuz yan etkilere yol açtığını göstermiştir (Marini ve ark., 2016). %5 trombosit konsantrasyonunun sığır embriyosunun blastosist üretim hızını ve hücre sayısını artırdığını, %10 trombosit konsantrasyonunun ise embriyo sayısını azalttığını bildirmiştir (Lange-Consiglio ve ark., 2015). Bu nedenle, aşırı miktarda büyüme faktörünün endometriyal ve embriyonik hücrelerin proliferasyonu üzerine engelleyici bir etkiye sahip olduğu varsayılabilir. PRP tedavisi ayrıca hücre proliferasyonunda rolü olan c-Myc ekspresyonunu da artırır; bu etki, PRP'de EGF'nin varlığından kaynaklanabilir (Anitua ve ark., 2004). Bununla birlikte, klinik kullanımlar için onaylanmış bir PRP uygulama dozu, sayısı ve zamanı bulmak ve PRP tedavisini standart ve önerilen bir tedavi stratejisi haline getirmek için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

İleri yaş, over rezervlerinin azalmasıyla ilişkilidir ve bu da overlerin gonadotropine verdiği yanıtı etkileyebilir. IVF döngüsü iptallerine, daha az oosit sayısına ve daha az embriyo elde edilmesine ve gebelik oranlarında nihai düşüslere yol açabilir (Giovanale ve ark., 2015). Pantos ve arkadaşları 2016 yılında 8 infertil menopozal kadın ile yaptıkları bir çalışmada intraovaryan PRP enjeksiyonu uygulamışlardır. Çalışmaya katılan kadınların % 40 ında 1 ila 3 ay içinde menstrüel siklus geri dönmüş, % 18.5 hastada yapılan IVF indüksiyonundan 1-5 oosit elde edilmiştir. Ancak PRP'nin hangi mekanizma ile buna yol açtığı henüz bilinmemektedir (Pantos ve ark., 2016).

PRP'nin over mikroçevresini iyileştirme ve over germ hattı kök hücreleri için büyüme faktörleri sağlama potansiyeli, PRP'yi DOR tedavisi için uygun bir aday yapar. Dehghani ve arkadaşları tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışma siklofosfomidin neden olduğu over yetmezliği oluşturulan ratlara intraperitoneal PRP uygulamasını kapsamaktadır. Bu çalışmadan elde ettikleri verilere göre pre-antral folikül sayısında artış, over korteks hacminde artış, antral folikül çapında artış ve oosit çapında artış saptamışlardır (Dehghani ve ark., 2018).

Over son derece anjiyogenik bir organdır. Bu nedenle PRP kaynaklı anjiyogenik faktörlerin over dokusunda neoanjiyogenezi tetiklemesi ve doku rejenerasyonu ve yeniden aktivasyonu üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (Farimani ve ark., 2019).

Over dokusu neovaskülarizasyonun oluşabileceği nadir dokulardandır. VEGF etkisi ile kumulus ooforus, tekal hücreler ve mural gronüloza hücrelerinde sentezlenen mRNA ile ovaryan anjiyogenezi kontrol edilir (Robinson ve ark., 2009). VEGF folikülogenezi düzenler ve foliküler büyüme ve canlılığın tüm aşamalarında etkilidir (Kang ve ark., 2016). Bizim yaptığımız çalışmada da ratlara uygulanan intraovaryan PRP uygulaması sonrasında VEGF varlığı ve damar gelişiminin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını saptadık.

Bakacak ve arkadaşlarının 2015 yılında ratlarda over torsiyonu oluşturularak yaptıkları bir çalışmada PRP'nin over fonksiyonunu korumada faydalı etkileri olduğunu saptamışlardır. İntraperitoneal PRP uygulamasının torsiyona bağlı iskeminin neden olduğu over hasarlarını azaltabileceğini bildirmişlerdir (Bakacak ve ark., 2015).

Budak ve arkadaşlarının 2022 yılında ratlarda siklofosfomid ile ovaryan hasarı indükleyerek oluşturdukları bir çalışma modelinde ratlara intra-ovaryan PRP uygulamışlardır. Çalışmadan elde ettikleri sonuçlara göre siklofosfamidin neden olduğu hasar sonrası uygulanan PRP sonrasında bakılan AMH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Elde edilen oosit sayısında ve oluşturulan embriyo kalitesinde iyileşme saptamışlardır (Budak ve ark., 2022).

Melo ve arkadaşlarının 2020 senesinde yaptıkları bir çalışmada kontrollü over stimülasyonu yapılacak DOR tanısı alan 46 hastaya intra-ovaryan PRP enjeksiyonu

uygulamışlardır. Yapılan çalışma sonuçlarına bakıldığında intra-ovaryan PRP enjeksiyonu sonrası 3 menstrüel siklus beklenmiştir. Sonrasında serum AMH seviyelerine bakıldığında %63 artış saptanmıştır. Serum FSH seviyesinde ise %33 azalma saptanmıştır. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Aynı çalışmada ultrasonografi ile antral folikül sayısı incelenmiş olup, işlem öncesi ve 3 menstrüel döngü sonrasında karşılaştırıldığında AFC sayısında %75 oranında artış saptanmıştır. Yine bu çalışmada biyokimyasal gebelik oranında ve klinik gebelikte artış saptanmıştır. Bu çalışma ile intra-ovaryan PRP enjeksiyonun DOR da etkili bir tedavi seçeneği olabileceği vurgulanmaktadır (Melo ve ark., 2020).

Farimani ve arkadaşlarının 2019 senesinde yaptığı bir çalışmada over rezervi düşük 23 hastaya oosit toplama günü oosit aspirasyonu sonrasında intra-ovaryan PRP enjeksiyonu yapılmış ve 2 veya 3 ay sonra yapılan kontrollü over hiperstimülasyonu sonrası yapılan oosit aspirasyonunda oosit sayısında anlamlı düzeyde artış tespit etmişlerdir. Yine bu çalışma esnasında 2 hastada intra-ovaryan PRP enjeksiyonu sonrası spontan gebelik gerçekleşmiştir (Farimani ve ark., 2019).

Sills ve arkadaşları 2018 yılında yumurtalık rezervi azalmış 4 hasta ile yaptıkları bir çalışmada intra-ovaryan PRP enjeksiyonu sonrasında 2 hafta aralar ile serum AMH ve FSH ölçümleri yapmışlar. Elde ettikleri sonuçlara bakacak olursak 2 ay sonra AMH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da AMH düzeyinde artış ve FSH düzeyinde azalış saptanmasıdır. Yine bu 4 hastanın takip eden oosit aspirasyonu sonucunda M2 kalitesinde oosit toplanmış ve 4 hasta içinde embriyo gelişmiş olup hastalardan birine taze embriyo transferi yapılmış sonrasında canlı gebelik elde edilmiştir (Sills ve ark., 2018).

PRP'nin over yetmezliği olan kadınlarda oosit gelişimine nasıl etkilediği konusunda 2 hipotez öne sürülmüştür. Bunlardan ilki PRP içinde bulunan büyüme faktörlerinin latent bekleyen oositlerin harekete geçmesini sağladığı diğeri ise PRP'nin ovaryan kök hücrelerin denovo olarak oosite farklılaşmasını ve gelişmesine yönelik uygun koşulu sağladığına yöneliktir (Sills ve ark., 2018). PRP destekli kültür ortamından elde edilen foliküllerin büyüme ve hayatta kalma oranlarının, PRP içermeyenlere göre önemli oranda daha fazla olduğu ortaya konmuştur. PRP'nin folikülün erken aşamasını destekleyebileceğini açıklamaktadır (Hosseini ve ark., 2017).

Sfakianoudis ve arkadaşları 2019 yılında daha önce IVF tedavi başarısızlığı olan ve düşük over yanıtı olan 3 hastaya intra-ovaryan PRP enjeksiyonu yapmışlar ve sonuçları 3 ay sonra yapılan biyokimyasal analizde FSH düzeyinde %67,33 azalma AMH düzeyinde ise %75,18 artıştır. Ayrıca çalışmaya dâhil ettikleri 3 hastada da gebelik oluşmuştur.

Biz de yaptığımız çalışmada PRP uygulanan grup diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, PRP uygulaması sonrası serum AMH seviyesindeki artış anlamlıydı ($p<0,05$). PRP uygulamasının ratların kanındaki FSH seviyesi üzerinde PRP uygulanan grupta artışa neden olsa da istatistiksel açıdan anlamlı bir artışa neden olmadı ($p>0,05$). Overlerin Ki-67 ve VEGF varlığı açısından incelendiğinde PRP uygulanan grupta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$).

Yaptığımız çalışmanın kısıtlılıklarına bakacak olursak örneklem sayısının küçük olması ve deney hayvanlarının histopatolojik inceleme yöntemi olarak tercih edilen skorlama sisteminin sübjektif ve semikantitatif olması sayılabilir. PRP uygulamasının hazırlanması, uygulama sayısı, uygulama süresi ve PRP uygulanmasının sonrasında değerlendirmenin yapılacağı zaman açısından net bir görüşün verememesi kısıtlılıklar arasında gösterilebilir. Çalışma gruplarımız arasında hasta olarak niteleyebileceğimiz bir grupta yer almamıştır. Biz etik kaygılardan dolayı, deney hayvanı sayısını fazla arttırmak istemedik. Prp uygulamasının ilk önce normal over ve uterus dokusundaki etki-yanetki durumunu gözlemlemek istediğimiz için böyle planladık. PRP uygulanması sonrasında elde edilen sonuçların değerlendirildiği ve karşılaştırıldığı çalışmalar sınırlı sayıdadır. PRP uygulanması IVF tedavi sürecinde hala deneysel bir çalışma olarak yer almaktadır.

Günümüzde, PRP tedavisi; gerek deneysel, gerekse klinik çalışmalar şeklinde, giderek artan oranda, Kadın Doğum kliniklerinin uygulamaları arasında yer almaya başladı.

Bizim yaptığımız çalışmada, rat uterus ve overi üzerinde, PRP uygulaması yaparak, immunohistokimyasal ve biyokimyasal açılardan olası etkilerini inceledik. Ratlar üzerindeki PRP uygulamasından sonra, uterus dokusunda fibrozis ve inflamasyon miktarları azalırken, damarsal gelişimi artırdığını saptadık. PRP uygulaması sonrasında serum AMH düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bir artış saptadık.

Literatür incelendiğinde benzer sonuçların olduğu, destekleyici çalışmalar gözönüne alındığında, intrauterin otolog PRP infüzyonu özellikle RIF öyküsü olan hastalarda endometriyal kalınlaşmayı sağlamada güvenli, ucuz bir adjuvan tedavi yöntemi olarak, yine embriyo transferinden önce PRP uygulaması, implantasyonda başarıyı artırmada etkili bir yöntem olarak daha kapsamlı araştırılmalı düşüncesindeyiz.

İntraovaryan PRP enjeksiyonunun klinik uygulamasına ilişkin kanıtlar çok yenidir ve henüz yeterince açıklığa kavuşturulmamıştır. Bu sebepten dolayı, bu konu daha büyük örneklem boyutları ile daha fazla çalışılmalıdır. Şimdiye kadar, over yüzey epitelinde ovaryum ve germ hattı kök hücrelerinin, belirli koşullar altında oositlere farklılaşabilme yetenekleri, endotelyal ve vasküler hücre büyüme faktörlerinin varlığı göz önüne alındığında, intraovaryan PRP uygulaması ‘over rejuvenation’ (gençleştirme)de yeni bir tedavi metodu olmaya aday olabilir.

Sonuç olarak, PRP'nin tam fonksiyonel mekanizmasını belirlemek ve klinik kullanımlar için onaylanmış bir PRP uygulama dozu, sayısı ve zamanı bulmak ve PRP tedavisini standart ve önerilen bir tedavi stratejisi haline getirmek için iyi kurgulanmış ve randomize kontrollü çalışmalara daha fazla ihtiyaç vardır kanaatindeyiz.

6.KAYNAKLAR

Allahveisi A, Seyedoshohadaei F, Rezaei M, Bazrafshan N, Rahimi, K. The effect of platelet-rich plasma on the achievement of pregnancy during frozen embryo transfer in women with a history of failed implantation. *Heliyon*. 2020;6(3):e03577.

American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril*. 2014;101(3):633-634.

Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost*. 2004;91(1):4-15.

Aspenberg P, Virchenko, O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand*. 2004;75(1):93-99.

Bakacak M, Bostanci MS, İnanc F, Yaylali A, Serin S, Attar R, Yildirim G, Yildirim OK. Protective Effect of Platelet Rich Plasma on Experimental Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Ovary. *Gynecol Obstet Invest*. 2016;81(3):225-231.

Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2003;79(5):1091-1100.

Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochem Pharmacol*. 2004;68(6):1017-1021.

Broughton DE, Moley KH. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. *Fertil Steril*. 2017;107(4):840-847.

Cai QF, Wan F, Huang R, Zhang HW. Factors predicting the cumulative outcome of IVF/ICSI treatment: a multivariable analysis of 2450 patients. *Hum Reprod*. 2011;26(9):2532-2540.

Canipari R, Cellini V, Cecconi S. The ovary feels fine when paracrine and autocrine networks cooperate with gonadotropins in the regulation of folliculogenesis. *Curr Pharm Des*. 2012;18(3):245-255.

Carlson MJ, Thiel KW, Yang S, Leslie KK. Catch it before it kills: progesterone, obesity, and the prevention of endometrial cancer. *Discov Med*. 2012;14(76):215-222.

Carter CA, Jolly DG, Worden CE, Sr Hendren DG, Kane CJ. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol*. 2003;74(3):244-255.

Cavagna M, Mantese JC. Biomarkers of endometrial receptivity-a review. *Placenta*. 2003;24 Suppl B:S39-S47.

Chang Y, Li J, Chen Y, Wei L, Yang X, Shi Y, Liang X. Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(1):1286-1290.

Coksuer H, Akdemir Y, Ulas Barut M. Improved in vitro fertilization success and pregnancy outcome with autologous platelet-rich plasma treatment in unexplained infertility patients that had repeated implantation failure history. *Gynecol Endocrinol*. 2019;35(9):815-818.

Colombo G, Fanton V, Sosa D, Criado Scholz E, Lotti J, Aragona SE, Lotti T. Use of platelet rich plasma in human infertility. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2017;31(2 Suppl. 2):179-182.

Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demirel A, Gurgan T, Cutting R, Ong K, Sallam H, Li TC. Recurrent implantation failure: definition and management. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(1):14-38.

Craig JR, Jenkins TG, Carrell DT, Hotaling JM. Obesity, male infertility, and the sperm epigenome. *Fertil Steril*. 2017;107(4):848-859.

Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, Moroni M, Carabelli A. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci*. 2004;30(2):145-151.

Croxatto HB, Ortiz ME, Díaz S, Hess R, Balmaceda J, Croxatto HD. Studies on the duration of egg transport by the human oviduct. II. Ovum location at various intervals following luteinizing hormone peak. *Am J Obstet Gynecol*. 1978;132(6):629-634.

Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Genital Sistem Anatomisi. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. Güneş Kitabevi, Ankara; 2006, s:11-34.

Defrère S, Van Langendonck A, Moulin P, Befahy P, Gonzalez D, Martinez Madrid B, Dolmans MM, Donnez J. Human endometrial epithelial cells (EEC) constitutively express more intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 than endometrial stromal cells (ESC) in culture. *Am J Reprod Immunol*. 2005;54(1):5-12.

Dehghani F, Aboutalebi H, Esmaeilpour T, Panjehshahin MR, Bordbar H. Effect of platelet-rich plasma (PRP) on ovarian structures in cyclophosphamide-induced ovarian failure in female rats: a stereological study. *Toxicol Mech Methods*. 2018;28(9):653-659.

Della Valle A, Sammartino G, Marenzi G, Tia M, Espedito di Lauro A, Ferrari F, Lo Muzio L. Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: use of platelet-rich plasma gel. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003;61(11):1275-1278.

DelRossi AJ, Cernaianu AC, Vertrees RA, Wacker CJ, Fuller SJ, Cilley JH, Jr Baldino WA. Platelet-rich plasma reduces postoperative blood loss after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;100(2):281-286.

Demir R, Yaba A, Huppertz B. Vasculogenesis and angiogenesis in the endometrium during menstrual cycle and implantation. *Acta Histochem.* 2010;112(3):203-214.

Dluzen DE, Ramirez VD. In vivo LH-RH output of ovariectomized rats following estrogen treatment. *Neuroendocrinology.* 1986;43(4):459-465.

Ecochard R, Boehringer H, Rabilloud M, Marret H. Chronological aspects of ultrasonic, hormonal, and other indirect indices of ovulation. *BJOG.* 2001;108(8):822-829.

El-Toukhy T, Coomarasamy A, Khairy M, Sunkara K, Seed P, Khalaf Y, Braude P. The relationship between endometrial thickness and outcome of medicated frozen embryo replacement cycles. *Fertil Steril.* 2008;89(4):832-839.

Erickson GF. An analysis of follicle development and ovum maturation. *Semin Reprod Endocrinol.* 1986;46:55-59.

Evers JL, Slaats P, Land JA, Dumoulin JC, Dunselman GA. Elevated levels of basal estradiol-17beta predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1998;69(6):1010-1014.

Farimani M, Heshmati S, Poorolajal J, Bahmanzadeh M. A report on three live births in women with poor ovarian response following intra-ovarian injection of platelet-rich plasma (PRP). *Mol Biol Rep.* 2019;46(2):1611-1616.

Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope.* 2007;117(1):157-165.

Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003;9(6):669-676.

Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2011;26(7):1616-1624.

Fritz MA, Speroff L. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.* Çeviren: Günalp S. Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite 8. Basım Güneş Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., Ankara; 2014, s:1159-1160.

Fritz MA, Speroff L. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.* Çeviren: Günalp S. Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite 8. Basım Güneş Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., Ankara; 2014, s:241-242.

Galan N, Grazi RV The Everything Fertility Book: All you need to know about fertility, conception, and a healthy pregnancy. NewYork: Everything yayınları, 2010.

Gargett, CE, Nguyen, HP, Ye L. Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells. *Rev Endocr Metab Disord*. 2012;13(4):235-251.

Garor R, Abir R, Erman A, Felz C, Nitke S, Fisch B. Effects of basic fibroblast growth factor on in vitro development of human ovarian primordial follicles. *Fertil Steril*. 2009;91(5 Suppl):1967-1975.

Giovanale V, Pulcinelli FM, Ralli E, Primiero FM, Caserta D. Poor responders in IVF: an update in therapy. *Gynecol Endocrinol*. 2015;31(4):253-257.

Gracia CR, Shin SS, Prewitt M, Chamberlin JS, Lofaro LR, Jones KL, Clendenin M, Manzanera KE, Broyles DL. Multi-center clinical evaluation of the Access AMH assay to determine AMH levels in reproductive age women during normal menstrual cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(5):777-783.

Guzick DS, Grefenstette I, Baffone K, Berga SL, Krasnow JS, Stovall DW, Naus GJ. Infertility evaluation in fertile women: a model for assessing the efficacy of infertility testing. *Hum Reprod*. 1994;9(12):2306-2310.

Hadlow N, Longhurst K, McClements A, Natalwala J, Brown SJ, Matson PL. Variation in antimüllerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response. *Fertil Steril*. 2013;99(6):1791-1797.

Hajipour H, Nejabati HR, Latifi Z, Hamdi K, Bahrami-Asl Z, Fattahi A, Nouri M. Lymphocytes immunotherapy for preserving pregnancy: Mechanisms and Challenges. *Am J Reprod Immunol*. 2018;80(3):e12853.

Hajipour H, Farzadi L, Latifi Z, Keyhanvar N, Navali N, Fattahi A, Nouri M, Dittrich R. An update on platelet-rich plasma (PRP) therapy in endometrium and ovary related infertilities: clinical and molecular aspects. *Syst Biol Reprod Med*. 2021;67(3):177-188.

Haynesworth S, Kadiyala S, Bruder S. Platelet rich plasma stimulates stem cell chemotaxis, proliferation and potentiates osteogenic differentiation. *The Spine Journal*. 2002;2(5):68.

Homer HA, Li TC, Cooke ID. The septate uterus: a review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril*. 2000;73(1):1-14.

Hosseini L, Shirazi A, Naderi MM, Shams-Esfandabadi N, Borjian Boroujeni S, Sarvari A, Sadeghnia S, Behzadi B, Akhondi MM. Platelet-rich plasma promotes the development of isolated human primordial and primary follicles to the preantral stage. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(4):343-350.

Hugh S Taylor, Pal L, Seli E. Speroff's Clinical Gynecologic Endocrinology and Fertility, Female Fertility, Normal and Abnormal Growth and Pubertal Development, 2019. p:749.

Iliodromiti S, Nelson SM. Ovarian response biomarkers: physiology and performance. *Current opinion in obstetrics & gynecology*.2015;27(3):182–186.

Irkorucu O, Ferahköşe Z, Memiş L, Ekinçi O, Akin M. Reduction of Postsurgical Adhesions in a Rat Model: A Comparative Study. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009;64(2):143-148.

Jang HY, Myoung SM, Choe JM, Kim T, Cheon YP, Kim YM, Park H. Effects of Autologous Platelet-Rich Plasma on Regeneration of Damaged Endometrium in Female Rats. *Yonsei Med J*. 2017;58(6):1195-1203.

Kang BJ, Wang Y, Zhang L, Xiao Z, Li SW. bFGF and VEGF improve the quality of vitrified-thawed human ovarian tissues after xenotransplantation to SCID mice. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(2):281-289.

Kimber SJ. Molecular interactions at the maternal-embryonic interface during the early phase of implantation. *Semin Reprod Med*. 2000;18(3):237-253.

Kimura A, Ogata H, Yazawa M, Watanabe N, Mori T, Nakajima T. The effects of platelet-rich plasma on cutaneous incisional wound healing in rats. *J Dermatol Sci*. 2005;40(3):205-208.

Klongnoi B, Rupprecht S, Kessler P, Thorwarth M, Wiltfang J, Schlegel KA. Influence of platelet-rich plasma on a bioglass and autogenous bone in sinus augmentation. An explorative study. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(3):312-320.

Knight PG, Glister C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*. 2006;132(2):191-206.

Kosaka N, Sudo N, Miyamoto A, Shimizu T. Vascular endothelial growth factor (VEGF) suppresses ovarian granulosa cell apoptosis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;363(3):733-737.

Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D'Hooghe T, Castilla JA, Calhaz Jorge C, De Geyter C, Goossens V. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2014;29(10):2099-2113.

La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, Volpe A. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod*. 2007;22(3):766-771.

La Marca A, Grisendi V, Griesinger G. How Much Does AMH Really Vary in Normal Women? *Int J Endocrinol*. 2013;2013:959487.

Langlois PL. The size of the normal uterus. *J Reprod Med.* 1970;4(6):220-228.

Lange Consiglio A, Cazzaniga N, Garlappi R, Spelta C, Pollera C, Perrini C, Cremonesi F. Platelet concentrate in bovine reproduction: effects on in vitro embryo production and after intrauterine administration in repeat breeder cows *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:65.

Leach RE, Moghissi KS, Randolph JF, Reame NE, Blacker CM, Ginsburg KA, Diamond MP. Intensive hormone monitoring in women with unexplained infertility: evidence for subtle abnormalities suggestive of diminished ovarian reserve. *Fertil Steril.* 1997;68(3):413-420.

Lessey BA. Assessment of endometrial receptivity. *Fertil Steril.* 2011;96(3):522-529.

Li DK, Liu L, Odouli R. Exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs during pregnancy and risk of miscarriage: population based cohort study. *BMJ.* 2003;327(7411):368.

Lie Fong S, Visser JA, Welt CK, de Rijke YB, Eijkemans MJ, Broekmans FJ, Roes EM, Peters WH, Hokken Koelega, AC, Fauser BC, Themmen AP, de Jong FH, Schipper I, Laven JS. Serum anti-müllerian hormone levels in healthy females: a nomogram ranging from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(12):4650-4655.

Lohmiller JJ, Swing SP. Reproduction and breeding. In *The Laboratory Rat (Second Edition)* 2006, p:147-164.

Ludwig H, Spornitz UM. Microarchitecture of the human endometrium by scanning electron microscopy: menstrual desquamation and remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 1991;622:28-46.

Marini MG, Perrini C, Esposti P, Corradetti B, Bizzaro D, Riccaboni P, Fantinato E, Urbani G, Gelati G, Cremonesi F, Lange Consiglio A. Effects of platelet-rich plasma in a model of bovine endometrial inflammation in vitro. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016;14(1):58.

Maroulis GB. Effect of aging on fertility and pregnancy, *Semin Reprod Endocrinol.* 1991;9:165.

Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225-228.

Matsui N, Kawano Y, Nakamura S, Miyakawa I. Changes in vascular endothelial growth factor production associated with decidualization by human endometrial stromal cells in vitro. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83(2):138-143.

Matsumoto H, Nasu K, Nishida M, Ito H, Bing S, Miyakawa I. Regulation of proliferation, motility, and contractility of human endometrial stromal cells by platelet-derived growth factor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3560-3567.

McLaren JF. Infertility evaluation. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2012;39(4):453-463.

Melo P, Navarro C, Jones C, Coward K, Coleman L. The use of autologous platelet-rich plasma (PRP) versus no intervention in women with low ovarian reserve undergoing fertility treatment: a non-randomized interventional study. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(4):855-863.

Mescher AL. Junqueira's Temel Histoloji Atlas Kitap Çeviren: S. Solakoğlu. *Dişi Üreme Sistemi.* Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 2015. s: 449-478.

Messinis IE. Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications. *Hum Reprod Update.* 2006;12(5):557-571.

Metwally M, Raybould G, Cheong YC, Horne AW. Surgical treatment of fibroids for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;1(1):CD003857.

Molina A, Sánchez J, Sánchez W, Vielma V. Platelet-rich plasma as an adjuvant in the endometrial preparation of patients with refractory endometrium. *JBRA Assist Reprod.* 2018;22(1):42-48.

National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems. London: Royal College of Obstetricians & Gynaecologists; February 2013.

Nazari L, Salehpour S, Hosseini MS, Hashemi Moghanjoughi P. The effects of autologous platelet-rich plasma in repeated implantation failure: a randomized controlled trial. *Hum Fertil (Camb).* 2020;23(3):209-213.

Nilsson EE, Detzel C, Skinner MK. Platelet-derived growth factor modulates the primordial to primary follicle transition. *Reproduction.* 2006;131(6):1007-1015.

Ola B, Li TC. Implantation failure following in-vitro fertilization. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006;18(4):440-445.

Ombelet W, Cooke I, Dyer S, Serour G, Devroey P. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Hum Reprod Update.* 2008;14(6):605-621.

Öktem Ö. Urman B. Reprodüktif yaşam siklusu: Folikülogenes ve Menstruasyon. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi.* 2012;1(9):1-24.

Pantos K, Nitsos N, Kokkali G, Vaxevanoglou T, Markomichali C, Pantou A, Grammatidis M, Lazaros L, Sfakianoudis K. Ovarian rejuvenation and folliculogenesis reactivation in peri-menopausal women after autologous platelet-rich plasma treatment. In: Abstracts ESHRE 32nd Annual Meeting. 2016. p3-6.

Pérez Medina T, Bajo Arenas J, Salazar F, Redondo T, Sanfrutos L, Alvarez P, Engels V. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients

undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod.* 2005;20(6):1632-1635.

Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg.* 2005;16(6):1043-1054.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2013;99(1):63.

Remohí J, Ardiles G, García Velasco JA, Gaitán P, Simón C, Pellicer A. (1997). Endometrial thickness and serum oestradiol concentrations as predictors of outcome in oocyte donation. *Hum Reprod.* 1997;12(10):2271-2276.

Robinson RS, Woad KJ, Hammond AJ, Laird M, Hunter MG, Mann GE. (2009). Angiogenesis and vascular function in the ovary. *Reproduction.* 2009;138(6):869-881.

Rock JA, Jones HW. Te Linde's Operative Gynecology 9th edition. Kadın Pelvisinin Cerrahi Anatomisi. Çeviren: Tavmergan E. Güven Kitabevi, İzmir; 2005: s:61-90.

Roos MH, Kaye GI, Pawlina W. Female Reproductive System. Histology A Text And Atlas With Cell And Molecular Biology. 40.ed. Baltimore: Williams&Wilkins, 2003, p:743-63.

Ruess ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor Tritsch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174(2):624-627.

Sak ME, Gul T, Evsen MS, Soyduinc HE, Sak S, Ozler A, Alabalik U. Fibroblast growth factor-1 expression in the endometrium of patients with repeated implantation failure after in vitro fertilization. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17(3):398-402.

Salazar CA, Isaacson K, Morris S. A comprehensive review of Asherman's syndrome: causes, symptoms and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2017;29(4):249-256.

Schwalm H, Dubrausky V.(1966). The structure of the musculature of the human uterus-muscles and connective tissue. *Am J Obstet Gynecol.* 1966;94(3):391-404.

Schwarz BE, The production and biologic effects of uterine prostaglandins. *Semin Reprod Endocrinol.*1983;1:189.

Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, Lazaros L, Rapani A, Pantou A, Koutsilieris M, Nikas Y, Pantos K. Successful Implantation and Live Birth Following Autologous Platelet-rich Plasma Treatment for a Patient with Recurrent Implantation Failure and Chronic Endometritis. *In Vivo.* 2019;33(2):515-521.

Sills ES, Wood SH. Autologous Activated Platelet-Rich Plasma Injection Into Adult Human Ovary Tissue: Molecular Mechanism, Analysis, and Discussion of Reproductive Response. *Biosci Rep.* 2019;39(6):BSR20190805.

Sills ES, Rickers NS, Li X, Palermo GD. First data on in vitro fertilization and blastocyst formation after intraovarian injection of calcium gluconate-activated autologous platelet rich plasma. *Gynecol Endocrinol*. 2018;34(9):756-760.

Silva JR, Figueiredo JR, van den Hurk R. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology*. 2009;71(8):1193-1208.

Silva JR, van den Hurk R, de Matos MH, dos Santos RR, Pessoa C, de Moraes MO, de Figueiredo JR. Influences of FSH and EGF on primordial follicles during in vitro culture of caprine ovarian cortical tissue. *Theriogenology*. 2004;61(9):1691-1704.

Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*. 1995;64(6):1136-1140.

Somigliana E, Paffoni A, Busnelli A, Filippi F, Pagliardini L, Vigano P, Vercellini P. Age-related infertility and unexplained infertility: an intricate clinical dilemma. *Hum Reprod*. 2016;31(7):1390-1396.

Son WY, Das M, Shalom Paz E, Holzer H. Mechanisms of follicle selection and development. *Minerva Ginecol*. 2011;63(2):89-102.

Spira A. Epidemiology of human reproduction. *Hum Reprod*. 1986;1(2):111-115.

Steiner AZ, Pritchard D, Stanczyk FZ, Kesner JS, Meadows JW, Herring AH, Baird DD. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. *JAMA*. 2017;318(14):1367-1376.

Stoikos CJ, Harrison CA, Salamonsen LA, Dimitriadis E. A distinct cohort of the TGFbeta superfamily members expressed in human endometrium regulate decidualization. *Hum Reprod*. 2008;23(6):1447-1456.

Sugino N, Kashida S, Karube Harada A, Takiguchi S, Kato H. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in human endometrium throughout the menstrual cycle and in early pregnancy. *Reproduction*. 2002;123(3):379-387.

The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Smoking and Infertility. *Fertil Steril*. 2012;98(6):1400-1406.

The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile man: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012;98(2):294-301.

Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundara, R, Buck Louis, GM. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach. *Fertil Steril*. 2013;99(5):1324-1331.e1.

Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy Ch, Englert Y. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod.* 2007;22(7):1837-1840.

Uzumcu M, Pan Z, Chu Y, Kuhn PE, Zachow R. Immunolocalization of the hepatocyte growth factor (HGF) system in the rat ovary and the anti-apoptotic effect of HGF in rat ovarian granulosa cells in vitro. *Reproduction.* 2006;132(2):291-299.

van Noord Zaadstra BM, Looman CW, Alsbach H, Habbema JD, te Velde ER, Karbaat J. Delaying childbearing: effect of age on fecundity and outcome of pregnancy. *BMJ.* 1991;302(6789):1361-1365.

Wathen NC, Perry L, Lilford RJ, Chard T. Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1984;288(6410):7-9.

Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod.* 2004;10(2):77-83.

Welsh WJ. Autologous platelet gel-Clinical function and usage in plastic surgery. *Cosmetic Dermatol.* 2000;7(6):13–19.

Zadehmodarres S, Salehpour S, Saharkhiz N, Nazari L. Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: a pilot study. *JBRA assisted reproduction.* 2017;21(1):54–56.

Zamaniyan M, Peyvandi S, Heidaryan Gorji H, Moradi S, Jamal J, Yahya Poor Aghmashhadi F, Hossein Mohammadi M. Effect of platelet-rich plasma on pregnancy outcomes in infertile women with recurrent implantation failure: a randomized controlled trial. *Gynecol Endocrinol.* 2021;37(2):141-145.

7.EKLER

EK-1: Etik kurul kararı

SAKARYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA ONAY BELGESİ SAKARYA UNIVERSITY ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHIC COMMITTEE RESEARCH APPROVAL CERTIFICATE		
Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Rat Modellerinde uterus ve Over Dokusuna Uygulanacak Olan Plazma-RichPlazma (PRP) Ninover ve Uterus Üzerine ve Fertilite Üzerine Etkilerinin Araştırılması	
Yürütücü <i>Chief investigator</i>	Prof. Dr. Nermin AKDEMİR	
Yrd. Araştırmacı(lar) Co-investigator(s)	Asis. Dr. Özkan DURMAZ, Dr Öğr. Üyesi Özcan BUDAK, Dr. Öğr. Üyesi Erdem ÇOKLUK	
Araş. Başlama Tarihi/Research Starting Date		
Proje Süresi/Total Time of Project	6 Ay	
Kullanılan Hayvan Türü/Animal Species	Rat	
Kullanılan Hayvan Cinsiyeti ve Sayısı/Animal Sex and number	Dişi - 28 adet	
Araş. Destekleyen Kuruluş (varsa) <i>Funding institution(s) (if available)</i>	-	
Destek Şekli ve Miktarı <i>Type and amount of funding</i>	-	
Karar: Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 08 / 01 / 2020 tarih ve 05 sayılı kararı ile; yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin ● gerçekleştirilmesinin Uygun Olduğuna Karar Verilmiştir. ○ Yeniden düzenlenmesine Karar Verilmiştir. ○ gerçekleştirilmesinin Uygun Olmadığına Karar Verilmiştir. Decision: With the decision of the Local Ethics Committee of Animal Experiments of Sakarya University dated 08/01/2020 and numbered 05; it has been decided that above mentioned research project is ● Appropriate to carry out. ○ Rearranged ○ Not Appropriate to carry out.		
	BAŞKAN/CHAIR	
	Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU	
ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER
Prof. Dr. Ali Fuat ERDEM	Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Ç. (Veteriner Hekim)	Prof. Dr. Pelin TANYERİ
ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER
Prof. Dr. Nurettin KAKAMAN	Doç. Dr. Hüseyin AKSOY	Dr. Öğr. Üyesi Songül DOĞANAY
ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER	ÜYE / MEMBER
Murat YILDIRIM	Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARA	Dr. Öğr. Üyesi Havva SERT
	ÜYE / MEMBER	
	İbrahim AKTEKİN	

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Özkan	Soyadı	DURMAZ
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu	T.C.	Tel	
E-mail			
Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı		Mezuniyet Yılı
Lisans	Akdeniz Üniversitesi		2016
İş Deneyimi			
Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)	
1	Kocaeli Darıca Toplum Sağlığı Merkezi - Pratisyen Hekim	2016-2017	
2	Gebze İstasyon Aile Sağlığı Merkezi -Aile Hekimi	2017-2018	
3			
Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	orta	Orta	Orta