

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ (TIP) DOKTORA PROGRAMI

**DENEYSEL OVARYAN HİPERSTİMÜLASYON
SENDROMU (OHSS) MODELİNDE QUERCETİN ve
CABERGOLİN'İN ETKİLERİNİN OVERLERDE YAPISAL ve
BİYOKİMYASAL DÜZEYDE KARŞILAŞTIRILMASI**

OKŞAN UYAR GAZEZOĞLU
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TPF-23025 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2025

KABUL ve ONAY

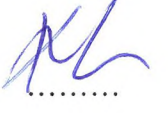
T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Okşan UYAR tarafından hazırlanan “Deneysel Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS) Modelinde Quercetin ve Cabergolin’in Etkilerinin Overlerde Yapısal ve Biyokimyasal Düzeyde Karşılaştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 31/07/2025

Üye (T.D.): Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN Aydın ADÜ Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji AD



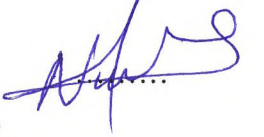
Üye: Prof. Dr. Kemal ERGİN Aydın ADÜ Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji AD



Üye: Prof. Dr. Özge ÇEVİK Aydın ADÜ Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya AD



Üye: Doç. Dr. Nazlı ÇİL Denizli PAÜ Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji AD



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Murat Serkant ÜNAL Denizli PAÜ Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji AD



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda danışmanım olarak bilgisini, ilgisini, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen, doktora eğitimime vesile olduğu ilk günden beri bana hep destek olan, hayata bakışı ve duruşu, öğrencileriyle yaptığı keyifli sohbetlerle her zaman her konuda eşlik edip yol gösterici olan değerli hocam sayın Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN'e çok teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca mesleki bilgilerini özveriyle paylaşan Prof. Dr. Kemal ERGİN, Prof. Dr. Recep KUTLUBAY, Prof. Dr. Mehmet TURGUT, Doç. Dr. Erkan GÜMÜŞ, Doç. Dr. H. Kübra BAŞALOĞLU, Doç. Dr. K. Murat GÜRSES hocalarıma emekleri için teşekkür ederim.

Histoloji alanında eğitim almam için beni yüreklendiren ve bu konuda her zaman destek olan, her yerde saygı ve sevgi ile andığım Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK'e teşekkürü bir borç bilirim. Beraberinde başta Prof. Dr. Hülya ELBE olmak üzere Doç. Dr. Gürkan YİĞİTTÜRK, Dr. Dilan ÇETİN AVCI, Teknisyen Mehmet ERTEMUR ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Histoloji ABD'da görevli tüm asistan arkadaşlarıma hoşgörü ve yardımları için teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresi içinde bana gerek çalışmada gerekse günlük hayatta her zaman yardımcı olan başta Yüksek Lisans Öğrencisi Burak TÖZÜN, Araş. Gör. Yiğitcan ÇİFTÇİ, Araş. Gör. Celal Can GÜNGÖR, Araş. Gör. Esra GÖKMEN olmak üzere tüm Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na teşekkür ederim.

Akademik yolculukta beni teşvik eden ve her konuda destek olan başta Prof. Dr. Bülent HUDDAM olmak üzere sevgili dostum Dr. Öğr. Üys. Dilek GİBYELİ GENEK, Doç. Dr. Alper ALP, Dr. Hakkı ÇETİNKAYA, Dr. Öğr. Üys. Öge ARTAGAN, Öğr. Gör. İlknur TİNDAŞ ve enerjileriyle hayatıma neşe katan, bu süreçte her ruh halime şahitlik eden tek derdi kendisi olmayan mabon dostlarıma, evimizin temel direği Tülay ARDIÇOĞLU'na ve sevgili Muğla Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hemodiyaliz Merkezi çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ediyorum.

Tarifsiz duygularla sevdiğim kızlarım BERRAK ve DURU'ya, sevgili eşim, yol arkadaşım Sumur GAZEZOĞLU'na her durumda sevgisi, sabrı, güveni ve bana destekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tüm hayatım boyunca varlıklarıyla hep yanımda olan ve bugünlere gelmemde büyük payı olan sevgili ANNEME, BABAMA VE KARDEŞİME teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	5
2.1. Ovaryum.....	5
2.1.1. Ovaryum Anatomisi.....	6
2.1.2. Ovaryum Histolojisi.....	7
2.1.2.1. Ovaryum Korteksi.....	8
2.1.2.1.1. Ovaryum Folikülleri.....	9
2.1.2.1.2. Korpus Luteum.....	14
2.1.2.1.3. Ovaryum Korteks Stroması.....	16
2.1.2.2. Ovaryum Medullası.....	17
2.1.2.3. Ovulasyon.....	18
2.1.3. Ovaryum Embriyolojisi.....	20
2.2. İnfertilite.....	23

2.2.1. Kadın İnfertilitesi.....	25
2.2.2. İnfertilite Tedavisi.....	29
2.3. Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS).....	34
2.3.1. OHSS Tanısı	36
2.3.2. OHSS Sınıflandırması	37
2.3.3. OHSS Patofizyolojisi.....	39
2.3.3.1. OHSS ve VEGF	40
2.3.3.2. OHSS ve Siklooksijenaz 2 (COX-2)	41
2.3.3.3. OHSS ve Ovarian Renin-Angiotensin Sistem (OVRAS).....	42
2.3.3.4. OHSS ve Pigment Epitel Derive Faktör (PEDF).....	43
2.3.3.5. OHSS ve Sitokinler	44
2.3.4. OHSS'nin Önlenmesi	45
2.4. Quersetin (QUR)	52
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	57
3.1. Deneysel OHSS Modeli Oluşturulması.....	57
3.2. Çalışmanın Deney Grupları	58
3.3. Vasküler Permeabilite Ölçümü için Periton Sıvısının Toplanması	59
3.4. Kan Örneklerinin Alınması.....	60
3.5. Ovaryumların Çıkarılması ve Tartılması	61
3.6. Vasküler Permeabilite, Serum Analizleri, TNF-alfa ve Estradiol Ölçümü.....	61
3.6.1. Vasküler Permeabilite Ölçümü	61
3.6.2. Biyokimyasal Analizler	61
3.6.2.1. Serumdan TNF-alfa ve Estradiol Ölçümleri.....	62
3.7. Ovaryum Dokusunda Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan (TOS) Markerların Analizi	62
3.7.1. Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü	62
3.7.2. Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü.....	62

3.7.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)	63
3.8. Ovaryum Histomorfolojik İncelemesi	63
3.8.1. Ovaryum Dokusu Çap Ölçümü	65
3.8.2. Masson Trikrom Boyama Yöntemi	66
3.9. Ovaryum Dokularının İmmünohistokimyasal Analizi	67
3.10. İstatistiksel Analizler	68
4.BULGULAR	69
4.1. Makroskobik Bulgular	69
4.2. Ovaryum Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	69
4.3. Ovaryum Çaplarının Değerlendirilmesi	71
4.4. Histolojik Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	73
4.4.1. Ovaryum Histomorfolojilerinin Değerlendirilmesi	73
4.4.1.1. Primordiyal Folikül	79
4.4.1.2. Erken Primer Folikül	80
4.4.1.3. Geç Primer Folikül	80
4.4.1.4. Sekonder (Antral) Folikül	80
4.4.1.5. Graaf Folikül	80
4.4.1.6. Atrezik Folikül	81
4.4.1.7. Kistik Folikül	81
4.4.1.8. Korpus Hemorajikum	81
4.4.1.9. Korpus Luteum	82
4.4.2. Masson-Trikrom (MT) Boyama Bulguları	82
4.4.3. Ovaryumların İmmünohistokimyasal Analizlerinin Değerlendirilmesi	81
4.4.3.1. VEGF Dağılımı	81
4.4.3.2. COX-2 Dağılımı	92
4.4.3.3. PEDF Dağılımları	99
4.5. Vasküler Permeabilite Değerlendirilmesi	105

4.6. Renal Fonksiyon Testlerine Göre Değerlendirme	107
4.7. Karaciğer Fonksiyon Testlerine Göre Değerlendirme	109
4.8. Tnf Alfa ve Estradiol Düzeylerinin Değerlendirilmesi	110
4.9. TAS, TOS ve OSI Düzeylerinin Değerlendirilmesi	111
5.TARTIŞMA.....	112
6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	124
KAYNAKLAR.....	126
EKLER.....	154
BİLİMSEL ETİK BEYANI	155
ÖZ GEÇMİŞ.....	156

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AFC	: Antral Folikül Sayısı
AMH	: Antimüllerian Hormon
ARDS	: Yetişkin Respiratuar Distres Sendromu
ART (ÜYTE)	: Yardımcı Üreme Teknolojisi
BBT	: Seri bazal vücut ısı
bFGF	: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
CAB	: Kabergolin
CC	: Klomifen Sitrat
COX	: Siklooksijenaz
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DOR	: Azalmış Ovarian Rezerv
E2	: Estradiol
EASC	: Enzimatik Aktiveli Stromal Hücreler
ECM	: Ekstrasellüler matriks
EGF	: Endotelyal Büyüme Faktörü
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GIFT	: Gamet intrafallop transferi
GnRH	: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
GnRH_a	: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon agonisti
GnRH_{ant}	: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon antagonisti
GREL	: Gonadal ridge epitel benzeri
HPG	: Hipotalamo Hipofizer Gonadal Aks
HSG	: Histerosalpingografi
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropini
IFN-γ	: İnterferon-Gama
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1

IL-1	: İnterlökin 1
IL-1β	: İnterlökin 1 beta
IL-6	: İnterlökin 6
IL-8	: İnterlökin 8
ICSI	: İnterasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IVF	: İn vitro Fertilizasyon
IVM	: İn vitro Maturasyon
IUI	: İntrauterin İnseminasyon
KOH	: Kontrollü Ovaryan Hiperstimölasyon
LH	: Luteinizan Hormon
LOX	: Lipooksijenaz
MMP	: Matris metaloproteinazlar
NF-κB	: Nökleer Faktör-Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
OD	: Ovaryan drilling
OHSS	: Ovaryan Hiperstimölasyon Sendromu
OMI	: Oosit Maturasyonunu Engelleyici Faktör
OVRAS	: Ovarian Renin-Angiotensin Sistem
P4	: Progesteron
PCT	: Postkoital Test
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PEDF	: Pigment Epiteli Kaynaklı Faktör
PG	: Prostaglandin
PGC	: Primordial Germ Hücreleri
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
PRL	: Prolaktin
QUR	: Quersetin (Kuersetin)
RAS	: Renin Anjiotensin Sistemi
SER	: Granülsüz (düz) endoplazmik retikulum
TGF	: Transforme Büyüme Faktörü

TIMP	: Matris metaloproteinazların doku inhibitörleri
TNF-α	: Tümör Nekrotizan Faktör-alfa
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VPF	: Vasküler Geçirgenlik Faktörü
ZIFT	: Zigot Intrafallop Transferi
ZP	: Zona Pellusida
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Dişi üreme organlarının şematik görünümü (Ross ve Pawlina, 2016).....	5
Şekil 2. Ovaryum anatomisi.....	6
Şekil 3. Primordiyal germ hücreleri embriyolojisi (Moore ve diğerleri, 2016).....	21
Şekil 4. Hipotalamus-hipofiz-ovaryum (HPG) aksı.....	35
Şekil 5. OHSS klinik yaklaşım diyagramı	39
Şekil 6. RAAS (Renin-Anjiotensin-Aldosteron Sistemi) ve prostaglandinlerin OHSS'deki rolü	43
Şekil 7. Quercetin ve türevlerinin anti-inflamatuar mekanizmaları.....	55
Şekil 8. Grupların ovaryum ağırlık grafiğine göre karşılaştırılması.....	71
Şekil 9. Grupların ovaryum çapı grafiğine göre karşılaştırılması.....	73
Şekil 10. Grupların vasküler permeabilite grafiğine göre karşılaştırılması.....	75
Şekil 11. Gruplara ait TAS, TOS ve OSI sonuç grafiği.....	80
Şekil 12. Grupların VEGF immünohistokimyasal H skor sonuçlarına göre karşılaştırılması.....	86
Şekil 13. Grupların COX-2 immünohistokimyasal H skor sonuçlarına göre karşılaştırılması.....	93
Şekil 14. Grupların PEDF immünohistokimyasal H skor sonuçlarına göre karşılaştırılması.....	100
Şekil 15. Grupların vasküler permeabilite grafiğine göre karşılaştırılması.....	106

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Ovaryum histolojisinde medulla ve korteks yerleşimi (4X).....	8
Resim 2. Primordiyal folikül	10
Resim 3. Çok Tabakalı (Geç)Primer Folikül (40X).....	11
Resim 4. Sekonder Folikül (Antral Folikül) (mavi yıldız) (20X).....	12
Resim 5. Tersiyer (Olgun=Matür) (Graaf) Folikül (20X), korona radiata (mavi altı nokta yıldız işareti).....	13
Resim 6. Dejenere ya da atretik foliküller (mavi yıldız işaretleri) (10X).....	14
Resim 7. Korpus luteum (10X).....	15
Resim 8. Juguler venden Evans Blue uygulaması	60
Resim 9. Ovaryum çaplarının Image j ile ölçümü, H&E, 4X.....	66
Resim 10. Kontrol grubu ovaryum H&E boyama görüntüleri.	74
Resim 11. OHSS grubu ovaryum H&E boyama görüntüleri.	75
Resim 12. Quercetin ve Cabergolin grupları H&E boyama görüntüleri.	76
Resim 13. OHSS+Quercetin grubu H&E boyama görüntüleri.....	77
Resim 14. OHSS + Cabergolin grubu grubu H&E boyama görüntüleri.	78
Resim 15. Kontrol grubu over dokusu MT boyaması.	82
Resim 16. OHSS grubu over dokusu MT boyaması.....	83
Resim 17. Quercetin ve Cabergolin grubu MT boyaması.	84
Resim 18. OHSS+Quercetin grubu (Şekil A-B) ve OHSS+Cabergolin grubu (Şekil C-D) MT boyaması.	85
Resim 19. Kontrol grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	87
Resim 20. OHSS grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	88
Resim 21. Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)	89
Resim 22. Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)	90
Resim 23. OHSS+Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	91

Resim 24. OHSS+Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	92
Resim 25. Kontrol grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)	94
Resim 26. OHSS grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	95
Resim 27. Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)	96
Resim 28. Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)	97
Resim 29. OHSS+Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	98
Resim 30. OHSS+Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	99
Resim 31. Kontrol grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	101
Resim 32. OHSS grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	102
Resim 33. Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)	103
Resim 34. Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)	104
Resim 35. OHSS+Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	104
Resim 36. OHSS+Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm).....	105

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. OHSS sınıflandırması	38
Tablo 2. Deney grupları ve deney protokolü	59
Tablo 3. Doku takip protokolü.....	63
Tablo 4. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü	64
Tablo 5. Ovaryum ağırlıkları tablosu.....	69
Tablo 6. Gruplar arası ovaryum ağırlık değişimi için Dunn's post hoc testi sonuçları ..	70
Tablo 7. Grupların ovaryum çapları	72
Tablo 8. Gruplar arası ovaryum çapları için Dunn's post hoc testi sonuçları	72
Tablo 9. Deney gruplarına ait folikül sayıları	78
Tablo 10. Deney gruplarına ait VEGF İmmünohistokimyasal H Skor Sonuçları.....	86
Tablo 11. Deney gruplarına ait COX-2 İmmünohistokimyasal H Skor Sonuçları	92
Tablo 12. Deney gruplarına ait PEDF İmmünohistokimyasal H Skor Sonuçları	99
Tablo 13. Grupların vasküler permeabilite sonuçları	106
Tablo 14. Grupların renal fonksiyon testleri sonuçları	107
Tablo 15. Grupların karaciğer fonksiyon testleri(ALT-AST) sonuçları	109
Tablo 16. Grupların Tnf Alfa ve Estradiol sonuçları	110
Tablo 17. Grupların TAS, TOS ve OSI sonuçları.....	111

ÖZET

DENEYSEL OVARYAN HİPERSTİMULASYON SENDROMU (OHSS) MODELİNDE QUERCETİN VE CABERGOLİN'İN ETKİLERİNİN OVERLERDE YAPISAL VE BİYOKİMYASAL DÜZEYDE KARŞILAŞTIRILMASI

Gazezoğlu O.U. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) ABD Doktora Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2025.

Amaç: Bu araştırma OHSS oluşturulmuş ratlarda Quercetin ve Cabergolin'in overlerde yapısal ve biyokimyasal etkilerini incelemek ve karşılaştırmak amacı ile yapıldı.

Gereç ve Yöntem: İmmatür dişi 22 günlük 30-50 gr, 42 adet Wistar albino türü dişi sıçan rastgele 6 gruba (Kontrol, OHSS, Quercetin, Cabergolin, Quercetin uygulanmış OHSS modeli, Cabergolin uygulanmış OHSS modeli) ayrıldı. Sol ovaryum dokuları morfolojik olarak ovaryum ağırlık ve çapı ölçümü ile, histolojik olarak H&E ve VEGF, PEDF, COX-2 için immünohistokimyasal yöntemler ile değerlendirildi. Evans Blue ile vasküler permeabilite ölçümü spektrofotometrik olarak yapıldı, serum Tnf- α ve Estradiol seviyeleri ELISA yöntemi ile belirlendi. Sağ ovaryumlardan dokuda TAS ve TOS analizi yapıldı. Verilerin analizinde One Way ANOVA ve Kruskal Wallis testleri kullanıldı, alt grup analizleri Games-Howell post hoc testi ve Dunn's post hoc testi ile yapıldı.

Bulgular: OHSS grubu ovaryumlarında ağırlık ve çapın diğer gruplara göre belirgin şekilde artmış olduğu gözlemlendi. Bu artışa rağmen Cabergolin ve Quercetin uygulanan tedavi gruplarıyla arasında farklılık gözlemlenmedi. OHSS grubunda gelişmekte olan foliküllerin ve graaf foliküllerin azalması ile birlikte korpus luteum, kistik ve atretik foliküllerin arttığı gözlemlendi. Deney grupları ile OHSS grubu arasında folikül değişiklikleri açısından sayısal farklılık varken istatistiksel fark gözlemlenmedi. İmmünohistokimya sonuçlarına göre, OHSS grubunda granüloza hücrelerinde VEGF ve COX-2 artışı görülürken PEDF seviyelerinin düştüğü belirlendi. OHSS ile tedavi uygulanan gruplar arasında VEGF ve COX-2 açısından fark bulunmazken PEDF artışı bakımından OHSS+Cabergolin grubu etkin bulundu. Çalışmamızda, vasküler permeabilitenin azaltılmasında OHSS+Quercetin grubunun, OHSS+Cabergolin grubuna göre istatistiksel olarak daha etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışma bulgularımıza göre, TNF- α ekspresyonunun baskılanmasında OHSS + Cabergolin grubunun, OHSS + Quercetin grubuna göre daha etkili

olduğu belirlenmiştir. Estradiol düzeyleri, OHSS + Quercetin grubunda, OHSS + Cabergolin grubuna kıyasla anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur.

Sonuçlar: Bu  alışmada, Quercetin'in vasküler permeabiliteyi azaltma açısından Cabergolin'e göre daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Diğer değerlendirme parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olsada, Quercetin'in OHSS semptomlarını hafifletici etkisi dikkat çekicidir. Elde edilen bulgular, Quercetin'in terapötik potansiyeline işaret etmekle birlikte, bu etkinin daha net ortaya konulabilmesi için ileri düzey, geniş örneklemlili ve kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Cabergolin, COX-2, OHSS, Quercetin, VEGF

ABSTRACT

COMPARISON OF THE EFFECTS OF QUERCETIN AND CABERGOLINE ON THE STRUCTURAL AND BIOCHEMICAL LEVELS OF THE OVARIES IN AN EXPERIMENTAL OVARIAN HYPERSTIMULATION SYNDROME (OHSS) MODEL

**Gazezoglu O.U. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences,
Department of Histology and Embryology (Medicine) PhD Program, PhD Thesis, Aydın,
2025.**

Objective: This study was conducted to investigate and compare the structural and biochemical effects of Quercetin and Cabergolin on ovaries in rats with OHSS.

Materials and Methods: Forty-two female Wistar albino rats between 30–50 g at 22 days of age were randomly divided into six groups (Control, OHSS, Quercetin, Cabergolin, OHSS model treated with Quercetin, OHSS model treated with Cabergolin). Left ovarian tissues were evaluated morphologically by measuring ovarian weight and diameter, and histologically by immunohistochemical methods for H&E, VEGF, PEDF, and COX-2. Vascular permeability was measured spectrophotometrically using Evans Blue, and serum Tnf-alpha and estradiol levels were determined by the ELISA method. TAS and TOS analyses were performed on tissue from the right ovaries. One-way ANOVA and Kruskal-Wallis tests were used for data analysis, and subgroup analyses were performed using the Games-Howell post hoc test and Dunn's post hoc test.

Results: The OHSS group showed a significant increase in ovarian weight and diameter compared to other groups. Despite this increase, no difference was observed between the treatment groups receiving Cabergoline and Quercetin. In the OHSS group, a decrease in developing follicles and Graafian follicles was observed, along with an increase in corpus luteum, cystic, and atretic follicles. There was a numerical difference between the experimental groups and the OHSS group in terms of follicular changes, but no statistical difference was observed. According to immunohistochemistry results, an increase in VEGF and COX-2 was observed in granulosa cells in the OHSS group, while PEDF levels were found to be decreased. While there was no difference between the groups treated with OHSS in terms of VEGF and COX-2, the OHSS+Cabergolin group was found to be effective in terms of PEDF increase. In our study, it was determined that the OHSS+Quercetin group was statistically more effective

than the OHSS+Cabergolin group in reducing vascular permeability. According to our findings, the OHSS + Cabergolin group was more effective than the OHSS + Quercetin group in suppressing TNF- α expression. Estradiol levels were found to be significantly lower in the OHSS + Quercetin group compared to the OHSS + Cabergolin group.

Conclusions: In this study, it was observed that Quercetin was more effective than Cabergolin in reducing vascular permeability. Although no statistically significant difference was detected in other evaluation parameters, Quercetin's effect in alleviating OHSS symptoms is noteworthy. The findings indicate Quercetin's therapeutic potential; however, further advanced, large-scale, and controlled studies are required to more clearly demonstrate this effect.

Keywords: Cabergolin, COX-2, OHSS, Quercetin, VEGF

1. GİRİŞ

İnfertilite, bir yıl boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi durumu olarak tanımlanmakta olup, dünya genelinde çiftlerin yaklaşık %12 ila %30'unu etkilediği tahmin edilmektedir (Boivin ve diğerleri, 2007). 2010 yılında Robert Edwards, tüp bebek tedavisinin geliştirilmesi konusundaki çalışmalarından dolayı Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür (Gearhart ve Coutifaris, 2011). Küresel ölçekte, infertilite tedavilerinden biri olan in vitro fertilizasyon (IVF) uygulamalarının, son 40 yıl içerisinde 8 milyondan fazla canlı doğumla sonuçlandığı tahmin edilmektedir (Fauser,2019).

Mevcut IVF tedavisindeki süreçlerin çoğu, fizyolojik insan menstrüel döngüsü sırasında meydana gelenlerle eşleşir. Bu süreçte foliküler gelişim, oosit olgunlaşması/ovulasyon, embriyo oluşturmak için sperm tarafından dölleme ve ardından maternal endometriyuma implantasyon aşamalarından oluşur (Abbara ve diğerleri, 2018). Bununla birlikte, IVF tedavisi sırasında, fizyolojik menstrüel döngü sırasında gelişen 1-2 folikül ile karşılaştırıldığında, birkaç oositin cerrahi olarak alınmasını sağlamak için çoklu over foliküllerinin büyümesini indükleyici suprafizyolojik dozlarda uyarıcı hormonlar gerekir (Nel-Themaat ve Nagy, 2011). Suprafizyolojik uyarı derecesine bağlı olarak IVF tedavisi sırasında Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS) ve çoğul gebelik dahil olmak üzere potansiyel riskler gelişebilir.

IVF sırasında, ovaryumlarda multifoliküler büyümeyi indüklemek için Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) içeren bir preparatın farmakolojik dozu kullanılır (Abbara ve diğerleri, 2019). Kompetitif bir Gonadotropin Relasing Hormon antagonisti (GnRHant) kullanılarak veya bir GnRH agonistinin (GnRHa) kronik olarak uygulanmasıyla erken bir Luteinizan Hormon (LH) dalgalanmasının önüne geçilerek prematür ovulasyon önlenir (Abbara ve diğerleri, 2018). Bu durum foliküllerin gerekli boyuta büyümesine izin verirken, ovulasyonun erken oluşmasını önler. 17-18 mm'lik 2-3 foliküle ulaşıldığında, oositleri olgunlaştırmak ve cerrahi olarak toplanmasını sağlamak amacıyla, gerekli olan LH benzeri maruziyeti sağlamak için oosit olgunlaşmasının hormonal bir indüktörü kullanılır (Voronina ve Wessel, 2003). Uzun yarı ömrü, uzun süreli hücre içi etki süresi ile güçlü LH reseptör aktivitesi nedeniyle, LH benzeri etkiyi sağlayan Human Koryonik Gonadotropin (hCG)'nin OHSS'nin başlıca iyatrojenik nedeni olduğu kabul edilmektedir (Abbara ve diğerleri, 2018).

OHSS, over stimölasyonu ile ilişkili potansiyel olarak ciddi bir komplikasyondur. Genellikle çoklu foliküler ovaryum yanıtı elde etmek amacıyla uygulanan eksojen gonadotropinlerin kullanımı ile bağlantılı olarak gelişir. Belirgin OHSS insidansının IVF döngülerinin %0,5 ila %5'i arasında olduğu tahmin edilmektedir (Delvigne ve Rozenberg, 2002). Bu oran yüksek riskli kadınlarda %10'a kadar çıkabilir (Nastri ve diğerkleri, 2010).

OHSS'nin ciddiyetini sınıflandırmak için çeşitli şemalar önerilmiştir. Tarihsel olarak OHSS, hafif, orta ve şiddetli formlara karşılık gelen üç kategori ve altı dereceye ayrılmıştır (Golan ve diğerkleri, 1989; Humaidan ve diğerkleri, 2016; Navot ve diğerkleri, 1992). Hafif formdaki OHSS, yüksek serum 17-β estradiol (E2) ve progesteron (P4) düzeyleri ile karakterize edilen ve genellikle hafif derecede büyümüş ovaryumların eşlik ettiği “kimyasal OHSS” tablosunu yansıtmaktadır. Orta şiddetteki OHSS, bulantı, kusma ve ishalin yanı sıra abdominal şişkinlik, distansiyon ve rahatsızlık hissi ile karakterizedir. Bu formda ovaryumlar belirgin şekilde büyümüştür. Şiddetli formdaki OHSS'de ovaryum çapları sıklıkla 12 cm'nin üzerindedir ve genellikle masif asit varlığı ile karakterizedir. Daha nadir olarak hidrotoraks ve/veya perikardiyal efüzyon eşlik edebilir. Ayrıca, böbrek fonksiyon bozukluğu ve hemokonsantrasyon gibi komplikasyonlar da azımsanmayacak sıklıkta görülebilmektedir. Revize edilen sınıflamada jeneralize ödem (anazarka tarzı) ve karaciğer disfonksiyonu şiddetli OHSS'nin klinik bulguları arasında yer almaktadır (Humaidan ve diğerkleri, 2016; Balasch ve diğerkleri, 1990; Zivi ve diğerkleri, 2010). Şiddetli formun belirtilerine ek olarak; Yetişkin Respiratuar Distres Sendromu (ARDS), yaygın asit, tromboemboli, masif hidrotoraks, sepsis OHSS'nin kritik, yaşamı tehdit eden formunun işaretleridir (Humaidan ve diğerkleri, 2016; Zivi ve diğerkleri, 2010; Ryley ve diğerkleri, 1990).

OHSS'nin kesin patogenezi belirsizdir, ancak FSH ile supra-fizyolojik ovaryum uyarısının arka planında hCG'ye yanıt olarak üretilen proinflamatuvar araçları içerdiğine inanılmaktadır. OHSS'li kadınlarda ovaryum büyümesi ve artmış vasküler geçirgenlik görülür. İntravasküler dehidratasyon ile vasküler kompartmandan üçüncü boşluğa sıvı kaybı olur. OHSS'nin klinik özellikleri bu patofizyolojiyi yansıtır ve durum ciddiyetine bağlı olarak çeşitli belirtilerle ortaya çıkabilir (Delvigne ve Rozenberg, 2002; Elchalal ve Schenker, 1997). Proteinden zengin sıvının ekstrasvasküler alana kayması, intravasküler hacim azalmasına, hemokonsantrasyona, tromboembolik olaylara, hipovolemiye, elektrolit dengesizliğine, renal ve hepatik disfonksiyona neden olabilir (Elchalal ve Schenker, 1997). Gözlenen intravasküler sıvı kaybı sıklıkla asit ve/veya plevral efüzyona yol açabilir (Delvigne ve Rozenberg, 2002).

Artmış vasküler geçirgenlik mediyatörleri olarak; ovaryan renin-anjiyotensin sistemi, Prostaglandinler, LH ve hCG, Histamin, Sitokinler, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF), Pigment Epiteli Kaynaklı Faktör (PEDF) başlıca araçlar olarak tespit edilmişlerdir (Nastri ve diğerleri, 2010; Blumenfeld, 2018). VEGF; over hipersekresyonu, anjiyogenez ve vasküler permabilitede gözlenen artışlarda önemli rol oynayan başlıca nedensel faktör olarak tanımlanmıştır. Sitokin VEGF diğer adıyla Vasküler Geçirgenlik Faktörü (VPF), güçlü anjiyojenik, endotelial hücreye özgü mitojenik ve vasküler geçirgenliği artırıcı aktivitelere sahip bir heparin bağlayıcı glikoproteindir (Ferrara ve diğerleri, 1991; Ferrara ve Davis-Smyth, 1997). VEGF / VPF, luteinize insan granüloza hücreleri tarafından in vitro olarak eksprese edilir, proliferasyonu ve anjiyogenezi indüklemek için doğrudan endotel hücreleri üzerinde etki eder. Yüksek VEGF / VPF konsantrasyonları vasküler geçirgenliği artırır ve plazmanın ekstrasvazasyonuna yol açar, ardından belirgin hemokonsantrasyon oluşur (Krasnow ve diğerleri, 1996). Bu nedenle VEGF, OHSS'nin önlenmesini ve tedavisini amaçlayan mevcut tedavi rejimlerinin hedef molekülüdür.

PEDF, serin proteaz inhibitörü grubuna ait, nörotrofik ve immün modüle edici özelliklere sahip doğal bir anjiyogenez inhibitörü olarak salgılanan 50-kDa glikoproteindir (Crawford, 2013). PEDF, güçlü proanjiyojenik faktörlerin uyarıcı aktivitesini baskılar ve endotel hücre aktivitesi üzerindeki VEGF etkisini baskılayabilir. Bu nedenle, PEDF ve VEGF arasındaki dengenin fizyolojik over fonksiyonunu düzenlediği ve bu iki antagonistik düzenleyici arasındaki dengeyi kurarken hCG veya LH tarafından modüle edilebileceği görülmektedir (Chuderland ve diğerleri, 2013).

Flavonoidler, çok çeşitli sebze ve meyvelerde bulunan doğal olarak oluşan bileşikler olarak kabul edilir ve çeşitli biyolojik sistemler üzerinde avantajlı etkiler sergilerler. Quercetin, en önemli flavonoid bileşiklerinden birini temsil eder ve antiinflamatuvar, antikarsinojenik, antiviral ve antialerjik özellikleri ile çok sayıda fizyolojik sistemi etkilediği belgelenmiştir. Son araştırmalar özellikle bu bileşiklerin antioksidan aktivitesini vurgulamaktadır (Hertog ve Hollman, 1996). Yapılan araştırmalar sonucunda, quersetin'in lipopolisakkarit ile uyarılmış BV-2 mikrogliya hücrelerinde Nitrik Oksit (NO) ve Tnf- α (Tümör Nekrotizan Faktör-alfa) üzerinde inhibe edici bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Mrvová ve diğerleri, 2015). Ramyaa ve ark. yapmış olduğu başka bir araştırmada ise quersetin'in okratoksinle uyarılmış HepG2 (insan hepatoma) hücrelerinde Siklooksijenaz-2 (COX-2) ve Nükleer Faktör-Kappa B (NF- κ B) ekspresyonunu ve NO üretimini azalttığı rapor edilmiştir (Ramyaa, 2014). Diğer araştırmalarda ise quersetin'in İnterlökin 1 Beta (IL-1 β), İnterlökin-6 (IL-6), Interferon-Gama (IFN- γ)

aracılarını baskıladığı gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2022). Quersetin, anti-inflamatuar etkilerini, prostaglandinler ve lökotrienler gibi inflammatuar medyatörlerin sentezinde rol oynayan siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz (LOX) gibi enzimlerin aktivitesini inhibe ederek gösterir (Gaytán ve diğerleri, 2006). Quercetin, bu inflammatuar mediatörlerin seviyelerini azaltarak inflammatuar yanıtın hafifletilmesine katkıda bulunur (Azeem ve diğerleri, 2023). COX-2, araşidonik asidin prostaglandinlere ve diğer eikosanoidlere dönüştürülmesinde anahtar bir enzimdir; sitokinler, büyüme faktörleri dahil olmak üzere çeşitli faktörler tarafından indüklenir. COX-2 aktivasyonu ve artan prostaglandin seviyeleri, VEGF üretiminde artma ve anjiyogenez ile ilişkilendirilmiştir (Soares, 2012). Quersetin'in COX-2'ye yüksek bağlanma afinitesi güçlü bir antiinflammatuar ajan olabileceğini düşündürmektedir. COX-2'nin inhibe edilmesi inflamasyon ile ilişkili ağrı, şişlik ve ateş gibi semptomların azalmasına da yol açar. COX-2, OHSS'de görülen vasküler değişikliklere katkıda bulunabilecek enflamatuar yanıtta yer alır (Lamazou ve diğerleri, 2011). COX-2'yi OHSS patogenezinin bağlayan doğrudan kanıtlar sınırlı olsada, inflamasyondaki rolü semptomların şiddetini etkileyebileceğini düşündürür (Rizk ve diğerleri, 1997).

Cabergolin (CAB), düşük dozlu bir dopamin reseptörü 2 (Dp-R2) agonistidir. VEGF-VEGF reseptörü 2 fosforilasyonunu ve ilişkili vasküler geçirgenliği kısmen inhibe eder (Carizza ve diğerleri, 2008). Profilaktik olarak uygulandığında CAB, oosit olgunlaşmasını, fertilizasyon oranlarını ve klinik sonuçları olumsuz etkilemeden OHSS riskini azaltabilmektedir (Seow ve diğerleri, 2013).

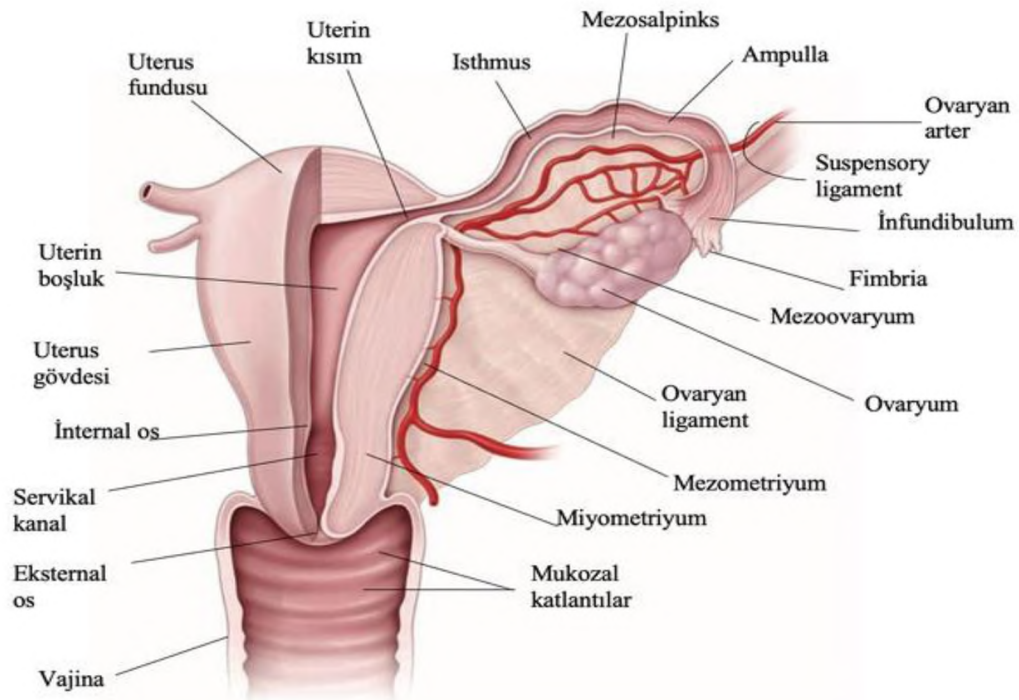
Bu çalışmada, deneysel OHSS modeli oluşturulmuş sıçanlarda, Cabergolin ve Quercetin'in overlerde anjiyogenez ve inflamasyonla ilişkili olası komplikasyonları önleme potansiyelini değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, morfolojik, histolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal parametreler kullanılarak her iki ajan karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ovaryum

Kadın genital sistemi, iç ve dış genital organlardan oluşur. İç genital organları oluşturan yapılar; bilateral olmak üzere 2 ovaryum, 2 tuba uterina (fallop tüpü), uterus ve vajinadır. Dış genital organlar klitoris, vestibulum, labium major, labium minor ve mons pubis'den oluşur (Şekil-1). Kadın üreme sisteminin birincil işlevi türlerin devamlılığını sağlamaktır ve bu sistem karmaşık hormonal, nöral ve fizyolojik faktörler tarafından kontrol edilir (Gartner ve Hiatt, 2014).

Ovaryumlar, pelvik boşluğun üst kısmında yer alan badem şeklinde oval organlardır. Dişi gametlerin üretimi, östrojen ve progesteron sentezi, postnatal üreme organlarının kontrolü, sekonder cinsiyet özelliklerinin gelişimi en temel görevleridir (Kierszenbaum ve Tres, 2020). Ovaryumlar, birbiri ile ilişkili iki süreçten sorumludur. Bunlar “oogenez” ve “steroidogenez” dir. Oogenez; oositlerin üretimini, steroidogenez ise steroid hormonların üretimini tanımlamaktadır.



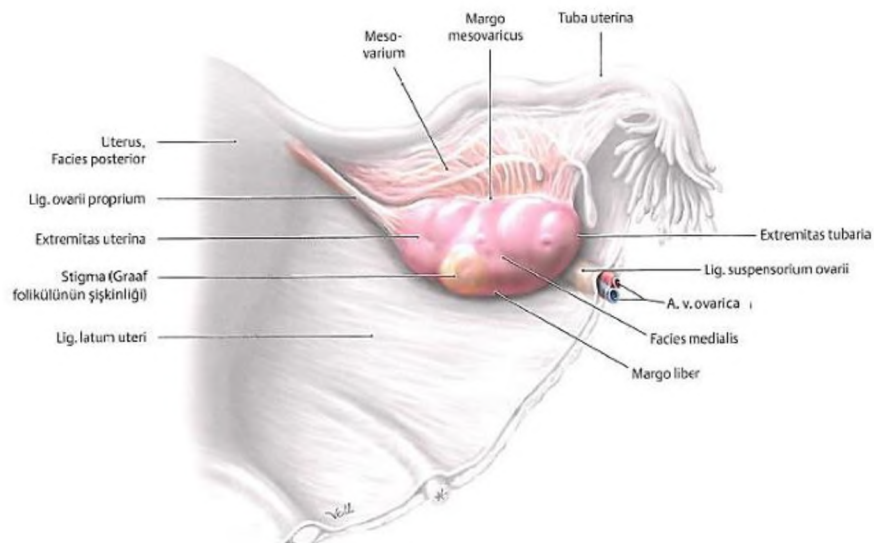
Şekil 1. Dişi üreme organlarının şematik görünümü (Ross ve Pawlina, 2016)

Östrojen, hem iç hem de dış genital organların büyümesini ve olgunlaşmasını ve puberte döneminde sekonder cinsiyet özelliklerin ortaya çıkmasını sağlayan önemli bir hormondur. Eşzamanlı olarak, östrojen, duktal ve stromal büyüme ile birlikte yağ dokusunun birikimini teşvik ederek, meme bezi üzerinde etki gösterir. Progesteron, sekretuar değişimleri başlatarak uterusun endometriyal tabakasını olası bir gebelik için hazırlar. Ayrıca, meme bezlerinde lobüler proliferasyonu tetikleyerek glandüler dokunun laktasyona uygun hale gelmesine katkı sağlar (Ross ve Pawlina, 2016).

2.1.1. Ovaryum Anatomisi

Overler, kadınların temel üreme organı olup üreme hücresi olan "oosit"i üreten bir çift organdır. Uterusun her iki tarafında fossa ovarica adı verilen çukurlara yerleşmiş ve 2,5-3,5 cm uzunluğunda 1,5-3 cm genişliğinde ve 3-5 gram ağırlığındadırlar. Facies lateralis ve facies medialis olarak iki yüzü, margo liber ve margo mesoovaricus olmak üzere iki kenarı, extremitas tubaria ve extremitas uterina olarak iki ucu vardır.

Tuba uterina yakınında bulunan ovaryumlar, mezovarium ile ligamentum latum uterinin arka yüzüne, ligamentum ovarii proprium ile de uterus yan duvarlarına bağlıdır. Ovaryumun ön kısmında umbilikal ligament bulunurken, arka kısmında üreter ve internal iliyak arter bulunur. Süspansör ligament, ovaryumu pelvik duvara bağlar. Ovaryan arter, ven, parasempatik ve sempatik sinir pleksusları süspansör ligament tarafından taşınmaktadır (Şekil 2) (Schünke ve diğerleri, 2009).



Şekil 2. Ovaryum anatomisi

Uterin arterin ovaryan dalı, infundibulopelvik ligaman üzerinden ovaryumun mezoovaryal sınırında anastomoz yapar. Ovaryum hilusundan yaklaşık on arterial dal ile medullaya girer (Clement, 2002; Reeves, 1971). Ovaryumların kanlanması hem ovaryan arterler hem de uterin arterler tarafından gerçekleştirilir. Ovaryan arter, renal arterin altındaki abdominal aort veya L2 seviyesinden başlar. Ovaryan arter, ligamentum suspensory ovari boyunca ilerleyerek mezoovaryuma girer. A. ovarica broad ligament içinde a. uterina ile anastomoz oluşturur (Ying ve diğerleri, 2019). Bu anastomoz yapısına ait bölgeden kaynaklanan ve diğerlerine göre daha büyük olan bu damarlar mezovaryumdan geçip, hilum ovari'yi kanlandırırlar. Overe arter, hilum ovari'den girer; foliküllerin çevresinde zengin kapiller ağı oluşturur (Çelik, 2011). Ovaryumun venleri arterleri takip ederek hilusta bir araya gelip plexus pampiniformis'i oluşturarak ovaryan venlere drene olurlar. Sağ ovaryan ven v. cava inferior'a, sol ovaryan ven v. renalis'e drene olur (Yıldırım, 2013).

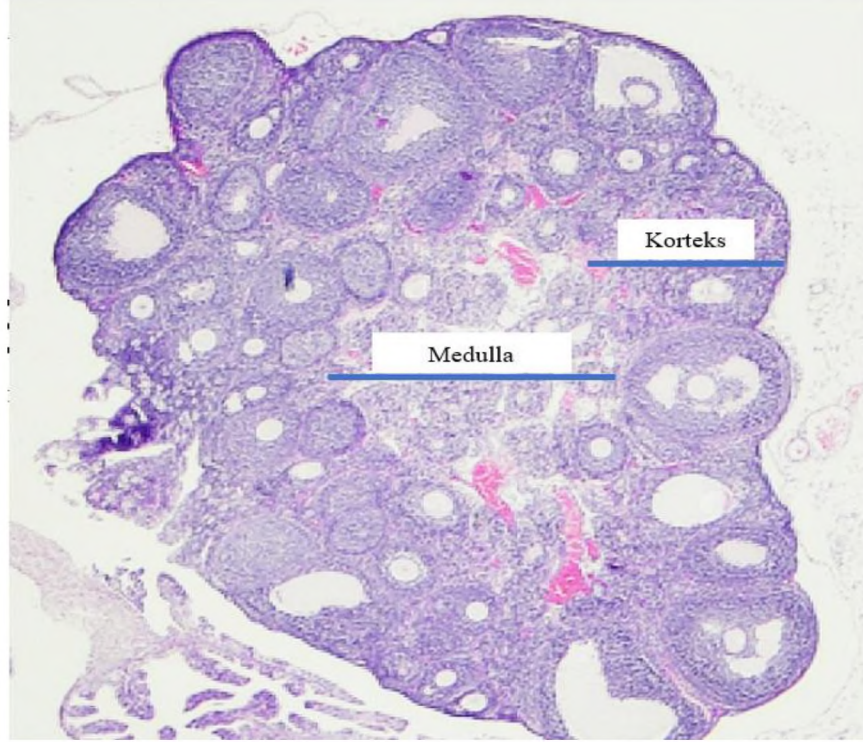
Ovaryum lenfatikleri genellikle foliküllerin teka tabakalarından başlar. Olgun foliküllerin granüloza tabakaları lenfatiklerden yoksun olmasına rağmen korpus luteumda yoğun bir lenfatik ağ bulunmaktadır (Clement, 2002; Reeves, 1971; Sternberg, 1997). L2 seviyesinde paraaortik lenf nodlarına ovaryum lenflerinin çoğu drene olur (Hallas-Potts ve diğerleri, 2019).

Ovaryum innervasyonu, infundibulopelvik ligamentin damarlarına eşlik eden sempatik plexustan kaynaklanır. Plexus, onuncu torasik segment seviyesinde ortaya çıkar ancak renal ve aortik plexusların yanı sıra mezenterik ve çölyak ganglionlarından gelen lifler de mevcuttur (Yıldırım, 2013).

2.1.2. Ovaryum Histolojisi

Ovaryum dıştan peritoneum ile çevrilidir. Periton örtünün görünümü yaş ilerledikçe değişiklik gösterir. Reprodüktif çağda daha düz bir yüzeye sahip, pembe-beyaz renkte, berrak foliküllerin görüldüğü bir yapı gösterirken yaşın ilerlemesi ve menstrüel düzenleme ile birlikte tekrarlayan ovulasyonlar yüzeyin solid nodüler bir görünümde olmasına sebep olur (Ross ve Pawlina, 2016). Over ile mezoovaryum arasında yer alan hilus, damarları, sinirleri ve steroidogeneze aktif hale gelme özelliği olan hilus hücrelerini içerir (Fritz ve Speroff, 2007). Overlerin yüzeyi tek katlı yassı ya da kübik *epitelyum germinativum*'dan oluşur, bu epitel tabakası yaşla birlikte inceler. Epitelin apikal ucunda periton boşluğuna bakan kısmında

mikrovilluslar gözlenir (Seidman ve diğerleri, 2011). Bu epitelin altında overin dış yüzeyine beyazımsı rengi veren yoğun kollagen liflerin oluşturduğu sıkı bir bağ dokusu tabakası olan tunika albuginea tabakası bulunur (Eşrefoğlu, 2022). Tunika albugineanın altında histolojik olarak ayırım gösteren iki tabaka vardır. Sınırları net ayırt edilemeyen bu iki tabakanın dış kısmı korteks, iç kısım ise medulla olarak adlandırılır (Resim-1).



Resim 1. Ovaryum histolojisinde medulla ve korteks yerleşimi (4X)

2.1.2.1. Ovaryum Korteksi

Ovaryum korteksi, her biri tek bir oosit içeren ve farklı gelişim evrelerindeki ovaryum foliküllerinden zengin olup, bu foliküller çeşitli boyutlarda kortikal stromanın içine dağılmış şekilde yerleşmiştir. Buna karşılık, medulla bölgesi, yoğun vaskülarizasyon gösteren bağ dokusu yapıları ile karakterizedir (Bjersing ve Cajander, 1975). Ovaryum stroması ovaryumun büyük kısmını oluşturan bağ dokusudur. Temelde stromada iğsi şekilli, dar sitoplazmalı fibroblastlar bulunmaktadır. Stromal korteks ve periovaryan bölgelerde desidual hücreler, lipitten zengin intersitisyel hücreler ve medullada, enzimden zengin stromal hücreler yer alır (Mills, 2012).

Histolojik olarak ovaryum folikülleri korteks parankimini oluşturan temel hücrelerdir. 3 tip hücre grupları ayırt edilebilir:

-Primordial foliküller

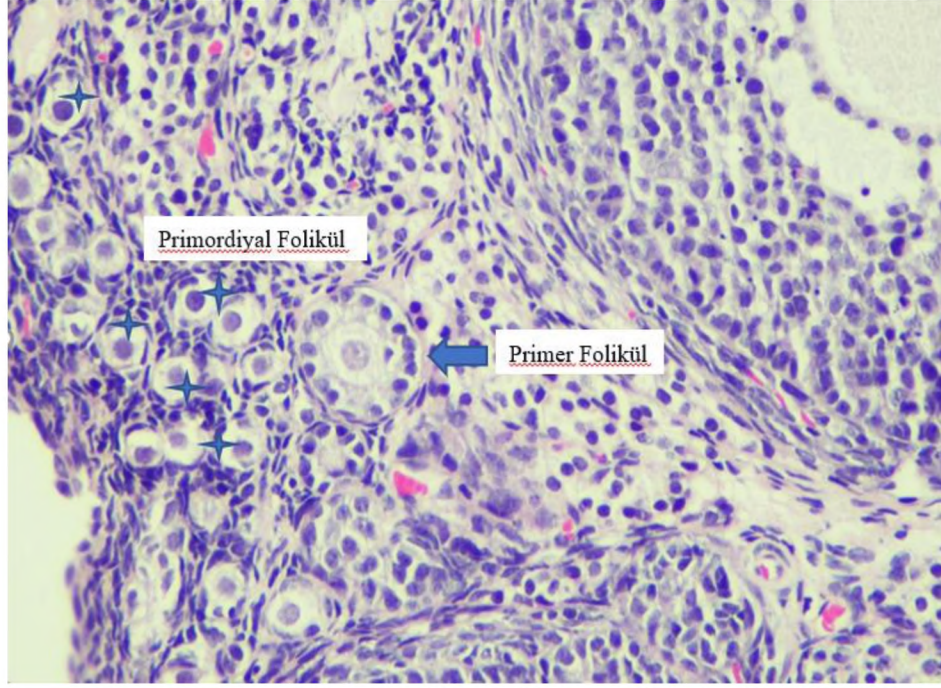
-Primer ve Sekonder foliküller (Antral Folikül) olarak alt kategorilere ayrılan gelişmekte olan foliküller

-Olgun foliküller (Graaf folikülleri)

Foliküllerin büyüklük ve sayısı kadının üreme durumuna ve yaşına göre değişkenlik gösterir (Ross ve Pawlina, 2016).

2.1.2.1.1. Ovaryum Folikülleri

Primordiyal foliküller; fetal gelişimin 3. ayında ortaya çıkarlar ve tunika albuginea'daki germinal epitelin hemen altında yer alırlar. Morfolojik olarak, her primordial folikül, “*granüloza*” veya “*folikül hücreleri*” olarak adlandırılan tek bir dış skuamöz epitel hücre katmanından ve küçük (yaklaşık 15 µm çapında) olgunlaşmamış bir *oosit*’ten oluşur; her iki hücre tipi de *bazal lamina* veya *bazal membran* adı verilen ince, hassas bir membranla çevrelenmiştir. Bazal lamina sayesinde granüloza ve oosit, diğer hücrelerle doğrudan temasın olmadığı bir mikro ortamda bulunur. Oosit ve granüloza hücreleri yerleştikleri bazal membran aracılığı ile stromadan beslenirler. Primordiyal foliküllerin yakınında zaman zaman küçük kapiller damarlar görülse de bu foliküllerin bağımsız bir kan desteği yoktur (Erickson, 1995). Büyümeyen bir primordiyal folikülün ortalama çapı 29 µm'dir. Her oosit çekirdeği açık kromatin ve belirgin bir nükleolusa sahiptir (Resim-2). Ovulasyon veya atrezi nedeniyle primordiyal foliküller tükendiğinde yoğun fibrovasküler doku tunika albugineanın belirgin özelliği haline gelir.



Resim 2. Primordiyal folikül

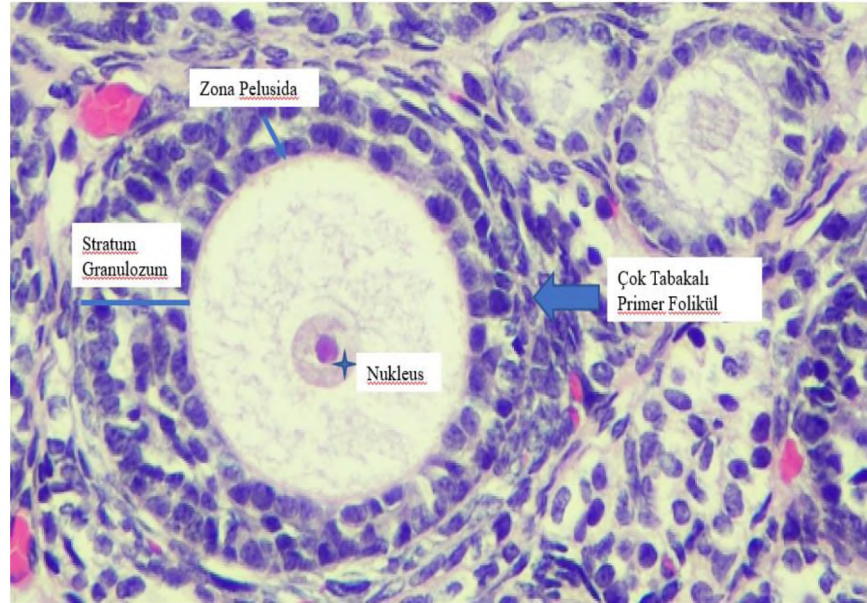
Primordiyal folikül (mavi yıldız) ve oosit çekirdeği açık kromatin ve belirgin bir nükleolusa sahip, etrafında tek katlı yassı epitel ile birlikte Tek Tabakalı (Erken) Primer Folikül (mavi ok) (40X)

Primer Foliküller:

Olgunlaşma sırasında oosit ve folikül genişler. Oositi çevreleyen yassı hücreler kübik hale gelir ve *Tek Tabakalı Primer Folikül (Erken Primer Folikül)* adını alır (Resim 2, mavi ok). Oosit büyümeye devam ederken etrafında glikoproteinden zengin bir tabaka sentezlemeye başlar. Zona Pellusida (ZP) adı verilen bu tabaka oosit ile foliküler hücreler arasındadır. Farelerde Zona Pellusida ZP-1, ZP-2 ve ZP-3 olmak üzere, büyüyen oositler tarafından sentezlenen ve bir matris oluşturan uzun fibriller halinde bir araya gelen üç glikoproteinden oluşur. Zona pellusida glikoproteinleri, spermin fertilize olmamış oositlere tür sınırlı bağlanmasından, spermin akrozomal ekzositoza uğramasına neden olmaktan ve spermin döllenmiş yumurtalara bağlanmasını önlemekten sorumludur. İnsan oositi Zona Pellusidasi, hZP1 (~100 kDa), hZP2 (~75 kDa), hZP3 (~55 kDa) ve hZP4 (~65 kDa) olmak üzere dört glikoproteinden oluşur (Wassarman, 2008).

Çok Tabakalı Primer Foliküller (Geç Primer Folikül); oositi çevreleyen tek tabakalı foliküller hızla mitozu uğrayarak küçük bazofilik granüloza hücrelerinden oluşan çok katmanlı

“stratum granulozum” ile çevrenir (Resim-3). Bu sırada folikül hücreleri, *Oosit Maturasyonunu İnhibe Edici Faktör* salgılayıp oosit bölünmesini durdururlar. Oosit de bir yandan folikül epitelinin gelişimini uyarıcı faktörler (BMP gibi) üretir (Eşrefoğlu, 2022). Folikül büyümesi sırasında granuloza hücreleri arasında gelişen gap junction (oluklu bağlantılar) hücrelerin beslenmesini sağlar (Schünke ve diğerleri, 2009). Folikül hücrelerinin ince sitoplazmik uzantıları ZP’yı delerek oosit mikrovillusları ile gap junction aracılığıyla temas eder (Kierszenbaum ve Tres, 2020). Granuloza hücreleri mitozla çoğalmaya devam ederken bazal laminanın dışında damarlanma artışıyla birlikte çevredeki stromaya ait hücreler “*Teka Folikülü*” denilen hücresel bir kılıf oluştururlar. Teka folikülü kendi içinde “*Teka Interna*” ve “*Teka Externa*” olarak iki tabakaya ayrılır. Bu dönemde folikül çapı yaklaşık 100-200 µm dir. Teka interna hücrelerinin hücre membranlarında LH reseptörü belirir ve LH uyarısı ile steroidogenez başlar, androstenedion sentezlenir. Granuloza hücreleri, ön hipofizden salınan FSH ya yanıt olarak aromataz enzimi ile androstenedionu estradiole çevirir. Granuloza hücreleri teka interna tabakasından kalın bir bazal membran ile ayrılır (Eşrefoğlu, 2022).

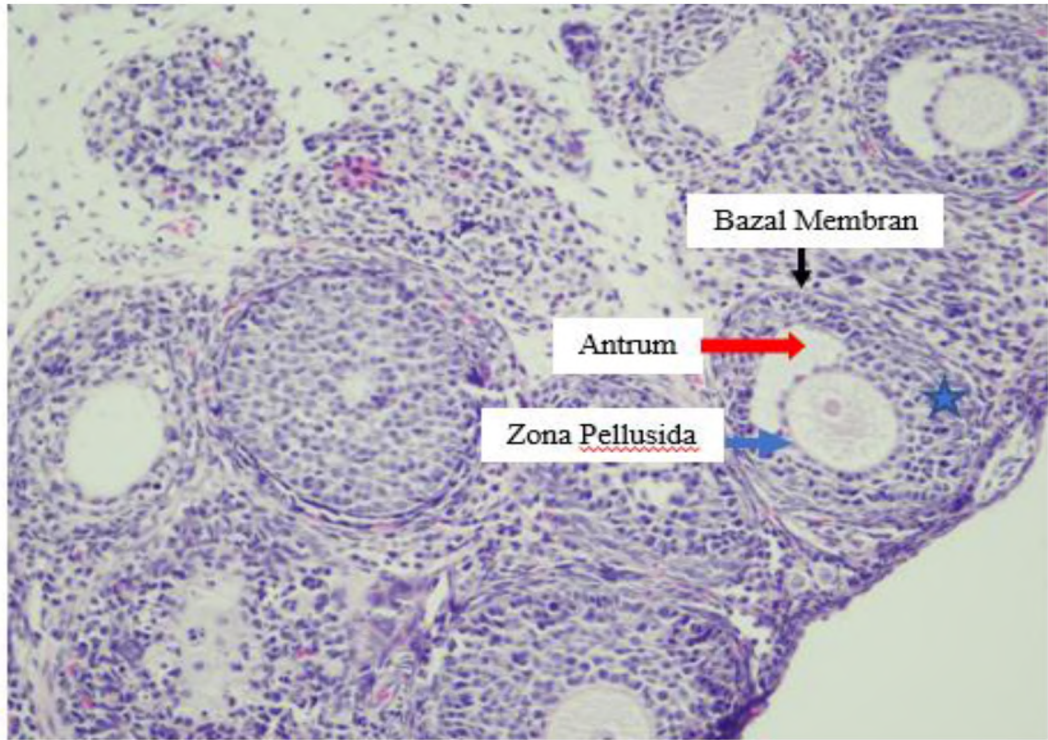


Resim 3. Çok tabakalı (geç) primer folikül (40X)

Sekonder Foliküller (Antral Folikül):

Bir sonraki aşamada, FSH etkisiyle granuloza hücreleri hızla büyüyerek kendi etraflarında folikül sıvısı oluşturmaya başlar. Folikül sıvısı kan plazmasından kaynaklanır, içeriği granuloza hücrelerinden salınan glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar ve steroid

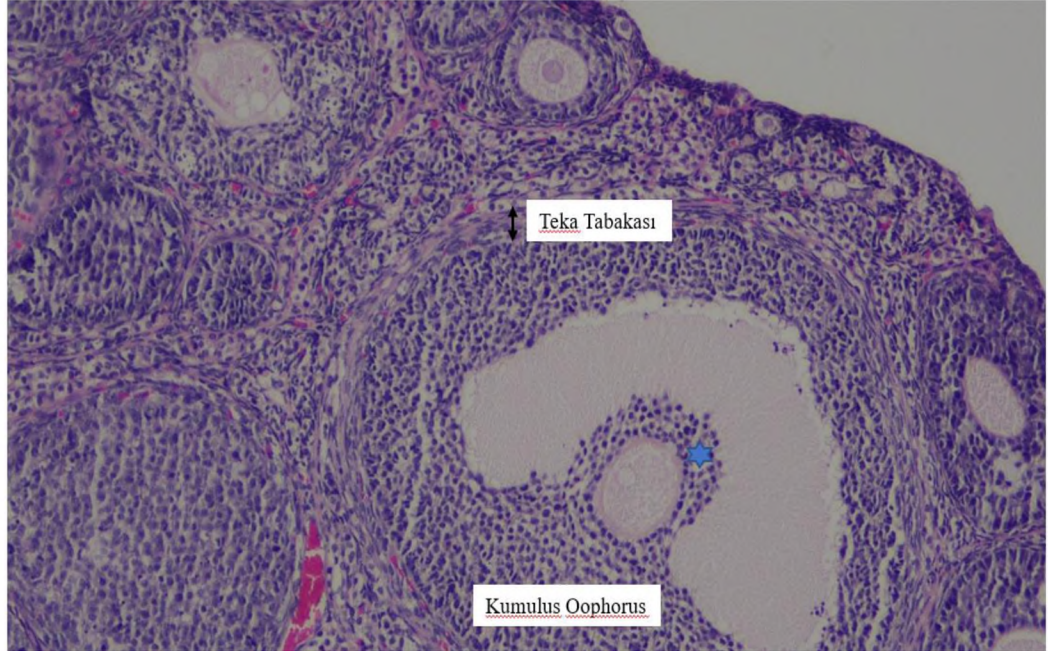
bağlayıcı proteinler açısından zengindir. “*Antrum*” adı verilen sıvı dolu bu boşluk folikülün sekonder veya antral olarak adlandırılmasını sağlar, çapı yaklaşık 500 µm'lik bir boyuta ulaşmıştır (Resim-4). Laboratuvar hayvanlarında, folikülün kendisi tarafından eksprese edilen iki protein, yani granüloza türevi kit ligand ve oosit Cx37 antrum oluşumu için gereklidir (Yoshida ve diğerleri,1997; Simon ve diğerleri, 1997). Bu proteinlerden herhangi biri yoksa, antral folikül gelişmez ve dişi infertildir. Baskın bir folikülde, granüloza ve teka hücreleri, antrumun foliküler sıvı ile dolmasıyla birlikte yaygın olarak (100 kata kadar) çoğalır. Bu nedenle, artan foliküler sıvı birikimi ve hücre proliferasyonu, döngünün foliküler fazı sırasında baskın folikülün muazzam büyümesinden sorumludur. Antral foliküllerin nispi bolluğu ve boyutları, yaşın ve adet döngüsünün bir fonksiyonu olarak değişir. Ovaryan siklus başlarında bir kadının ovaryumlarında bulunan toplam antral folikül sayısı, ovaryum rezervinin bir göstergesi gibi görünmektedir (Hendriks ve diğerleri, 2005). Bu "antral folikül sayısı" ultrason ile belirlenebilir ve infertil kadınlarda uygun tedavi protokollerini belirlemek için klinik olarak kullanılmaktadır.



Resim 4. Sekonder Folikül (Antral Folikül) (mavi yıldız) (20X)

Tersiyer (Olgun=Matür) (Graaf) Foliküller

Hızla büyüyüp etrafına antral folikül sıvısını salgılamaya başlayan granuloza hücreleri oosit etrafında kümelenerek antrum içine doğru bir noktadan yükselmeye devam ederler, oluşan bu çıkıntıya “*kümülüs oophorus*” adı verilir (Resim-5). Oosit etrafında yer alan ve zona pellucidayı sıkıca çevrelemiş olan granuloza hücrelerine “*korona radiata*” adı verilir. Antrum fazlaca genişlediğinden oosit etrafında sadece kümülüs oophorus kalır. Ovulasyona kadar Graaf folikülleri 1 cm’e kadar büyümüşlerdir. Ovaryum korteksi boyunca uzanan graaf folikül ovaryum yüzeyinde bir çıkıntıya sebep olur. Ovulasyon sırasında oosit ile korona radiata hücreleride atılır (Mescher, 2018).

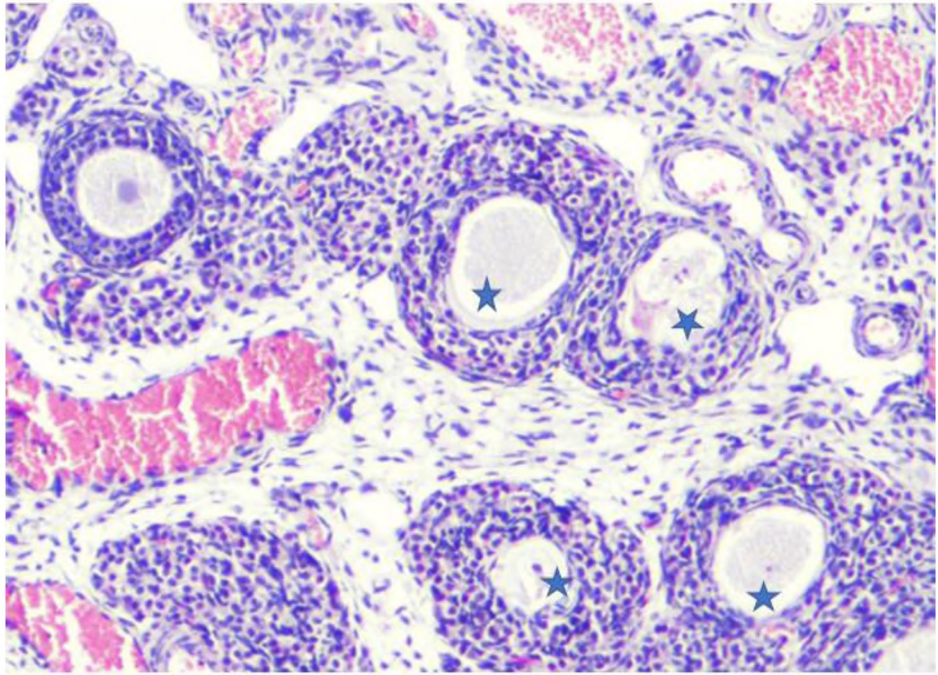


Resim 5. Tersiyer (Olgun=Matür) (Graaf) Folikül (20X), korona radiata (mavi altı nokta yıldız işareti)

Atretik Foliküller:

Memelilerde foliküllerin (oositlerin) %99,9'u atrezi nedeniyle ölür. Atrezinin temel bir özelliği, oosit ve granuloza hücrelerinde apoptozun aktivasyonudur. Apoptoz, programlanmış hücre ölümüne bağlı sinyal yollarını içeren karmaşık bir süreçtir (Danial ve Korsmeyer, 2004). Puberte sonrası herhangi bir dönemde ovaryumdan alınan bir kesitte atreziye uğramış farklı evrelerde foliküller görülebilir. Atretik foliküllerde ilk olarak çekirdeklerde piknoz, sitoplazma da vakuolizasyon ve dağınıklık gözlenir (Resim-6). Devam eden süreçte makrofajlar ve diğer

bağ dokusu hücreleri tarafından atretik foliküle invazyon olur, oosit dejenerasyonu başlar ve geride zona pellusida belirgin olarak kalır (Suttie ve diğerleri, 2018). Stromal hücreler tarafından kollajenöz skar dokusu oluşturulup zamanla yerini stromal doku alır. Atretik foliküllerde kalan teka hücreleri interstisyel hücrelere dönüşürler ve steroid salgılamaya devam ederler (de la Fuente ve diğerleri, 2014). Atrezide granuloza hücrelerinin ve oositin apoptosis ve otofaji ile ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir. Ratlarda yapılan araştırmalarda apoptosisin, farelerde yapılan araştırmalarda ise otofajinin atrezide rol oynadığı rapor edilmiştir. Bu durum, farklı canlı türlerinde atrezide farklı yolların aktive olduğunu göstermektedir (Zhou ve diğerleri, 2019).



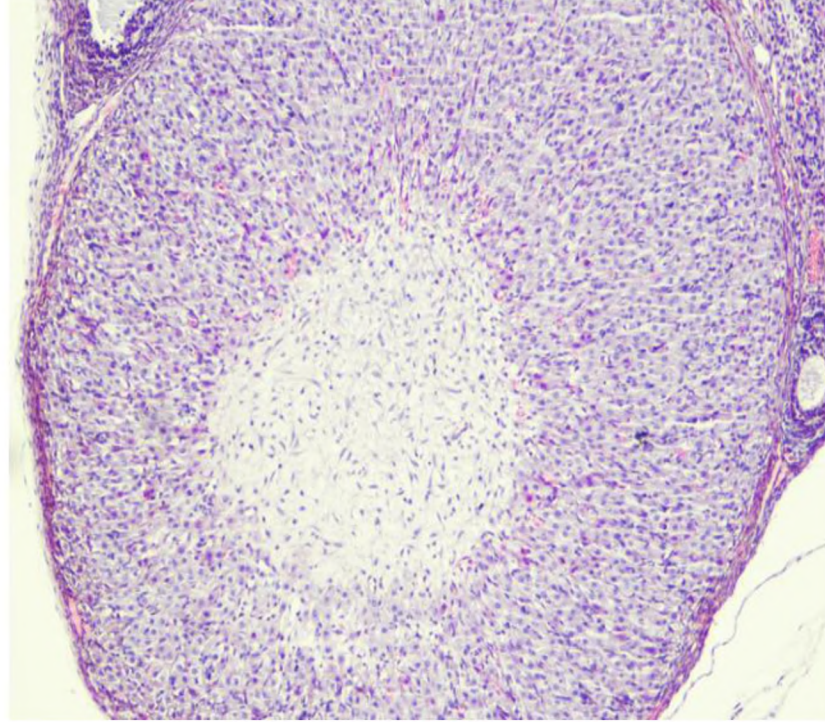
Resim 6. Dejenere ya da atretik foliküller (mavi yıldız işaretleri) (10X)

2.1.2.1.2. Korpus Luteum

Ovulasyondan sonra, baskın folikülün duvarı endokrin bir yapıya, korpus luteuma dönüşür. Luteinizasyon işlemi sırasında, granuloza-lutein hücreleri tarafından steroidogenezin sürdürülmesi için LH gereklidir (Carr ve diğerleri, 1982). İmplantasyon gerçekleşmezse korpus luteum bozulur. Teka internadaki kılcal kan damarlarından folikül lümenine doğru bir kanama oluşur ve “*korpus hemorajikum*” gelişir. Stromal bağ dokusu hücreler foliküler boşluğu invaze ederler. Granuloza ve teka interna hücreleri luteinizasyon sürecinde farklılaşarak boyutları

artmış lipid yüklü hücelere dönüşürler (Resim-7). Hücrelerin sitoplazmalarında lipokrom pigmenti birikmeye başlar (Devoto ve diğerleri, 2009). Korpus luteum merkezinde yer alan granuloza lutein hücreleri, lipid sekrete eden hücelere ait özellikler olan bol miktarda granülsüz (düz) endoplazmik retikulum (SER) ve tübüler kristal mitokondriye sahip olup östrojen ve progesteron sentezlerler (Kierszenbaum ve Tres, 2020). Teka interna hücreleri luteinizan hücelere dönüştüklerinde granuloza hüceleri boyut olarak daha küçük ve daha az sayıdadırlar. Bu hüceler androjen ve progesteron sekrete ederler (Ross ve Pawlina,2016).

Fertilizasyon ve implantasyon olmadığı durumda ovulasyondan sonra korpus luteum yaklaşık 10-12 gün kadar aktif kalır sonrasında dejenere olup involusyona uğrar. Boyutları küçülen hüceler arasında hiyalin materyal biriktikçe “*korpus albicans*” adı verilen yoğun bağ dokusundan oluşan bir nodül haline gelir (Kirkendoll ve Bacha, 2023). Fertilizasyon gerçekleşirse hCG etkisiyle korpus luteum varlığı devam eder ve plasenta östradiol sentezini yeterli düzeyde salgılayana kadar (gebeliğin 3. ayına kadar) gebelik korpus luteumu olarak hormon sekrete etmeye devam eder (Gartner ve Hiatt, 2014).



Resim 7. Korpus luteum (10X)

2.1.2.1.3 Ovaryum Korteks Stroması

Ovaryum yüzeyi epitel hücre tabakası, ovulasyondan sonra onarımı kolaylaştırmaya yardımcı olur ve siklik ovaryal değişiklikleriyle dinamik olarak genişler sonrasında kollabe olur (Hartanti ve diğerleri, 2020). Fetal ovaryum yüzey epitel hücrelerinin daha önce granüloza hücreleri için gelişimsel bir kaynak olduğu düşünülmüş olsada, daha yeni çalışmalar ovaryum yüzey epitel hücrelerinin bunun yerine “gonadal ridge epitel benzeri (GREL)” hücre olarak bilinen granüloza hücreleri ile ortak bir progenitörü paylaştığını göstermektedir (Hummitzsch ve diğerleri, 2013). Kesin belirteçler tanımlanmamış olsada, yüzey epitel hücrelerinde sitokeratinler 7, 8, 18 ve 19' un yanı sıra plakophilin-2 ve desmoglein-2'nin ekspresyonu artmıştır (Hartanti ve diğerleri, 2020). Korteks stroması özellikle kollajen ve retiküler lif ağından zengindir. Kollajen lifler özellikle süperfisiyal kortekste yoğundur ve yüzey epitelinin altında yer alan tunika albuginea'yı oluşturur. Bu alan ovaryum için koruyucu bir tabaka görevi gören ince ve hiposellüler bir bağ dokusu kılıfıdır (Reeves, 1971). Elastik lifler ise vasküler yapıların çevrelerinde bulunur. Elektron mikroskobu incelemeleri, foliküllerin ovulasyon öncesi evreye ulaştığında, foliküler apeks bölgesinde kollajen demetlerinin yoğunluğunda belirgin bir azalma meydana geldiğini ortaya koymuştur (Okamura ve diğerleri, 1980).

Ovaryum, somatik (örneğin granüloza, yüzey epitelyal, tekal, stromal) ve germ hattı kök hücreleri dahil olmak üzere çeşitli farklı hücre tipleri için kök hücreler içerebilir (Hummitzsch ve diğerleri, 2015). Ovaryum germ hattı (oogonial) kök hücrelerinin varlığı ve önemi tartışmalı bir konu olmuştur, ancak ovaryum foliküler rezervi genellikle önemli bir yenilenme olmaksızın yaşla birlikte azalır.

Ovaryan stromada yer alan fibroblast benzeri iğ şeklindeki hücreler genel olarak, hücresel destek, iskele ve onarım için kollajen gibi “ekstrasellüler matriks (ECM)” proteinlerini salgırlar. Stromal hücre dağılımının, foliküller büyüdükçe, ovulasyon oldukça ve korpus luteum geliştikçe döngüsel yapısal değişikliklerden etkilenmesi de muhtemeldir (Briley ve diğerleri, 2016). ECM, bileşimi her dokuya özgü olan fibril ve ağ oluşturan proteinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlardan oluşur. Hücreler, lizil oksidaz gibi hücre tarafından salgılanan enzimlerle, ECM öncüllerini büyük ağlara çapraz bağlanmak üzere ekstrasellüler kompartmana sekrete ederler. ECM, hücre reseptör etkileşimleri, mekanotransdüksiyon ve hücre etkileşimi yoluyla yapışma, göç ve proliferasyon dahil olmak üzere hücre fonksiyonları düzenler (Theocharis ve diğerleri, 2016). Özellikle ovaryum korteks stromasında geniş çapta bulunan ECM bileşenlerinin en önemlileri, kollajen tip I, III, IV, VI, fibronektin ve

laminin'dir (Berkholtz ve diğeri, 2006). Bazal lamina ayrıca büyüme faktörü sekestrasyonu ve sinyalizasyonu yoluyla granüloza hücre büyümesine ve antrum oluşumuna aracılık etmede rol oynar. Bazal laminadaki “perlekan” büyüme faktörlerini bağlayabilir, granüloza ve teka hücre bölmeleri arasında büyüme faktörlerinin difüzyonu için bir bariyer görevi görür (McArthur ve diğeri, 2000). ECM, dokularda dinamik bir yapıdır ve “matris metaloproteinazlar (MMP'ler)”, matris metaloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP'ler) ve plazminojen aktivatörleri aracılığıyla içinde bulunan hücreler tarafından sürekli olarak yeniden şekillenir (McIntush ve Smith, 1998).

Teka hücre tabakası, steroid üretimindeki rolünün karakteristiği olan sitoplazmik lipid damlacıkları ile teka interna'ya ve daha geniş ovaryan stroma ile daha bitişik olan fibroblastların ve düz kas hücrelerinin bir karışımı olan teka eksterna'ya ayrılmıştır (Richards ve diğeri, 2018; Young ve McNeilly, 2010). Teka hücreleri, esas olarak androjen üreterek folikül büyümesinde önemli bir rol oynar; Ayrıca, ovaryum hilumu, mezovaryum ve interstisyel stromadaki hücre tipleri de postmenopozal ovaryumlarda androjenleri sentezleyebilir ve salgılayabilir (Delibasi ve diğeri, 2007).

2.1.2.2. Ovaryum Medullası

Embriyonik mezenşimden köken alan ve kan, lenfatik damarlar ve sinirleri bulunduran ovaryumun merkezinde yer alan yüksek vasküler stroma; ovaryan ligamentin bağlandığı ve kan damarlarının girdiği hilum dokusunu oluşturur. Bu alanda ovaryan folikül bulunmamaktadır. Medulla stroması, elastin liflerden yoğun, düz kas hücrelerinde bulunduğu, fibroelastik gevşek bağ dokusu yapısındadır (Clement, 2002). Fuziform şeklindeki stromal hücrelere ek olarak, stromal korteks ve periovaryan bölgelerde desidual hücreler, lipitten zengin interstisyel hücreler ve medullada bulunan enzimden zengin stromal hücreler içerir.

İnterstisyel hücreler (Luteinize Stromal Hücreler), büyük epiteloid hücreler olup belirgin nükleoluslara sahip, ortada yuvarlak çekirdeği olan poligonal şekilli hücrelerdir. Tek başına veya küçük gruplar halinde bulunurlar, çoğunlukla medullada yerleşmişlerdir. Sayıları hamilelik sırasında ve menopozdan sonra, muhtemelen bu dönemlerde dolaşımdaki gonadotropinlerin yüksek seviyelerine ikincil olarak artar.

Enzimatik Aktiveli Stromal Hücreler (EASC); medullada oksidatif enzimlerden zengin içerikleri ile bulunurlar. Sayıları ve sıklıkları yaşla birlikte artar, postmenapozal dönemde

özellikle %80'in üzerinde medullada bulunurlar. Bazıları luteinize stromal hücrelere karşılık gelir, ancak çoğu komşu, reaktif olmayan stromal hücrelerden ayırt edilemez (Scully ve Cohen, 1964).

2.1.2.3. Ovulasyon

Kadın genital sistemi, üç ayrı hormonal grubun etkisi altındadır. Bunlar:

1. Hipotalamus kökenli hormon: Gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH)
2. Hipofiz bezi kökenli gonadotropinler: GnRH hormonuyla uyarılan FSH ve LH
3. Ovaryum kökenli hormonlar: FSH ve LH hormonları ile uyarılan östrojen ve progesteron

Kadınlarda, ardışık 3 farklı ovaryan döngü bulunmaktadır (Kierszenbaum ve Tres, 2020):

- a. Foliküler evre: Bu evre folikülogenezi ifade etmektedir ve 28 günlük menstrual döngünün 6-13. günlerini kapsamaktadır.
- b. Ovulatuvar evre: Olgun graaf folikülünden oositin atılmasıdır. LH seviyesinin artışıyla stigmadan oosit atılarak tuba uterinaya girmektedir. Menstrual döngünün 14. günüdür.
- c. Luteal evre: Korpus luteumun oluşum aşamasıdır. Menstrual döngünün 15-28. günlerini kapsamaktadır.

Foliküler evrede; ovaryumlar menstrüel döngünün foliküler fazının sonunda fertilize olmak üzere tuba uterinaya oosit bırakan tek bir baskın folikül üretirler. Her baskın folikülün oluşumu, birkaç primordial folikülün havuza alınmasıyla başlar. Bu döngünün otokrin/parakrin mekanizmalar tarafından lokal ovulatuvar düzenleyici faktörler ile kontrol edildiği görülmektedir. Büyüyen tüm foliküller, granüloza hücrelerinde apoptoz olup olmamasına göre sağlıklı ve atretik olmak üzere iki gruba ayrılır. Sürekli bir döngü sonucu overler her zaman olası bir baskın folikülün seçilebileceği küçük Graaf foliküllerinden oluşan bir havuz içerir. Seçilen baskın folikül tipik olarak büyür ve ovulasyon öncesi olgunluğa ulaşır. Seçilmeyen foliküller atrezi ile apoptoza uğrarlar (Hsueh ve diğerleri, 1994; Erickson, 1997).

Yaştan bağımsız olarak, folikül büyümesi ve gelişimi, FSH ve LH'nın folikül hücreleri üzerindeki birleşik etkisiyle sağlanır. FSH ve LH, sırasıyla granüloza ve teka interstisyel hücrelerinin membranları üzerindeki spesifik yüksek afiniteli reseptörlere bağlanır. Bu ligandların reseptörleri ile etkileşimi, granüloza ve teka hücrelerinde mitoz ve farklılaşma

yanıtlarını uyaran sinyal iletim yollarını aktive eder (Gougeon, 1996). Folikülogenez ile ilişkili iki ana endokrin yanıt vardır. Birincisi, FSH ve LH'nin etkilerinin, baskın folikül tarafında büyük miktarlarda östradiol üretimini uyarmasıdır. İkincisi, FSH tarafından inhibin B üretimindeki belirgin artıştır (Groome ve diğerleri, 1994).

Bir sonraki döngüde ovulasyona uğrayacak baskın folikül, luteal fazın sonunda sağlıklı, küçük graaf foliküllerinden (4.7 ± 0.7 mm çapında) oluşan bir gruptan seçilir (Gougeon, 1996). Morfolojik olarak, her seçilmiş folikül tamamen büyümüş bir oosit, yaklaşık 1 milyon granüloza hücresi, içerisinde teka interna ve teka eksterna içeren birkaç teka interstisyel hücre katmanı ve bir grup düz kas hücresi içerir. Seçilen folikülün granüloza hücreleri hızlı bir şekilde bölünmeye devam eder ve baskın olmayan foliküllerde proliferasyon yavaşlar. Mitoz ve foliküler sıvı birikimi devam ettikçe baskın folikül foliküler faz sırasında hızla büyür. Granüloza hücreleri FSH uyarısıyla proliferasyon olurlar. Eş zamanlı teka interna hücreleri de uyarılarak androjen sentezine başlar. Androjenler granüloza hücreleri tarafından östrojene dönüştürülüp progesteron senteziyle birlikte foliküler sıvıya sekrete edilirler. Foliküler sıvıda artan östrojen, granüloza hücrelerinin daha fazla FSH reseptörü ekspresyonu ile olur. Bu pozitif geri besleme mekanizmasıyla granüloza hücreleri FSH'a daha duyarlı hale gelirler (Hall, 2015).

Ovulatuar evrede; normal 28 günlük bir menstrual döngünün 14. gününde ovulasyon gerçekleşir. Preovulatuar follikül tarafından üretilen dolaşımdaki östrojen seviyesinin daha da artması LH dalgalanmasına neden olur. Ovulasyondan 2 gün önce, LH seviyesi 6-10 katına çıkar ve ovulasyondan 16 saat önce en yüksek seviyesine ulaşır. LH artışı, granüloza hücrelerinden salgılanan progesteronu artırırken, östrojeni azaltır. Folikülün rüptürü, LH artışının başlangıcından 38-42 saat sonra meydana gelir ve LH aracılı prostaglandin sentezinin (esas olarak Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ve prostaglandin E_2 (PGE_2)) uyarımı ve kollajenaz gibi proteolitik enzimlerin üretimi ile başlatılır. Folikül duvarı inceler, LH ve prostaglandinler foliküler kan akışını azaltır ve granüloza hücre plazminojen aktivatörünün salınımını uyarır. Plazminojen aktivatörü plazminojeni plazmine dönüştürür. Kollajenaz ve plazmin (proteolitik enzimler) folikül duvarını parçalar. Oosit-kümülüs kompleksi, ovaryum duvarının "stigma" olarak bilinen zayıf bir noktasında folikülden dışarı atılır. Bu kompleks fallop tüpünün fimbriaları tarafından tutulur. Fallop tüpünün siliyer hücreleri, oosit-kümülüs kompleksinin, fallop tüpün ampullar kısmı boyunca hareket etmesine yardımcı olur.

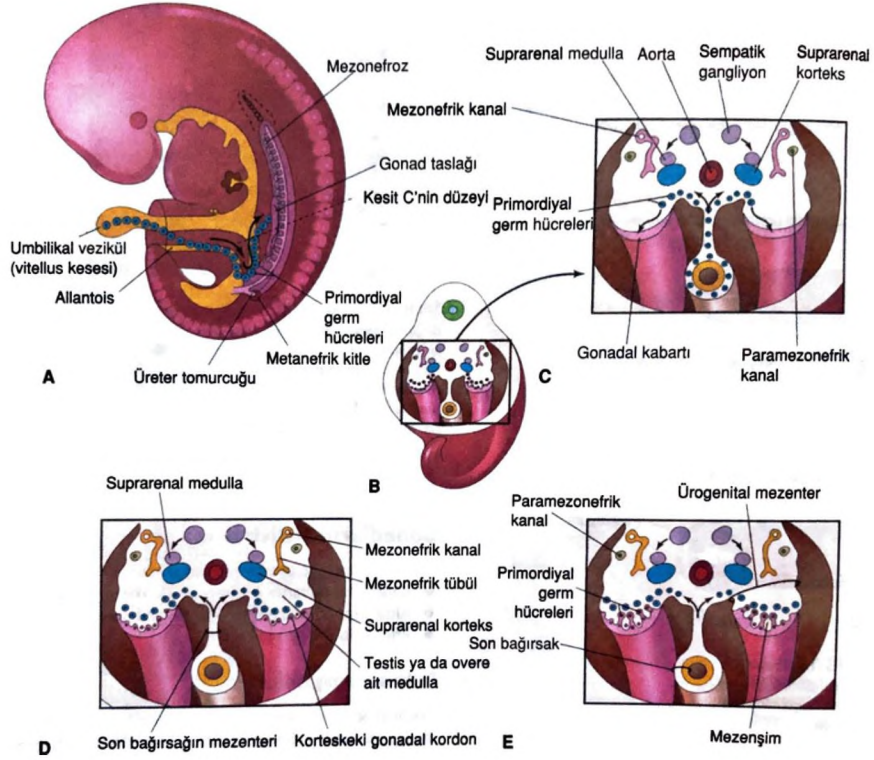
Luteal Evre; ovulasyondaki LH artışının etkisi ile ovule folikülde kalan hücreler steroidogenez için gerekli enzimlerin genlerinin ekspresyonunu değiştirmektedir (Richards, 1994). Bu ovulasyondan yaklaşık 24 saat önce başlatılır. Folikül hücreleri luteinize olur ve

ağırlıklı olarak progesteron sentezlemeye başlar. Progesteron sentezi 11-14 gün devam eder. Granüloza ve teka hücreleri genişler ve lutein adı verilen sarı karotenoid pigmenti biriktirir.

Korpus luteum oluşumu, folikülün bazal membranının parçalanmasını, granüloza ve teka hücrelerinin yeniden düzenlenmesini içerir. Postovulatuvar folikülün vasküler hücreleri, anjiyogenez yoluyla hızla ilerler. Kan antral boşlukta birikerek geçici bir korpus hemorajikum oluşturur. Bu süreçte rol oynayan faktörler, VEGF ve temel fibroblast büyüme faktörüdür (bFGF). Maksimum vasküler büyüme, dolaşımdaki plazma progesteron seviyelerinin zirve yaptığı zamanda (21- 22. gün) meydana gelir (Khan-Dawood ve diğerleri, 1996).

2.1.3. Ovaryum Embriyolojisi

İnsan Primordial Germ Hücreleri (PGC) gametleri oluşturmak üzere gelişimin ikinci haftasında epiblastan köken alır, burada mitozu uğrayıp çoğalırlar ve ameboid hareketlerle vitellüs kesesinin allontois'e yakın olan duvarındaki endoderm hücreleri arasına yerleşirler. PGC'ler daha sonra embriyonun kaudalinde yerleşik olan ekstra embriyonik mezodermde gözlenirler. Dördüncü haftaya gelindiğinde son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyip, beşinci haftanın başında gonadal kabartılara ulaşırlar. Genital kabartıda altıncı haftada da gözlenirler. PGC'lerin izlendiği bu yola *germ çizgisi* adı verilir (Sadler, 2005). Gonadal kabartıda, PGC'ler, fetal overleri kolonize etmeden ve oogonia'ya farklılaşmadan önce, karakteristik olarak PRDM14, POU5F1, NANOG ve LIN28A'yı eksprese ederek mitoz ile çoğalmaya devam ederler (Moore ve diğerleri, 2016). Gebeliğin 4-5. haftasına kadar erken dönemde tespit edilebilirler. Burada çoğalmaya devam eden PGC'ler, genital katlantılara (primitif gonadlar) girmesinden kısa bir süre önce ve girişleri sırasında, genital katlantıların epiteli çoğalıp, mezenşime ilerleyen primitif cinsiyet kordonları olarak adlandırılan düzensiz hücre kordonlarını oluşturur (Sadler, 2005) (Şekil-3).



Şekil 3. Primordiyal germ hücreleri embriyolojisi (Moore ve diğerleri, 2016)

A; Primordiyal germ hücrelerinin umbilikal vezikülden (vitellus kesesinden) embriyonun içine göçünü gösteren 5 haftalık bir embriyo. B; Gonadal kabartıların yerleşimini ve uzunluğunu gösteren, 5 haftalık bir embriyonun kaudal bölgesinin üç boyutlu çizimi. C; Suprarenal bezlerin taslağını, gonadal kabartıları ve primordiyal germ hücrelerinin gelişmekte olan gonadlara göçünü gösteren enine kesit. D; Gonadal kordonları gösteren, 6 haftalık bir embriyonun enine kesiti. E; Farklanmamış gonadları ve para mezonefrik kanalları gösteren daha geç bir evredeki benzer kesit

Erkek ve dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline olan bağlantısını bir süre daha sürdürür. Yedinci haftadan önce, her iki cinsin gonadları birbirine benzediğinden dolayı bu evredeki gonadlara “farklanmamış gonad” adı verilir. Farklanmamış gonad dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulladan oluşur. Eğer embriyo XX kromozomuna sahip ise, farklanmamış gonadın korteksi ovaryuma farklılaşır, medullası ise geriler. Embriyo XY kromozoma sahipse, medulla testise differe olur, korteks ise bazı kalıntıları dışında gerileyerek dejenere olur. Dişi gonadlar oluşacak ise PGC gruplarını içeren kümeler ovaryumların medüller kısmını oluşturur (Li ve diğerleri, 2017). Bu farklılaşma süreci sırasında, oogonia mayozu girmeden önce retinoik asit geni 8 (STRA8) tarafından uyarılan ekspresyonu ile karakterize edilen retinoik asit (RA) sinyaline duyarlı hale gelir (Tyser ve diğerleri, 2021). RA sinyaline yanıt verme ve dolayısıyla mayozu başlatma yeteneği, oogonia'yı spermatogonia'dan ayırır. Dişi

embriyolarda, Sry geninin olmaması, WNT4 ve RSPO1 transkripsiyon faktörlerinin aktif hale gelmesini sağlar.

Ovaryumlar, histolojik olarak onuncu haftaya kadar ayırt edilemezler. Primitif cinsiyet kordonları dişi embriyolarda erkeklere göre daha belirgindir. Dişilerde bu kordonlar, gonadların medullasına kadar uzanırlar ve rete ovarii'yi oluştururlar (Motta ve diğerleri, 1997). Kortikal kordonlar olarak da adlandırılan sekonder cinsiyet kordonları, erken fetal dönemde, gelişmekte olan gonadın yüzey sölom epitelinin çoğalması ile başlar, altındaki mezenşime doğru gelişmesiyle devam eder. Oogonyumlar kortikal kordonların içine karışırlar (Picton, 2001). Gelişimin 3. ayının sonunda kortikal kordlar bir veya daha fazla primordiyal germ hücrelerinin etrafını sararlar. Germ hücreleri oogonyumu oluştururken, etraflarındaki hücreler foliküler hücreleri meydana getirmektedir.

Oogenez (oogonyumun olgun oosite farklılaşma süreci) insanlarda prenatal dönemde gerçekleşir. Gonadlarda yer alan oogonyumlar, gelişimin 3. ayının sonunda mitoz bölünme geçirerek sayılarını arttırırlarken bazıları 1. mayoz bölünmenin profaz 1 aşamasına girmektedir. Mayoz bölünmeye giren oogonyumlar primer oosit adını alırken birkaç ay boyunca mitoz bölünme devam etmektedir. Gelişimin 5. ayında germ hücrelerinin sayısının 7 milyon olduğu tahmin edilmektedir. Gelişimin 7. ayında hemen hemen tüm oogonyumlar dejenere olmakta ve tüm primer oositler 1. mayoz bölünmenin profaz 1 evresine girmektedir (Moore ve diğerleri, 2016). Her bir primer oosit, onu çevreleyen follikül hücreleriyle birlikte ayrı olarak sarılır ve bu yapı, artık 'primordiyal follikül' olarak adlandırılır. Folliküler hücreler ile germ hücreleri arasında desmozom ve gap junction bağlantıları oluşur. Tek katlı yassı folliküler hücreleri çevredeki bağ dokudan ayıran bazal lamina da bu dönemde oluşmuştur. Mitoz ile çoğalma da bitmiştir, primer oositlerin ileri gelişimi follikül hücrelerince salgılanan oosit maturasyonunu engelleyici faktör (OMI) aracılığı ile puberteye kadar engellenir ve I. mayozun profazında (diploten evresinde) duraklar. Oluşan primordiyal folliküllerin bir kısmı atrezi ile kaybolur ve sayısı yenidoğanda 1.000.000-2.000.000 arasındadır (Carlson, 2008; Schoenwolf ve diğerleri, 2013).

Sağ ve sol ovaryumlar, gubernakulum içinde pelvise doğru iner; fallop tüpünün giriş kısmında uterus duvarının bir parçası haline gelen gubernakulum yetişkinlerde ovarian ve round ligament olarak kalır. Gonadal çıkıntı bölgesinde sölomik epitelin invajinasyonları da iki tip genital kanalın çıkmasına sebep olur; mezonefrik kanallar (Wolffian kanallar) ve paramezonefrik kanallar (Müllerian kanallar). Sonunda Müllerian kanallar uterusu ve uterin

tüpleri oluştururlar. Wolffian kanal artıkları ise yaşamın ileri evrelerinde Müllerian kanal çevresinde görülebilir (Dudek, 2014).

Puberte ile hipotalamo hipofizer aksın kontrolünde LH piki ile birlikte ovulasyonun başlaması, mayoz 1 profaz evresindeki primer oositin 2. mayotik bölünmenin metafaz evresine kadar ilerlemesini sağlar ve sekonder oosit adını alır. Fertilizasyon gerçekleştiğinde 2. mayotik bölünme de tamamlanır. Bu şekilde 23 kromozom içeren maternal pronükleusa sahip olgun bir oosit oluşur. Bu bölünmede üretilen diğer hücre ise ikinci polar cisimdir. İnsanlarda ilk polar cisim ovulasyondan sonra 20 saatten fazla devam eder ve bölünmez; bu nedenle fertilize olan oosit, iki kutup cisimciği (diploid birinci kutup cisimciği ve haploid ikinci kutup cisimciği) varlığı ile tanınabilir (Wei ve diğerleri, 2015). Programlı hücre ölümü nedeniyle pubertede 400 bine kadar inen primer oositlerin yalnızca 400 tanesi sekonder oosit haline gelip ovulasyonla atılmaktadır (Scott ve Hodgen, 1990).

2.2. İnfertilite

İnfertilite, dünya çapında üreme çağındaki milyonlarca insanı etkileyen aynı zamanda ruhsal bozukluklara da yol açan küresel bir sağlık sorunudur. Bir yıl boyunca düzenli, korunmasız cinsel ilişki ya da donör yoluyla döllenme sonrasında klinik gebelik oluşamama durumu olarak tanımlanmaktadır. 35 yaş üstü veya infertilite açısından bilinen diğer risk faktörlerini taşıyan kadınlar için bu süre 6 ay olarak belirlenmiştir. Erkek veya kadın üreme sistemine ait sebeplerle çiftlerin yaklaşık %10 ile %15'ini etkiler (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2020). İnfertilite tanımı primer ve sekonder olarak iki alt kategoriye ayrılır. Primer infertilite, klinik olarak gebeliğin hiç gerçekleşmemesi anlamında kullanılırken; sekonder infertilite ise, klinik gebelik teşhisi olmayıp daha öncesinde klinik gebelik tanısı almış çiftler için geçerli tanımlamadır (Zegers-Hochschild ve diğerleri, 2017). İnfertilite oranlarını gösteren 1990-2010 yılları arasındaki bir çalışmada, sekonder infertilite vakalarının daha yüksek sayıda olduğu bildirilmiştir (Starc ve diğerleri, 2019).

Doğurganlık çağındaki kadınlarda kısırılık prevalansının batı dünyasında her yedi çiftten biri, gelişmekte olan ülkelerde ise her dört çiftten biri olduğu tahmin edilmektedir. Güney Asya, Afrika'nın bazı ülkeleri, Orta Doğu ve Kuzey Afrika, Orta ve Doğu Avrupa ve Orta Asya dahil olmak üzere dünyanın bazı bölgelerinde kısırılık oranları %30'a ulaşabilmektedir (Mascarenhas ve diğerleri, 2012). İnfertilite nedenlerine bakıldığında hem kadın hem de erkekler için bireysel

ve çevresel nedenler tespit edilmiştir. Kadın infertilitesinin bireysel risk faktörleri; genetik bozukluklar, kromozom anormallikleri, yaşam tarzı faktörleri, ovulatuvar bozukluklar, tubal sorunlar, endometriozis ve ileri yaş olarak sayılabilir (Sharma ve diğerleri, 2013). Açıklanamayan infertilite vakaları grubun %20'sini oluşturmaktadır. Erkek infertilitesinde, endokrin ve sistemik bozukluklar, spermatogenezi etkileyen primer testiküler sorunlar, sperm transport bozuklukları ve idiopatik nedenler yer almaktadır (Mazzilli ve diğerleri, 1994).

İnfertilite değerlendirilmesinde; kadın ve erkek eş zamanlı öyküsü alınarak infertilite süresi, menstrüel siklus düzeni, cinsel ilişkinin sıklığı, gebelik öyküsü, geçirilmiş pelvik inflamatuvar hastalık ya da cerrahi, endokrin patolojiden şüphelendirecek semptomlar (galaktore, hızlı kilo değişimleri, hirsutizm v.b.), mesleki-çevresel maruziyetler, over rezervini etkileyecek aile öyküsü ve sistemik bulgular sorgulanmalıdır. Erkeklerde testis gelişim defektleri, geçirilmiş viral-bakteriyel enfeksiyonlar, genital travma öyküsü, ilaç kullanımı sorgulanmalıdır. Fizik muayenede boy, kilo, sekonder seks karakterlerinin değerlendirilmesi, tiroid muayenesi, hirsutizm değerlendirilmesi, abdomino-pelvik muayene yapılmalıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) çalışmasına göre, kadın infertilitesi sebepleri arasında ovulatuvar bozukluklar (%30-40), endometriozis (%15), pelvik faktör (%12), tubal blokaj (%11), diğer tubal anormallikler (%11) ve hiperprolaktinemi (%7) yer almaktadır (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2015). Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde temel bir tanı aracı olan spermiogram için semen örneği, 2 ila 7 günlük cinsel abstinens sonrasında alınmalıdır. Semen numunelerindeki sperm konsantrasyonları doğal olarak belirgin değişkenlik göstereceğinden, en az bir hafta arayla en az iki numune alınmalıdır.

Tüm bu değerlendirme süreçlerinde çocuk sahibi olamamanın neden olduğu psikolojik morbidite de göz önünde bulundurulmalı ve çiftler bu konuda da desteklenmelidir. İnfertilite tanısının konulması, gerekli değerlendirme ve tedavilerin yapılmasını içeren süreç, infertil çiftler için psikolojik açıdan da oldukça streslidir. Klinisyenler, infertil bir çifti değerlendirirken, depresyon, öfke, anksiyete ve evlilik çatışmaları gibi duygudurum durumlarına sahip olma olasılığını da göz önünde bulundurmalıdır (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2021).

2.2.1. Kadın İnfertilitesi

Kadın infertilitesinin sebepleri oldukça çeşitlidir ve bu durum genetik mutasyonlar, kromozom anormallikleri, yaşam tarzı faktörleri, ovulatuvar bozukluklar, tubal faktörler, endometriozis ve açıklanamayan infertilite gibi birçok etkenle ilişkilidir. Son yıllarda yapılan araştırmalar yaşam tarzı faktörlerinin, özellikle yeme alışkanlıkları, stres, alkol tüketimi, sigara kullanımı ve obezite gibi olumsuz yaşam tarzı seçimlerinin kadın fizyolojisi üzerinde uzun vadede etkili olabileceğini göstermiştir (Dees ve Skelley, 1990; Fuxe ve diğerleri, 1989; Painter ve diğerleri, 2012; Nagata ve diğerleri, 1998). Yaşam tarzıyla ilişkili en yaygın risk faktörlerinden biri olan obezite, özellikle hiperkalorili diyetlerle ilişkili olarak, enerji metabolizmasında değişikliklere yol açarak vücudun metabolik süreçlerini olumsuz yönde etkiler. Obezitenin yanısıra uygunsuz beslenme alışkanlıkları, aşırı yorucu egzersiz, düşük periferik vücut ağırlığına bağlı beslenme yetersizliği de kadınların doğurganlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açar. Düşük enerji metabolizması Hipotalamik Hipofizer Gonadal (HPG) aksını hedef alır (Sutton-McDowall ve diğerleri, 2010; Temel ve diğerleri, 2014). Otoimmün hastalıkları olan kadınların bazıları, bu antikörlerin fertilizasyon ve implantasyon üzerinde doğrudan etkisi ile ilişkisiz infertilite riskine maruz kalmaktadır. Prematür over yetmezliği, sistemik lupus eritematozus veya miyastenia gravis gibi otoimmün hastalık tanısı almış kadınlarda bildirilen klinik tablolardan biridir. Bu olgularda görülen otoimmün ooforit, poliglandüler otoimmün yetmezlik sendromunun tip I ve tip II varyantlarının bir parçası olarak gelişebilir. İnfertilite sorgusu yapılırken; infertilite süresi ve önceki değerlendirme/tedavi sonuçları, adet öyküsü (menarş yaşı, siklus uzunluğu ve özellikleri ve dismenore başlangıcı / şiddeti), gebelik öyküsü (gravidite, parite, gebelik sonucu ve ilişkili komplikasyonlar), önceki doğum kontrol yöntemleri, koital sıklık ve cinsel işlev bozukluğu, geçirilmiş cerrahi (prosedürler, endikasyonlar ve sonuçlar), önceki hastaneye yatışlar, ciddi hastalıklar veya yaralanmalar, pelvik inflamatuvar hastalık veya cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlara maruz kalma, tiroid hastalıkları, galaktore, hirsutizm, pelvik/karın ağrısı ve disparoni, önceki anormal pap smear testi ve sonraki tedaviler, mevcut ilaçlar ve alerjiler, ailede doğum kusurları, gelişimsel gecikme, erken menopoz veya üreme sorunları öyküsü, mesleki ve bilinen çevresel tehlikelere maruz kalma, tütün, alkol ve eğlence amaçlı veya yasa dışı uyuşturucu kullanımı sorgulanmalıdır.

Fizik muayenede; ağırlık, vücut kitle indeksi (BMI), kan basıncı ve nabız, tiroid büyümesi ve herhangi bir nodül veya hassasiyet varlığı, meme özellikleri, meme salgıları ve karakterleri,

androjen fazlalığı belirtileri, vajinal veya servikal anormallikler, sekresyonlar veya akıntılar, pelvik veya abdominal hassasiyet, organ büyümesi veya kitleler, uterusun boyutu, şekli, konumu ve hareketliliği, adneksiyal kitleler veya hassasiyet önemli muayene bulgularıdır (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2015).

Ovulatuvar disfonksiyon infertil çiftlerin yaklaşık %15'inde tespit edilmekte ve kadınlarda infertilitenin %40 'ını oluşturmaktadır (Mosher ve Pratt, 1991). Oligomenore veya amenore gibi belirgin adet düzensizlikleriyle seyreden bu durumlarda, altta yatan etiolojinin araştırılması ve hedefe yönelik tedavi gerektiren nedenlerin saptanması önem arz etmektedir. Ovulatuvar disfonksiyonunun en yaygın nedenleri arasında polikistik over sendromu (PKOS), obezite, kilo alımı veya kaybı, yorucu egzersiz, tiroid fonksiyon bozukluğu ve hiperprolaktinemi yer almaktadır. Seri bazal vücut ısısı (BBT) ölçümleri, ovulatuvar fonksiyonu değerlendirmek için basit ve ucuz bir yöntem sağlar. BBT ile izlenen döngülerde en yüksek doğurganlık dönemi, döngü ortası artışından önceki yedi günü kapsar. Ovulasyon siklusları genellikle bifazik BBT kayıtları ile ilişkilendirilirken anovulatuvar sikluslar tipik olarak monofazik paternlerle sonuçlanır.

Serum progesteron ölçümleri, siklusun uygun zamanında elde edildikleri sürece ovulasyon fonksiyonunun güvenilir ve objektif bir ölçüsünü sağlar. Sikluslardaki normal varyasyon aralığı göz önüne alındığında, bir serum progesteron ölçümü genellikle belirli bir siklus gününden ziyade, bir sonraki adetlerin beklenen başlangıcından yaklaşık bir hafta önce (21.gün) alınmalıdır. 3 ng/mL'den daha yüksek bir progesteron konsantrasyonu, son ovulasyonun varsayımsal ancak güvenilir kanıtını sağlar (Wathen ve diğerleri, 1984). Çeşitli ticari ovulasyon tahmin kitleri kullanılarak yapılan idrar LH taylorleri, ovulasyondan bir ila iki gün önce gelen orta döngü LH dalgalanmasını tanımlayabilir. İdrarda LH tespiti, LH piki ve sonraki 2 günü doğrular ve serum LH seviyesi ile koreledir. Bununla birlikte, doğruluk, kullanım kolaylığı ve güvenilirlik ürünler arasında farklılık gösterir ve testler yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar verebilir (McGovern ve diğerleri, 2004). Transvajinal ultrasonografi, gelişen foliküllerin büyüklüğünü ve sayısını ortaya çıkarabilir ve ayrıca ilerleyici foliküler büyüme, preovulatuvar folikülün kollabe olması, tanımlanmış foliküler sınırların kaybı görüntülenerek ovulasyon ve luteinizasyonun varsayımsal kanıtlarını sağlayabilir (Sharara ve diğerleri, 1998). Yöntem genellikle daha basit yöntemlerin gerekli bilgileri sağlayamadığı ve ovulasyon indüksiyonu amacıyla stimülasyon tedavisi alan kadınlar için kullanılmalıdır. Anovulatuvar infertil kadınlarda, üç ila altı başarılı ovulasyon indüksiyonundan sonra gebeliğe ulaşılamaması, ek tanısal değerlendirme yapmak veya değerlendirme tamamlanırsa alternatif

tedavileri düşünmek için bir gösterge olarak görülebilir. TSH, Prolaktin, FSH, Estradiol düzeyleri troid bozuklukları, hiperprolaktinemi, eksojen gonadotropin ihtiyacı gibi tedavi seçenekleri için bakılması gereken parametrelerdir.

Ovarian rezerv; üreme potansiyelini temsil eder ve kalan oositlerin sayısı ile kalitesinin bir fonksiyonunu gösterir. Azalmış Ovaryan Rezerv (DOR), üreme çağındaki kadınların ovaryum stimülasyonuna veya doğurganlığa yanıtını, benzer yaştaki kadınlara kıyasla azalan düzenli adet döngüleri ile tanımlar. Ovaryan rezervi değerlendirmek için kullanılan testler arasında; siklusun 3. günü FSH ve estradiol ölçümleri, klomifen sitrat challenge test, transvajinal ultrasonografi ile erken foliküler fazda antral folikül sayımı (AFC) veya serum Antimüllerin Hormon (AMH) seviyesi yer alır. Bu testler, ovaryum rezervinin azalması riski yüksek olan kadınlarda prognostik bilgi sağlayabilir. 35 yaşın üzerinde, ailede erken menopoza öyküsü olan, tek bir ovaryuma sahip veya daha önce ovaryum cerrahisi geçiren, kemoterapi veya pelvik radyasyon tedavisi öyküsü olan, açıklanamayan infertilite, gonadotropin stimülasyonuna zayıf yanıt gösteren veya yardımcı üreme teknolojisi (ART) ile tedavi planlanan hastalarda DOR' dan şüphelenilerek bu testler istenebilir (Broekmans ve diğerleri, 2006).

Servikal mukus üretimi veya sperm/mukus etkileşimindeki anormallikler nadiren infertilitenin tek veya ana nedenidir. Beklenen ovulasyondan kısa bir süre önce elde edilen servikal mukus örneğinin, koitustan sonraki saatler içinde hareketli sperm varlığı açısından mikroskopik olarak incelendiği postkoital test (PCT), servikal faktör infertilitesinin tanısı için geleneksel yöntemdir. Bununla birlikte, test subjektif, tekrarlanabilirliği zayıf ve hasta için elverişsiz olduğundan, klinik yönetimi nadiren değiştirdiğinden ve gebe kalmayı öngörmediği için PCT artık infertil dışının değerlendirilmesi için önerilmemektedir (Oei ve diğerleri, 1998).

Ultrasonografi, miyomlar da dahil olmak üzere uterus patolojisini teşhis etmek için kullanılabilir. Uterus boşluğuna salın verildikten sonra yapılan transvajinal ultrasonografiyi içeren sonohisterografi, uterus boşluğunun büyüklüğünü ve şeklini daha iyi tanımlar ve intrauterin patolojinin (endometrial polipler, submükoz myomlar, sineşiler) saptanmasında yüksek pozitif prediktif değere (%>90) sahiptir. Histeroskopi, uterus içi patolojinin tanı ve tedavisinde kesin yöntemdir. Aynı zamanda uterusun değerlendirilmesi için en maliyetli ve invaziv yöntem olduğundan, genellikle HSG (Histerosalpingografi) ve sonohisterografi gibi daha az invaziv yöntemlerle tanımlanan anormalliklerin daha ileri değerlendirilmesi ve tedavisi için kullanılabilir (Soares ve diğerleri, 2000).

Tubal sorunlar infertilitenin önemli bir nedenidir ve özellikle dışlanmalıdır. Kanal açıklığını değerlendirme yöntemleri birbirini tamamlayıcı niteliktedir ve birbirini dışlamamaktadır. Tubal açıklığın değerlendirilmesinde kullanılan standart tanı yöntemi olan histerosalpingografi (HSG), suda veya yağda çözünebilen kontrast maddeler aracılığıyla gerçekleştirilir ve tanısal işlevinin yanı sıra terapötik etkiler de gösterebilir (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2020). Floroskopik/histeroskopik selektif tubal kanülasyon, HSG veya kromotubasyonlu laparoskopi ile önerilen herhangi bir proksimal tubal oklüzyonunu doğrular veya dışlar. Özel kateter sistemleri kullanılarak rekanalizasyon yoluyla olası düzeltme için olanak sağlar (Valle, 1995). HSG, uterus boşluğunun boyutunu ve şeklini tanımlar ve potansiyel üreme sonuçları olan gelişimsel anomalileri (unicornuat, septal, bicornuat uterus) veya diğer edinsel anormallikler (endometrial polipler, submükoz myomlar, sineşiler gibi) ortaya çıkarabilir. Bununla birlikte, HSG'nin duyarlılığı nispeten düşüktür (Soares ve diğerleri, 2000).

Transvajinal ultrasonografi, endometrioma gibi üreme etkileri olabilecek diğer yöntemlerle tanınamayan pelvik patolojiyi ortaya çıkarabilir. Pelvik üreme anatomisinin doğrudan görsel muayenesi ile laparoskopi, doğurganlığı bozabilecek peritoneal faktörlerin spesifik tanısı için mevcut tek yöntemdir. Minimal ve hafif endometriozisin doğurganlık üzerindeki etkisi nispeten küçüktür (Jacobson ve diğerleri, 2010).

Antifosfolipid, antisperm, antinükleer ve antitiroid antikor testleri, rutin infertilite değerlendirmesinin bir parçası olarak önerilmemektedir. Bununla birlikte, iki veya daha fazla gebelik kaybı öyküsü bulunan kadınlarda, antifosfolipid sendromu olasılığı açısından ileri değerlendirme yapılması klinik olarak önem taşımaktadır (Kallen ve Arici, 2003). Hipergonadotropik hipogonore nedeniyle primer amenore olan ve/veya Turner sendromunun fenotipik özellikleri olan, belirsiz dış genital organları olan ve androjen duyarsızlık sendromu ön tanısı olan kadınlarda karyotipleme istenmelidir. Kişisel veya ailede erken (<40 yaş) ovaryan yetmezlik öyküsü olan kadınlarda karyotipleme ve fragil X premutasyon testleri istenmelidir. Erkek partnerde şiddetli oligospermi veya azospermi varsa karyotipleme ve ek olarak Y kromozomu mikrolezyon testleri önerilmelidir. Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü varsa, her iki partnerin karyotiplemesi yapılmalıdır (Thurston ve diğerleri, 2019). Dikkatli bir öykü ve fizik muayene, infertilitenin spesifik bir nedenini belirleyebilir ve tanısal değerlendirmenin en olası nedenlere odaklanmasına yardımcı olabilir.

2.2.2. İnfertilite Tedavisi

Ovulasyon indüksiyonu amacıyla, obeziteye bağlı infertilitenin yönetiminde yaşam tarzı değişiklikleri, medikal tedaviler ve cerrahi yaklaşımlar gibi çeşitli yöntemler uygulanabilmektedir:

1-Obeziteye Bağlı İnfertilite İçin Yaşam Tarzı Değişikliği

Obezite, BMI ≥ 30 kg /m² den fazla olması, fazla kiloluluk ise BMI ≥ 25 kg/m² olarak tanımlanmaktadır (Tiwari ve diğerleri, 2023). Obezitenin ovaryum fonksiyonu ve doğurganlık üzerinde olumsuz etkileri vardır. Yüksek BMI değerine sahip bireylerde ovulasyonun sağlanabilmesi için daha yüksek dozda indüksiyon tedavisi gerekebilir. Bununla birlikte, bu hasta grubunda erken gebelik kayıpları (abortus) açısından da artmış bir risk söz konusudur. Sağlıklı beslenme ve egzersiz gibi yaşam tarzını değiştirme yöntemleri, anovulatuvar nedenlere bağlı infertilitede ovulasyonun tetiklenmesinde faydalıdır (Chavarro ve diğerleri, 2007). Yaşam tarzı değişikliği, kilo kaybını teşvik ederek insülin direncinin azalmasına ve üreme fonksiyonlarının iyileştirilmesine katkı sağlar. Diyetteki karbonhidrat içeriği ise, anovulatuvar infertilitenin gelişiminde önemli bir belirleyici faktör olarak öne çıkmaktadır (Chavarro ve diğerleri, 2009). Yapılan çalışmalar, ovaryum fonksiyonlarının düzenlenmesinde %5–10 arası kilo kaybının etkili olduğunu göstermektedir. Bu doğrultuda, anovulasyona bağlı infertilitesi olan obez hastalarda tedavinin ilk basamağını yaşam tarzı değişiklikleri oluşturmaktadır.

2-Tıbbi Yöntemler

Klomifen Sitrat (CC)

Anti-östrojenik bir ilaç olan CC; hipotalamustaki östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenin negatif feedback etkisini inhibe eder. Hipotalamus, reseptörlerde östrojen bağlanmasının eksikliğini tespit eder ve GnRH salgılar. GnRH, hipofiz bezini uyararak FSH ve LH salınımını artırır. Foliküler gelişim uyarılır, östrojen seviyesi yükselir; CC'nin östrojen reseptörlerine uzun süreli bağlanması, artan östrojen seviyesinin negatif geri beslemesini kesintiye uğratar ve folliküler büyümeyi ve olgunlaşmayı uyaran FSH'nin sürekli üretimine neden olur. CC endikasyonları arasında; WHO tip II hasta grubu (normal hipotalamus-hipofiz yumurtalık eksen), anovülasyon, luteal faz defekti, açıklanamayan infertilite, endometriozis evre 1 ve endometriozis evre 2 yer alır. CC başlangıç dozu 50 ila 100 mg olup menstrüel döngünün 2. gününden 5. gününe kadar kullanılabilir (Krzastek ve diğerleri, 2019).

Tamoksifen

Tamoksifen, CC tedavi siklusları başarısız olan hastalarda ovulasyonu uyarmada oldukça etkilidir. Tamoksifen veya letrozol ile gebe kalan kadınlarda CC ile karşılaştırıldığında spontan abortus oranları daha düşüktür (Seyedoshohadaei ve diğerleri, 2012). Tamoksifen, selektif östrojen reseptör modülatörü olarak, meme dokusu üzerinde antiöstrojenik etki gösterirken; serum lipitleri, kemik ve endometriyum üzerinde belirgin östrojenik etki sergilemektedir.

Aromataz İnhibitörü

Letrozol bir aromataz inhibitörü olarak, androstenedion ve testosteronun, estron ve estradiole dönüşümünü engelleyerek östrojen üretimini önler ve ovulasyonun uyarılması için kullanılır. Klomifen sitrat dirençli vakalarda, PKOS hastalarında, endometrioze, yaşlı kadınlarda ve meme kanseri hastalarında kullanılır. Klomifen sitrata göre en büyük avantajı, endometriyum ve servikal mukus üzerinde anti-östrojenik etkisinin bulunmaması, bununla birlikte çoğul gebelik oranlarını ve OHSS olasılığını azaltmasıdır. Anovulatuvar infertilitede klomifen sitratla karşılaştırıldığında letrozolün kullanımı son zamanlarda artış göstermiştir (Sipe ve diğerleri, 2006). Osteoporoz, endometrial hiperplazi ve endometriyal neoplazi riski olan kadınlarda kontrendikedir.

Gonadotropinlerin Kullanımı

Gonadotropin tedavisi, WHO Sınıf 1, 2 veya 3 anovülasyon bozuklukları için kullanılan daha yoğun bir tıbbi tedavidir. Gonadotropinler çoklu klomifen kürlerinden sonra gebe kalamayan kadınlar için ikinci basamak tedavi seçeneği olarak faydalıdır. Olgun folikülleri değerlendirmek için geç foliküler faz sırasında her 2 ila 3 günde bir foliküler büyümeyi izlemek için transvajinal ultrasonlar kullanılır. Olgun bir folikülün çapı 18 mm'den büyüktür ve estradiol değeri 200 pg/mL'den fazladır (Weiss ve diğerleri, 2018).

3-Cerrahi Yöntemler

Tubal ve Pelvik Adhezyonlar

HSG, ektopik gebelik, pelvik inflamatuvar hastalık veya endometrioze gibi eşlik eden hastalıkları bulunmayan kadınlarda tubal okluzyonu taramak için daha az invazif ve daha güvenilir olduğundan dolayı önerilmektedir (Mol ve diğerleri, 1997). Laparoskopi, tubal ve pelvik patolojilerin aynı anda değerlendirilmesi gereken hastalara önerilmelidir. Endometriyum anormalliklerinin cerrahi düzeltilmesinin gebelik oranları üzerindeki etkisi belirlenmediğinden,

klirik bir gerekçe yoksa histeroskopi ilk seçenek olarak onerilmemelidir (Ambildhuke ve diğlerleri, 2022).

Hidrosalpinks de dahil olmak uzere ciddi tubal hastalığı olan kadınların, IVF'de gebelik oranını artırmak için iki taraflı salpenjektomi yaptırmaları onerilmektedir. Hafif distal tubal hastalığı olan kadınlar için fimbrioplasti, IVF olmadan çoğul gebeliklere izin veren bir seçenektir. Küçük lekli bir çalışma, hafif tubal hastalıkta gebelik oranının IVF'ye eşit olduğunu, ancak ektopik gebelik riskinin IVF tedavisi için %15 olduğunu göstermiştir (Johnson ve diğlerleri, 2004; Audebert ve diğlerleri, 2014).

Endometriyum kalınlığı, vaskülarite, polipler, endometrial sıvı, adenomiyom ve leiomyomların varlığı, anormal endometrial moleküler ekspresyonlarla ilişkilidir, bu da endometrial reseptiviteyi değiştirir ve implantasyonu ve erken embriyo gelişimini olumsuz etkiler (Munro, 2019). Submukozal-intramural-subserozal miyomlar, miyometriyumda kistik anekoik alanlar, asimetrik uterus duvarı kalınlaşması, uterusun konjenital anomalileri veya Müllerian kanal anomalileri ultrasonografi ile değerlendirilerek gerekli cerrahi işlemler planlanır.

Laparoskopik ovaryan drilling, wedge rezeksiyonuyla karşılaştırıldığında daha az invaziftir ve elektrokoter veya lazer kullanılarak ovaryum yüzeyi üzerinde çok sayıda delik oluşturulmasını sağlar. Ovaryan stroma hacminin elektrocerrahi olarak azaltılması, overde androjen üretimini azaltır ve daha iyi bir foliküler ortam sağlar. Androjen retimindeki azalma, daha az periferik aromatzasyona, yüksek FSH seviyelerine ve HPG ekseninin yeniden kurulmasına neden olur (Sharma ve diğlerleri, 2023).

Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları (ART=YTE)

ocuk sahibi olamayan evli çiftlerden, tıbben uygun görülenlerin remeye yardımcı tedavi metotları vasıtasıyla ocuk sahibi olmaları için yapılacak uygulamanın esaslarını içeren, 2014 tarihli Resmi Gazete' de yayınlanmış olan “remeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları ve remeye Yardımcı Tedavi Merkezleri Hakkında Yönetmelik” de bahsi geçen ÜYTE; “Anne adayının yumurtası ile kocanın sperminin çeşitli yöntemlerle döllenmeye daha elverişli hale getirilerek, gerektiğinde vücut dışında döllenmesini sağlayıp, gametlerin veya embriyonun anne adayına transferini kapsayan ve modern tıpta bir tıbbi tedavi yöntemi olarak kabul edilen uygulamalar” olarak ifade edilmiştir (Sağlık Bakanlığı, 2014).

ART olarak kullanılan en sık yöntemler; IVF, Intrastitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI), Zigot Intrafallop Transferi (ZIFT), Gamet intrafallop transferi (GIFT), İntrauterin

İnseminasyon (IUI), donör oosit ve sperminin kullanılması seçenek olarak tercih edilmektedir (Olooto ve diğerleri, 2012). ART, fertilizasyondan embriyo gelişimine kadar olan süreçlerin laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmesine olanak sağlar. Bu basamakların sorunsuz bir şekilde tamamlanması durumunda, oluşan embriyo endometriyuma transfer edilerek sağlıklı bir gebelik elde edilebilir. ART kapsamında en sık uygulanan iki temel yöntem IVF ve ICSI'dir. IVF, eksojen gonadotropinler ile kontrollü over hiperstimülasyonunun (KOH) başlatılıp ardından transvajinal ultrasonografi eşliğinde ovaryumlardan oositlerin toplanması, laboratuvar şartlarında döllenme ve embriyoların uterusu transservikal olarak naklini içeren bir süreçtir (Fritz ve Speroff, 2011). Çiftlerin %20'sinde kısırlığın tek nedeni düşük meni kalitesidir. Azalmış sperm sayısı, hareketliliği veya morfolojisi, erkeklerin yaklaşık %50'sinde tıbbi veya cerrahi olarak başarılı bir şekilde tedavi edilebilir. IUI, erkek partnerin hareketli sperm sayısının az olduğu çiftlerde gebelik oranlarını da artırabilir. Bu tür tedavilerin başarısız olması durumunda ICSI ile veya ICSI olmadan IVF den yararlanılabilir. Obstrüktif azospermi veya testiküler hipofonksiyon vakalarında testis veya epididimden ekstrakte edilen sperm, spermin bir oositi fertilize etmesine izin veren nihai in vivo olgunlaşma sürecinden geçmediğinden yalnızca ICSI ile IVF döngüsünde kullanılabilir (Choe ve Shanks, 2023).

IVF tedavisi ovaryumların uyarılmasıyla başlar. CC, letrozol ve eksojen gonadotropinler (FSH ve LH) kullanılarak çeşitli düzeylerde, overlerin uyarılmasını ya da uyarılmamasını sağlamak üzere farklı protokoller kullanılmıştır. GnRH analogları kadının LH artışını ortadan kaldırmak için kullanılır ve oosit toplamak için uygun zamanlamayı sağlar. Foliküler büyüme transvajinal ultrasonografi ile izlenir ve kandaki estradiol seviyeleri, stimülasyon protokolünde belirtilen değişikliklerin belirlenmesine yardımcı olur.

Doğal siklus IVF protokolünde oosit, siklus ortasında LH artışı meydana gelmeden önce alınır veya LH salınımını önlemek için bir GnRH antagonisti (GnRHant) kullanılır. Folikül olgun bir boyuta ulaştığında, LH dalgalanmasının yerine hCG verilir. Gebelik oranı siklus başına yaklaşık %8'dir ve üç siklus sonrasında kümülatif oran %21'dir. Doğal sikluslu IVF, klinik gebelik oranının düşük olması nedeniyle yaygın olarak yapılmamaktadır (Pelinck ve diğerleri, 2007).

Ovaryum stimülasyonu, IVF sikluslarının büyük çoğunluğunda yapılır, böylece yaklaşık 10 ila 20 oosit toplanabilir. Uzun luteal GnRHa veya bir GnRHant kullanılarak uygulanan iki protokol vardır. Uzun luteal GnRHa protokolü, önceki ayın 21. gününden başlayarak günlük 0,1 mg GnRHa'nın uygulanmasıyla başlar. Bu, ovaryum uyarılması sırasında hipofizden LH ve FSH salgılanmasını engeller. GnRHa, hCG enjeksiyonuna kadar devam ettirilir.

Gonadotropinler, siklusun 2. gününden başlayarak foliküler gelişim ve estradiol düzeylerine göre doz ayarlamaları yapılarak günlük 75 ila 450 IU aralığındaki dozlarda enjekte edilir. Hedef foliküllerin çapı 14 mm'ye ulaştığında veya ovaryum stimülasyonunun altıncı gününde endojen LH artışını bloke etmek için GnRHant' a başlanır. En az üç folikül 18 mm'ye ulaştığında hCG uygulanır (Choe ve Shanks, 2023).

Minimal stimülasyon protokolünde, gonadotropinli veya gonadotropinsiz, seçici bir östrojen reseptör modülatörü (SERM) olan CC veya bir aromataz inhibitörü olan letrozol kullanılır. Gonadotropin stimülasyonu azaltıldığında veya ortadan kaldırıldığında çiftin maliyeti azalmaktadır. Canlı doğum oranında, uzun GnRHa protokolüne kıyasla biraz azalma gözlenmiş (%49'a karşı %63) ancak ovaryan hiperstimülasyon sendromu ve çoğul gebelik oranlarının önemli ölçüde daha düşük olduğu bulunmuştur (Zhang ve diğerleri, 2016; Shrestha ve diğerleri, 2015).

Stimülasyon protokolüne bakılmaksızın olgun oositler, hCG uygulamasından 34 ila 36 saat sonra toplanır. Oosit toplama işlemi ultrason eşliğinde transvajinal aspirasyon ve intravenöz sedasyon kullanılarak gerçekleştirilir. Ovaryumlar bir vajinal ultrason probu kullanılarak görüntülenir ve bir kılavuz iğne oosit ve foliküler sıvıyı aspire etmeye yardımcı olur.

Oositleri fertilize etmek için inseminasyon veya ICSI kullanılır. Semen numunesi, spermin kapasitasyonunu teşvik etmek için izole edilip, yüksek protein konsantrasyonuna sahip ortamda yıkanmasıyla hazırlanır. Elli ila yüz bin sperm, bir oosit ile 12-18 saat süreyle inkübe edilir. Erkek faktörlü kısırlık, hareketsizleştirilmiş bir spermin doğrudan oosit içine enjekte edildiği ICSI'yi gerektirebilir. Bu işlem, spermin oositi çevreleyen glikoprotein matrisi olan zona pellusidaya nüfuz etme zorluğunu ortadan kaldırır.

Fertilize olmuş embriyolar bölünme aşamasında (fertilizasyonun 3. günü) veya blastosist aşamasında (fertilizasyonun 5. günü) transfer edilir. Blastosist aşaması transferi, siklus başına daha yüksek canlı doğum olanağı sunar ve daha az embriyo sayısı ile gerçekleştirilir, dolayısıyla çoğul gebelik oranları daha düşük olur (Glujovsky ve diğerleri, 2016). Blastosist aşaması transferinin dezavantajı, kültürde 5. güne kadar hayatta kalamayan embriyolar nedeniyle transfer için daha az embriyonun mevcut olmasıdır. Embriyolar, transabdominal ultrason eşliğinde serviksten geçen bir kateter aracılığıyla endometriyum içine alınıp, uterus fundusundan 1 ila 2 cm uzağa yerleştirilir. Transferden sonra kateter mikroskop altında kontrol edilerek embriyo kalmadığından ve tüm embriyoların endometriyuma başarılı bir şekilde yerleştirildiğinden emin olunur. Transfer edilen embriyo sayısı embriyonun evresine, kalitesine,

anne yaşına ve hastanın tercihinine bağlı olur. 35 yaş altı kadınlarda en fazla iki embriyo, 35-37 yaş arası kadınlarda en fazla üç embriyo, 38-40 yaş arası kadınlarda en fazla dört embriyo ve 41-42 yaş arası kadınlarda beş veya daha az embriyo transferi önerilmektedir (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2017). Embriyo implantasyonunu ve devam eden hamileliği optimize etmek için, oosit toplama veya embriyo transferinin yapıldığı gün progesteron takviyesi başlatılır. Fazla kaliteli embriyolar ileride kullanılmak üzere dondurularak saklanır.

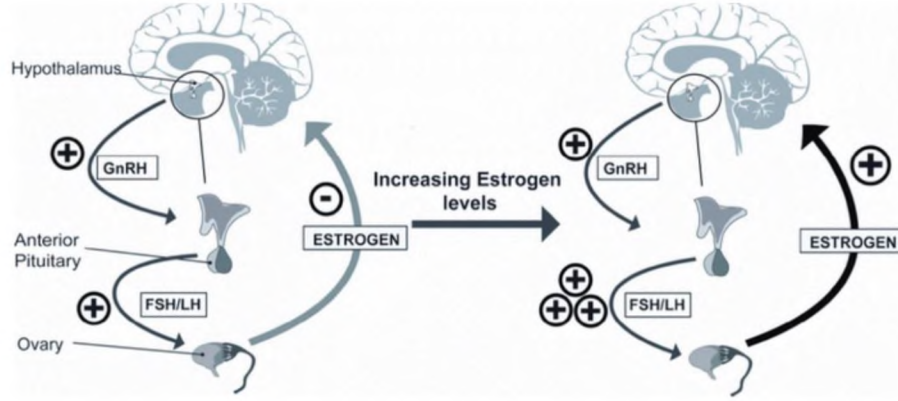
ART tedavileri sonrası gözlenen OHSS, ovaryum stimülasyonu sonrası potansiyel olarak yaşamı tehdit eden iatrojenik bir komplikasyondur. Hafif vakalarda kadınlarda karın şişliği, bulantı ve kusma görülür. Daha ciddi vakalarda şiddetli karın ağrısı ve olası plevral efüzyonla birlikte asit gelişir ve bu da akciğer fonksiyonunun azalmasına ve hipoksiye yol açabilir. Hastalarda hipovolemi, oligüri, kreatinin artışı, karaciğer transaminazlarında artış, lökositoz ve elektrolit anormallikleri görülebilir. Hemokonsantrasyon ile birlikte tromboembolizm riski artmıştır. Kritik vakalarda akut böbrek yetmezliği ve yaygın damar içi tromboz ölümle sonuçlanabilir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), şiddetli OHSS görülme sıklığının tüm stimülasyon döngülerinin %0,2 ila 1'i olduğunu tahmin etmektedir (Binder ve diğerleri, 2007).

İkizlerin sıklığı 1980'den 2015'e kadar artmış olup, tüm ikizlerin %19'unun ve tüm üçüzlerin %25'inin tüp bebek kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir (Kulkarni ve diğerleri, 2013). Transfer edilen embriyo sayısını sınırlandırmaya yönelik yeni öneriler göz önüne alındığında, üçüz sayısı azalmaktadır. Çoğul gebelikler, erken doğumun yanı sıra gebelikte hipertansif bozukluk riskinin artmasına neden olabilir. Bununla birlikte ilginç bir şekilde, IVF ikiz gebeliklerinde hipertansif bozuklukların oranı, doğal olarak gebe kalan ikizlerle karşılaştırıldığında farklı değildir (Zoungas ve diğerleri, 2014).

2.3. Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS)

Yardımcı üreme tedavilerinin temel bir parçası, HPG aksı içinde oosit gelişimi için foliküler büyüme ve olgunlaşmaya izin veren çeşitli protokoller aracılığıyla ovaryan stimülasyondur (Şekil-4). Ovülasyon indüksiyon tedavisi, anovulatuvar infertil kadınlarda foliküler büyümeyi uyarmak ve ovulasyonu indüklemek için uygulanır. Ovulasyon indüksiyonu için çeşitli ilaçlar mevcuttur. En sık reçete edilenler; CC, FSH, hCG, insan menopozal gonadotropin (Hmg), bromokriptin, kabergolin, GnRH analogları, insülin duyarlılaştırıcı

ajanlar ve LH'dir. ART için KOH, hipofiz aktivitesinin baskılanması, çoklu folikül büyüme stimülasyonu ve ovulasyon indüksiyonu sıralamasında tedavi protokolünü takip eder. Hipofiz aktivitesini baskılayarak, zamansız LH dalgalanmasını önlemek ve önce büyüyen folikülün uygun şekilde gelişmesine izin vermek mümkündür (Şekil-4) (Lindheim ve diğerleri, 2018).



Şekil 4. Hipotalamus-hipofiz-ovaryum (HPG) aksı

Ovulasyon indüksiyon ilaçlarının kullanımı ile ilişkili, yüksek dereceli çoklu doğum oranında artış ve OHSS gelişimi dahil olmak üzere riskler vardır. OHSS, protein açısından zengin sıvının vasküler alandan peritoneal, plevral ve daha az oranda perikardiyal boşluklara masif transüstasyonu ile karakterizedir. Sendromun yoğunluğu, ovulasyonu indükleyen ajanlara ovaryumlardaki verilen foliküler yanıtın derecesi ile ilgilidir.

OHSS, özellikle IVF tedavilerinde, gonadotropinlerle ovaryan stimülasyonunun en önemli komplikasyonlarından biridir. Konvansiyonel IVF döngülerinde, hafif OHSS'nin döngülerin yaklaşık üçte birini etkilediği tahmin edilirken, orta veya şiddetli OHSS'nin birleşik insidansı %3,1 ila 8 arasında değişmektedir. OHSS, bazı durumlarda gonadotropinlere karşı kendine özgü bir reaksiyon olarak kabul edilse bile, ovaryum stimülasyonuna aşırı bir cevaptan kaynaklanır. Ovaryumu indükleyen ilaçlar ile ilişkili olmayan spontan OHSS vakaları da tanımlanmıştır (Humaidan ve diğerleri, 2016).

FSH tarafından KOH takiben ovaryumlara hCG veya LH maruziyeti, OHSS vakalarının çoğunun temelini oluşturur. Aşırı uyarılmış ovaryumların hCG'ye maruz kalması, başta VEGF olmak üzere proinflamatuvar mediatörlerin üretimine yol açar. OHSS'nin patogenezinde ve klinik özelliklerinde çeşitli sitokinlerin rol oynaması muhtemeldir. Artmış vasküler geçirgenlik ve protrombotik etki dahil olmak üzere proinflamatuvar mediatörlerin lokal ve sistemik etkileri

ile ovaryum büyümesinin ortaya çıkması, OHSS'nin klinik özelliklerinden sorumludur (Ata ve Tulandi 2009).

Öyküde OHSS varlığı, PKOS, artmış antral folikül sayısı veya yüksek AMH öyküsü olan kadınlar OHSS riski altındadır. Meta-analizlerden elde edilen kanıtlara göre, KOH amacıyla uygulamanın bir parçası olarak GnRH agonistlerinin kullanıldığı döngülere kıyasla, GnRH antagonistleri kullanan IVF döngülerinde OHSS riskinin azaldığını göstermektedir. OHSS, bu önleyici tedbirlere rağmen, yüksek risk taşımayan hastalarda ve tedavi döngülerinde ortaya çıkabilir. Tedavinin sonucu aynı zamanda, gebeliğin meydana geldiği sikluslarda ve çoğul gebelikle sonuçlanan sikluslarda daha yüksek olan insidansı da etkiler ve endojen hCG'nin önemli rolünü vurgular (Al-Inany ve diğerleri, 2011).

2.3.1. OHSS Tanısı

OHSS tanısı klinik gözlem ve muayene ile konulmaktadır. Hastalarda tipik muayene bulgusu olarak, foliküler olgunlaşmayı desteklemek için kullanılan tetik enjeksiyonunu takiben karın şişliği ve rahatsızlığı görülür. Daha önce aşırı ovaryan yanıt öyküsü bulunan hastalarda OHSS riski artmakla birlikte, böyle bir öykünün olmaması, klinik olarak OHSS tanısını dışlamak için yeterli değildir. Tetik enjeksiyonu takiben başvuru zamanına göre hastalar erken ve geç OHSS olmak üzere iki gruba ayrılır. Erken OHSS genellikle hCG enjeksiyonundan sonraki 7 gün içinde ortaya çıkar ve aşırı ovaryum cevabı ile ilişkilidir. Geç OHSS, hCG enjeksiyonundan 10 veya daha fazla gün sonra ortaya çıkar ve genellikle erken gebelikte oluşan endojen hCG' nin sonucudur. Geç OHSS, erken formdan daha uzun süreli ve şiddetli olma eğilimindedir (Mathur ve diğerleri, 2000).

OHSS'nin semptomları spesifik olmadığından bu duruma özgü tanı testleri bulunmamaktadır. Bu nedenle, benzer şekilde ortaya çıkabilecek ancak çok farklı yönetim gerektiren diğer ciddi durumları dışlamak için özen gösterilmelidir. Tam kan sayımı, serum elektrolitleri ve ozmolalite, pelvik ultrason taraması ve seçilmiş vakalarda abdominal görüntüleme ile birlikte deneyimli bir klinisyen tarafından dikkatli bir değerlendirme gerekebilir. Yüksek hematokrit, azalmış serum ozmolalitesi ve düşük sodyum düzeyi OHSS'nin göstergesidir. Önemli ayırıcı tanılar arasında pelvik enfeksiyon, pelvik apse, apandisit, over torsiyonu veya kist rüptürü, bağırsak perforasyonu ve ektopik gebelik yer alır. Bu nedenle

OHSS, fertilite tedavisi sırasında karın ağrısı ile başvuran kadınlar için varsayılan öncelikli tanı olmamalıdır.

Karında şişkinlik, rahatsızlık / ağrı, analjezi ihtiyacı, mide bulantısı ve kusma, nefes darlığı, azalmış idrar çıkışı, bacaklarda ödem, tromboz ile ilişkili semptomlar gözlenebilir. Muayene bulguları olarak, dehidrasyon, ödem (pretibial, vulval ve sakral), nabız, solunum hızı, kan basıncı, vücut ağırlığı kontrol edilmelidir. Karın muayenesinde asit, palpe edilebilir kitle, karın çevresi ölçümü; solunum muayenesinde plevral efüzyon, pnömoni, pulmoner ödem için değerlendirme yapılmalıdır.

Tam kan sayımı (hemokonsantrasyon), C-reaktif protein (şiddet), üre ve elektrolitler (hiponatremi ve hiperkalemi), serum ozmolalitesi (hipo-ozmolalite), karaciğer fonksiyon testleri (yüksek enzimler ve azalmış albümin), pıhtılaşma profili (yüksek fibrinojen ve azalmış antitrombin), hCG (tedavi döngüsünün sonucunu belirlemek için), uygunsa ultrason taramasında over boyutu, pelvik ve abdominal serbest sıvı varlığı yapılması gereken testler arasındadır. Arteriyel kan gazları, D-dimer, elektrokardiyogram/ekokardiyogram, göğüs röntgeni, bilgisayarlı tomografi, pulmoner anjiyografi veya ventilasyon/perfüzyon taraması klinikle uyumlu ise istenmelidir.

2.3.2. OHSS Sınıflandırması

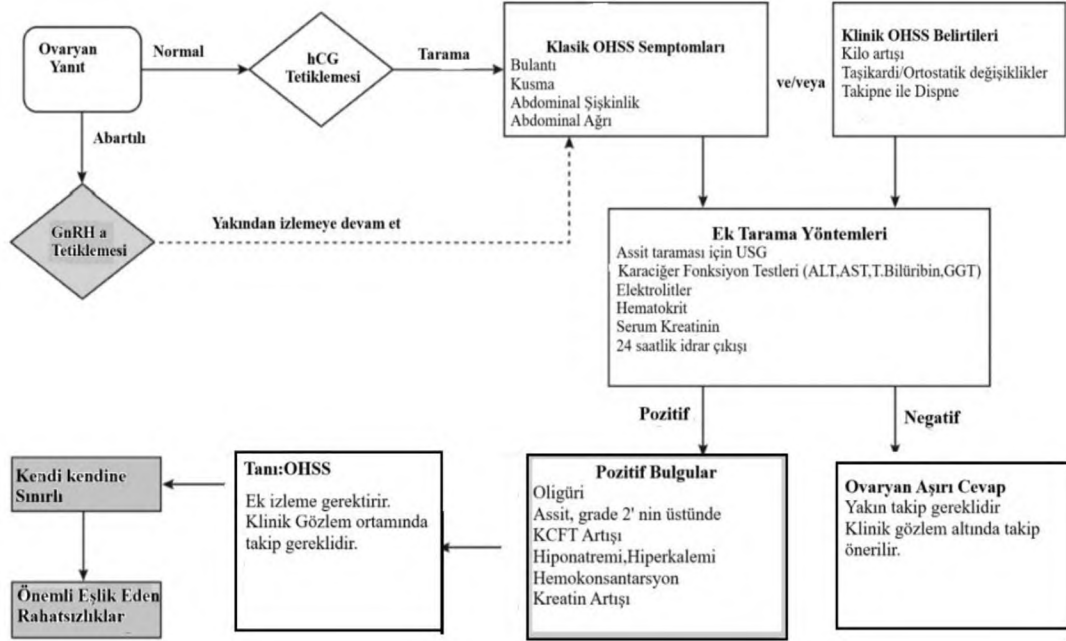
OHSS'nin ciddiyetini sınıflandırmak için çeşitli şemalar geliştirilmiştir. Rabau ve arkadaşları 1967, Schenker ve Weinstein 1978, 1992 yılında Navot ve arkadaşları, 1999 yılında ise Rizk ve Aboulghar sınıflandırmada revizyonlar yapmışlardır. Bu konuda net bir fikir birliği olmamakla birlikte önceki sınıflandırmalardan elde edilen özellikler eklenerek bir rehber oluşturulmuştur (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 2007). OHSS'nin farklı şiddet ve aşamalarında insidans karşılaştırması yapmak, OHSS yönetim şemasını standardize edip optimal hale getirmek ve tedaviyi kişiselleştirmek sınıflandırmanın temel amacıdır (Çetin ve diğerleri, 2017). Sınıflandırmada öncelikli olan kriterler gözönünde bulundurularak OHSS hafif, orta, şiddetli ve kritik olmak üzere 4 sınıfa ayrılmıştır:

Tablo 1. OHSS sınıflandırması

Hafif OHSS	Karın şişkinliği Hafif karın ağrısı Over büyüklüğü $< 8\text{ cm}^3$
Orta OHSS	Orta derecede karın ağrısı Bulantı $\pm$ kusma Ultrasonda asit varlığı Over büyüklüğü $8-12\text{ cm}^3$
Şiddetli OHSS	Klinik asit ($\pm$ hidrotoraks) Oligüri ($< 300\text{ ml/gün}$ veya $< 30\text{ ml/saat}$) Hematokrit > 0.45 Hiponatremi (sodyum $< 135\text{ mmol/l}$) Hipo-ozmolalite (ozmolalite $< 282\text{ mOsm/kg}$) Hiperkalemi (potasyum $> 5\text{ mmol/l}$) Hipoproteinemi (serum albümin $< 35\text{ g/l}$) Over büyüklüğü genellikle $> 12\text{ cm}^3$
Kritik OHSS	Gergin asit / büyük hidrotoraks Hematokrit > 0.55 Beyaz küre sayısı $> 25\ 000/\text{ml}$ Oligüri/anüri Tromboemboli Akut Respiratuar Distress Sendromu (ARDS)

OHSS'nin dinamik yapısı nedeniyle orta formlar hızlıca ciddi forma dönüşebilir. OHSS nadiren böbrek yetmezliği, ARDS, over kist rüptüründen kaynaklanan kanama ve tromboembolizm gibi hayatı tehdit eden komplikasyonlarla ilişkili olabilir. Ayaktan tedavi edilen şiddetli OHSS'li kadınlara düşük molekül ağırlıklı heparin ile tromboprofilaksi

uygulanmalıdır. Tedavi süresi, risk faktörleri ve gebe kalıp kalmadığı dikkate alınarak bireyselleştirilmelidir (Şekil-5) (Humaidan ve diğerleri, 2016):



Şekil 5. OHSS klinik yaklaşım diyagramı

2.3.3. OHSS Patofizyolojisi

OHSS'nin patofizyolojisi henüz kesin olarak açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte, sendromun başlıca klinik bulgularından sorumlu mekanizmanın, sistemik düzeyde artan kapiller damar geçirgenliği olduğu öne sürülmektedir (Nelson, 2017; Kwik ve Maxwell, 2016). Bu artmış vasküler geçirgenlik, sıvının intravasküler boşluktan ekstravasküler alana hızlı ve yoğun bir şekilde kaçışına neden olur. Kliniğin gelişiminde birkaç farklı moleküler yolun kritik olduğu gösterilmiştir (Rizk ve diğerleri, 1997). İlk mekanizma, LH'dan önemli ölçüde daha büyük biyolojik aktivitesi nedeniyle hCG aracılıdır. Farklı bir mekanizma, hCG reseptör aktivasyonuna bağımlı veya bağımsız inflamatuvar sitokinlerin anormal folikül ekspresyonunu, anjiyotensin-renin sisteminin aktivasyonunu ve VEGF artmış ekspresyonunu içerir. VEGF artışı ve VEGF reseptörü 2'nin hiperaktivasyonu, vasküler geçirgenlikte büyük bir artış ve bunun sonucunda üçüncü boşluğa sıvı geçişi ile ilişkilidir (Miller ve diğerleri, 2016). Diğer moleküler yollar, kallikrein-kinin sisteminin aktivasyonu veya insan granüloza hücrelerinde transforme büyüme faktörü (TGF)- β 1 aracılı düzenlenmesi veya anjiyotensin II, histamin, prolaktin, prostaglandinler ve insülin benzeri

büyüme faktörü (IGF) salınımı gibi bağımsız olarak aşırı geçirgenliği tetikleyen ve/veya VEGF ekspresyonunu ve aktivitesini güçlendiren araçlardır (Kwik ve Maxwell, 2016; Palumbo ve diğerleri, 2016). İntra-ovaryan renin-anjiyotensin sistemi (OVRAS), OHSS'de rol oynayan başka bir patofizyolojik mekanizmadır. hCG'nin, OHSS'li kadınların foliküler sıvısında saptanan yüksek renin aktivitesi ile ilişkili olarak RAS'ı aktive ettiği gösterilmiştir. VEGF ve RAS'ın artmış düzeyleri, OHSS gelişiminde anahtar rol oynayan moleküler mekanizmalar arasında yer almaktadır (Herr ve diğerleri, 2013).

2.3.3.1. OHSS ve VEGF

İnsan VEGF geni 6p12 kromozomu üzerinde bulunur ve sekiz eksondan oluşmaktadır, insan ve kemirgenlerde benzer ekzon yapısına sahiptir (Burchardt ve diğerleri, 1999). VEGF, moleküler ağırlığı 38-46 kDa arasında değişen bir heparin bağlayıcı homodimerik glikoprotein olarak karakterize edilen ve ovaryum granüloza hücreleri tarafından sentezlenen Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF) ailesi içinde yer alan ana proanjiogenik faktördür (Pellicer ve diğerleri, 2019). VEGF'nin fizyolojik etkilerine, endotel hücrelerinin yüzeyinde belirgin bir şekilde eksprese edilen tirozin kinaz reseptör ailesine ait özellikle VEGFR-1 (Flt-1 olarak da bilinir) ve VEGFR-2 (FLK1/KDR olarak belirtilir) ait reseptörlerle etkileşimi aracılık eder. VEGFR-2, vasküler geçirgenlik, anjiyogenez ve vaskülogenezin düzenlenmesinde rol oynarken, VEGFR-1 endotel hücreleri arasında sıkı bağlantıların kurulmasından ve korunmasından sorumludur (Shalaby ve diğerleri, 1995). VEGF'nin KOH hastalarında hCG ile arttığına dair kanıtlar mevcuttur. Gonadotropin stimülasyonunu KOH olarak uygulayan bazı deneyler, ovaryumların büyüdüğünü, abdominal asit artışının bulunduğunu ve ovaryan VEGF, VEGFR-2 mRNA ve protein seviyelerinin arttığını göstermiştir. hCG uygulaması sonrasında tüm bu parametrelerde maksimum düzeye ulaşıldığı gözlemlenmiş olup, bu etkilerin çevre dokulardan ziyade ovaryuma özgü olduğu anlaşılmıştır. Nitekim, ooferektomize edilen hayvanlarda asit oluşumunun gözlenmemesi, bu etkinin ovaryan kaynaklı olduğunu desteklemektedir (Gómez ve diğerleri, 2003).

Oosit olgunlaşmasının tetiklenmesinde son adım olan hCG'nin ekzojen uygulanması, KOH sonrası OHSS gelişmesinin en önemli sebebidir, hCG uygulaması durdurulduğunda sendromun gelişmediği gözlenmiştir. hCG'nin kendi başına vazoaaktif özelliği olmadığından, anjiyojenik molekül olan VEGF'nin, hCG'ye bağımlı ovaryan anjiyogenezinin en önemli

aracısı olduğu gösterilmiştir. OHSS riski altındaki kadınlarda da serum, plazma ve periton sıvılarında salgılanan proteinlerin yüksek seviyeleri tespit edilmiştir. Bunun sonucunda neovaskülarizasyon ve vasküler aşırı geçirgenlik uyarılır (Gille, 2001). VEGF, VEGFR-2 ile etkileşime girerek vasküler geçirgenliğin güçlü bir aracısı olmasının yanı sıra; gelişmekte olan embriyoda ve siklik endometrial doku ve luteinizan folikül gibi fazla anjiyogeneze gösteren yetişkin dokularda anjiyogenezin başlatılmasında ve gelişmesinde de güçlü bir şekilde rol oynar. Aynı zamanda neovaskülarizasyona aracılık ederek ovaryum foliküllerinin ve korpus luteumun büyümesinde ve korunmasında da önemli bir araçtır (Aboulghar ve Mansour, 2003). Hipoksi, onkogenler, siklooksijenaz-2, nitrik oksit, endotelial büyüme faktörü (EGF), IGF-1, PDGF, bFGF, TGF- β gibi çeşitli büyüme faktörlerinin ve TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8 gibi çeşitli sitokinlerin VEGF gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Joško ve Mazurek, 2004).

2.3.3.2. OHSS ve Siklooksijenaz 2 (COX-2)

Siklo-oksijenaz enzimleri, araşidonik asitten prostaglandinlerin (PG'ler) sentezini katalize ettikleri inflamasyon dahil çok sayıda fizyolojik yanıtta rol oynar. COX, araşidonik asidi öncü prostaglandin H₂'ye (PGH₂) metabolize eder. Daha sonra PGH₂, spesifik prostaglandin sentazları ve izomerazları tarafından prostaglandin E₂ (PGE₂), PGD₂, PGF₂ α , PGI₂ ve tromboksan (TXA₂) gibi çeşitli diğer prostanoidlere hızlı bir şekilde dönüştürülür (Strauss ve FitzGerald, 2019). COX-1, iki COX izoformundan biridir ve normal fizyolojik fonksiyonların sürdürülmesinden sorumludur; çoğu dokuda yapısal yer alır. Buna karşılık COX-2, büyüme faktörleri, proinflamatuvar sitokinler, tümör promotörleri ve bakteriyel toksinler tarafından indüklenen bir erken yanıt genidir (Prescott ve Fitzpatrick, 2000). COX-2 enzimi kromozom 1 üzerinde yer alan gen tarafından kodlanır. COX-2'nin nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) tarafından inhibisyonu, anjiyogenezin inhibisyonu, VEGF ve bFGF-2 gibi anjiyojenik faktörlerin azalması ile sonuçlanır.

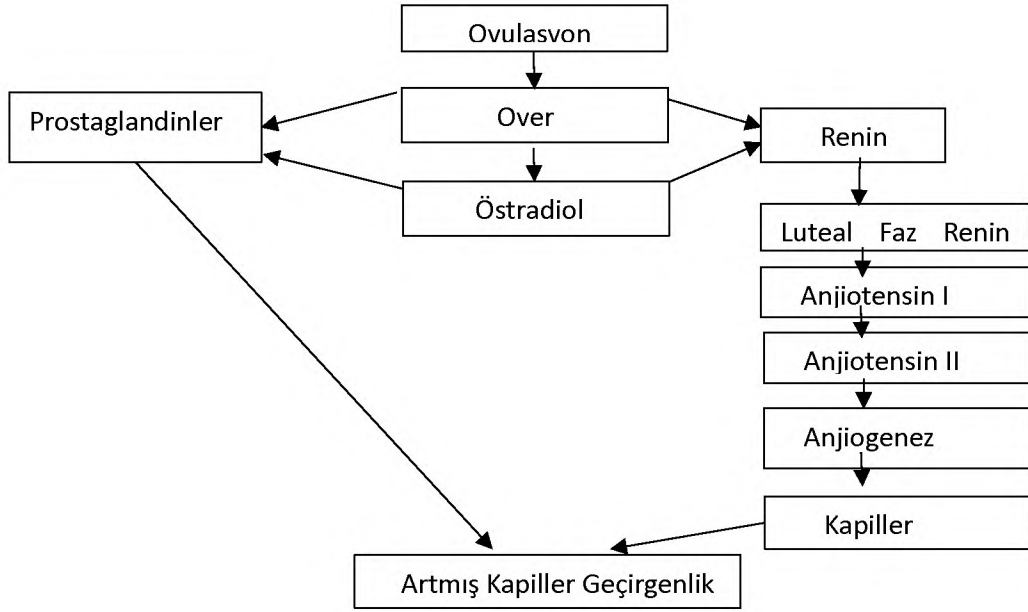
Progesteron çekilmesinin başlamasıyla birlikte, açığa çıkan araşidonik asitten sentezlenen PG'lere bağlı olarak ortaya çıkan inflamatuvar cevap hem kramplardan hem de bulantı, kusma, şişkinlik hissi ve baş ağrısı gibi sistemik semptomlardan sorumludur. Özellikle PGF₂ α vazokonstriksiyon ve miyometriyal kontraksiyon sonucu iskemi ve ağrıya neden olur. NSAID kullanımı COX-2 'nin azalmasıyla birlikte VEGF'yi azaltır (Nagano ve diğerleri, 2019). Quintana ve ark. Meloksikam ile yapmış oldukları çalışmada, VEGF ve COX-2

immünoreaktivitesinin hormon kaynaklı OHSS ile ilişkili olduğunu ve meloksikam tedavisinin muhtemelen COX-2'nin spesifik inhibisyonu yoluyla OHSS'yi kısmen baskıladığını göstermişlerdir (Quintana ve diğerleri, 2008).

2.3.3.3. OHSS ve Ovarian Renin-Angiotensin Sistem (OVRAS)

Yüksek moleküler ağırlıklı öncü prorenin aktif renin'den 10 kat daha fazla miktarda plazmada bulunur. Böbrek afferent arteriyol duvarındaki jukstaglomerüler hücre kökenine ek olarak, prorenin ayrıca ovaryum, plasenta ve diğer dokular tarafından da üretilir. Anjiyotensinojen, anjiyotensin I (AI) oluşturmak için bir asit proteaz olan renin tarafından parçalanırken, AI anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin II'ye (AII) parçalanır. Plazma prorenin, hMG/hCG ile ovulasyon indüksiyonu ve KOH'de hCG uygulamasından sonra da artar, sonucunda bu hastalarda foliküler sıvı prorenin seviyeleri, hMG/hCG stimülasyonundan sonra plazma prorenin konsantrasyonlarından yaklaşık 10 kat daha yüksektir (Palumbo ve diğerleri, 2016).

OVRAS, renal RAS'tan bağımsız olarak işlev görmektedir. Overin lokal RAS'ı avasküler preovulatuvar folikülün, vaskülarize olmuş korpus luteuma dönüşmesine yol açar, vasküler geçirgenliği artırır ve prostaglandin salınımını uyarır. OHSS'li hastaların foliküler sıvısında ve plazmasında yüksek renin aktivitesi gösterilmiştir. Bu nedenle, VEGF'nin etkisine çok benzeyen OVRAS aynı zamanda yeni damar oluşumuna, ovaryum büyümesine ve hücre dışı sıvı tutulmasına yol açan kapiller geçirgenliğin artmasına neden olur; bu, OHSS'nin karakteristik bir özelliğidir (Şekil 6). AII ayrıca postkapiller venülleri daraltarak kapiller filtrasyon basıncını da artırır. Daha büyük arteriyollerin AII'ye olası bir spazm tepkisi, endotel hücrelerinin ayrılmasına neden olarak vasküler geçirgenlikte daha fazla artışa yol açabilir (Fernandez ve diğerleri, 1985). Bu mekanizmalar; kan hacminde belirgin bir azalma, ekstrasvasküler sıvıda ve lenfatik sıvının akışında artışa neden olmak için birlikte hareket edebilirler.



Şekil 6. RAAS (Renin-Angiotensin-Aldosterone Sistemi) ve prostaglandinlerin OHSS'deki rolü

OVRAS, folikül gelişimini, ovulasyonu ve normal üreme için gerekli olan steroid hormon salgılanmasını etkiler. Bir intraovaryan peptit olan AII, anjiyogenezisi uyararak, vasküler geçirgenliği arttırarak ve prostaglandinlerin salınımını uyararak, OHSS'nin patofizyolojik mekanizmalarında rol oynayan önemli faktörlerden biridir (Yoshimura ve diğerleri,1993). OVRAS'ın moleküler blokajı oosit olgunlaşmasını ve ovulasyonu engeller. Yapılmış çalışmalar; bFGF ve VEGF'nin hem luteal AII hemde PGF2α sekresyonunu artırdığını ve de korpus luteum dan progesteron sentezini desteklediğini göstermektedir (Shirasuna ve diğerleri, 2012).

2.3.3.4. OHSS ve Pigment Epitel Derive Faktör (PEDF)

PEDF, nörotrofik ve immün modüle edici özelliklere sahip doğal bir anjiyogenez inhibitörü olan, serin proteaz inhibitörü üyelerine ait salgılanan, 50 kDa'lık bir glikoproteindir (Crawford ve diğerleri, 2013). PEDF, hormonal aktiviteye bağlı olarak insan ovaryum granuloza hücrelerinde eksprese edilir. PEDF, invitro olarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü inhibe etme yeteneği ile antianjiyojenik bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. hCG, hem in vivo hem de in vitro olarak PEDF ekspresyonunu azaltabilir. Sonuç

olarak, PEDF ve VEGF arasındaki dengenin fizyolojik ovaryum işlevselliğini yönettiği ve bu iki karşıt düzenleyici faktör arasındaki karmaşık etkileşimin bir dereceye kadar hCG veya LH'dan etkilenebileceği gösterilmiştir (Chuderland ve diğerleri, 2013). Benzer şekilde, IL-8 ile uyarılan ovaryum granüloza hücreleri, VEGF mRNA'nın ekspresyonunu arttırmıştır. hCG ile birlikte uygulanan stimülasyon, VEGF mRNA'nın ekspresyonunda önemli ölçüde daha yüksek bir artışa neden olmuştur. Bu artış PEDF uygulamasıyla önemli ölçüde inhibe edilmiştir. İn vivo çalışmalar, OHSS modeli oluşturulmuş farelere uygulanan PEDF enjeksiyonunun, ovaryum kaynaklı IL-6 ekspresyonunu azalttığını ve sendromun şiddetini hafiflettiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, PEDF'nin OHSS patofizyolojisinde hem inflamatuvar hem de anjiyojenik mekanizmaları antagonize edebilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Miller ve diğerleri, 2016).

2.3.3.5. OHSS ve Sitokinler

Sitokinler, aktive edilmiş immün düzenleyiciler olup mezenkimal hücreler tarafından sentezlenen polipeptitlerdir. Geç foliküler fazda, mast hücreleri, midsiklus gonadotropin dalgalanmasına yanıt olarak degranülasyona uğrayıp, ovaryum stromasına büyük ölçüde sızarlar (Nakamura ve diğerleri, 1987). Bu degranülasyonu polimorfonükleer hücrelerin, T lenfositlerin ve makrofajların göçü takip eder. Bu belirgin akut inflamatuvar reaksiyon muhtemelen foliküler kemotaktik faktörlerin sekresyonu ve/veya salınımı ile ilişkili olarak, ovulasyon sırasında meydana gelen, artmış foliküler neovaskülarizasyona sekonder olabileceği gibi oositin kendisi de sitokin üretebilir (Zolti ve diğerleri, 1991).

İnterlökin-1, pekçok hastalık patogenezinde rol almasının yanında enfeksiyon, inflamasyon, immunolojik yanıt gibi birçok sistemik olayda mediatör olarak görev almaktadır. Ağır OHSS'li hastalarda klinik gerilemeyle birlikte IL-1'in anlamlı olarak düşüşü görülmüştür. Daha önemlisi IL-1, hematokrit ve östradiol konsantrasyonu ile korelasyon gösterir. Şiddetli OHSS'de IL-1'in sistemik dolaşıma salınımı hipotezi kapiller hiperpermeabilite, hemokonsantrasyon ve diğer akut faz yanıtlarına sebep olabilmektedir (Shi ve diğerleri, 2015).

IL-6 neoplastik ovaryan hücreler tarafından sentezlenir ve anjiyogenezin ilerlemesine, tümör hücre dinamiklerinin modülasyonuna ve ovaryum maligniteleriyle ilişkili asit oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunabilir. IL-6'nın OHSS etiyojisine katkısı belirsiz olmakla birlikte,

neovaskülarizasyon ve asit oluşumu süreçlerinde rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Watson ve diğerleri, 1990). TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 ve IL-8 sitokinlerinin etkilerinin kombine veya sinerjik etkide olabileceği tahmin edilmiş, vasküler geçirgenlikte değişikliklerde mediatör olabileceği gösterilmiştir (Shi ve diğerleri, 2015).

TNF- α , asıl olarak stimüle makrofajlar tarafından üretilen 17 kDa'lık bir polipeptittir (Revel ve diğerleri, 1996). İnflamatuvar, immün ve konak savunma mekanizmalarının endojen bir aracısı olarak hareket eden son derece güçlü bir sitokindir. TNF- α , diğer tüm sitokinlerden daha fazla, çeşitli akut inflamasyonu karakterize eden patofizyolojik süreçlerle bağlantılıdır ve vasküler geçirgenliğin tanınmış bir aracısıdır. TNF- α 'nin lokalize, kısıtlı etkileri faydalı olabilirken, sistemik salınımı, kapiller kaçış sendromunda olduğu gibi yıkıcı ve hızla ölümcül olabilir. Ovaryumda, TNF- α hücre büyümesini uyarır, folikülogeneze katılır. TNF- α 'nın oosit üretimi ve salınımı gonadotropin tarafından uyarılabilir (Chistyakova ve diğerleri, 2014).

2.3.4. OHSS'nin Önlenmesi

OHSS ile ilişkili risk faktörleri klasik olarak demografik, klinik ve ovaryan rezerv belirteçleri olarak ayrılır. Temel demografik ve klinik faktörler arasında genç yaş, polikistik over sendromu, ovulatuvar bozukluklar, önceki OHSS öyküsü, genetik faktörler bulunur (Tang ve diğerleri, 2015). Ovaryum rezerv belirteçleri açısından, serum AMH seviyesi 3.36 ng/mL'nin üzerinde (%90'ın üzerinde duyarlılıkla) ve geç foliküler faz serum estradiol düzeylerinin 3.500 pg/mL'nin üzerinde olması OHSS riskini tahmin edebilir. 24 veya daha yüksek toplam antral folikül sayısı orta-şiddetli OHSS riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Lee ve diğerleri, 2008; Jayaprakasan ve diğerleri, 2012).

A-Primer Önleme Yöntemleri

Primer önleme stratejileri, kontrollü ovaryan stimülasyon sürecinde, hastanın bireysel risk profiline uygun olarak en uygun protokolün seçilmesini ve böylece aşırı yanıt riskinin en aza indirilmesini hedeflemektedir.

1-Ovulasyon indüksiyon rejimleri: OHSS riski, anamnez, fizik muayene, ultrason sonuçları ve AFC'ye göre ayrı ayrı değerlendirilmelidir (Lamazou ve diğerleri, 2011). PKOS'lu hastalar OHSS için daha yüksek risk altındadır. Bu hastalarda ovulasyon indüksiyonu için minimum gonadotropin dozu kullanılmalıdır ve basamak basamak doz arttırımının, doz

azaltmaktan daha üstün olduğu düşünülmektedir. Doz artırma uygulamasında, ovulasyon indüksiyonu düşük dozda gonadotropin (75 IU) ile başlatılır. Gonadotropin, 14 gün sonra, ancak büyüyen bir folikül >10 mm ile uygun bir over cevabı oluşmamışsa artırılır. Uygun doz arttırımı, en az 1 folikül ≥ 18 mm üretilene kadar devam eder (Howles ve diğerleri, 2010).

2-Metformin: Geniş çaplı bir incelemeye göre, metforminin canlı doğum oranları üzerinde hiçbir etkisi olmaksızın, OHSS riskini etkili azalttığı ve klinik gebelik oranlarını artırdığı bildirilmiştir (Tso ve diğerleri, 2009). OHSS' yi önlemek için KOH uygulamasından en az 2 ay önce kullanıma başlanması önerilir (El-Faissal, 2014). Metformin'in OHSS riskinin azaltılması üzerindeki yararlı etkilerini açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Bunlar; insülin ve IGF-1 seviyesinde azalma ile insülin duyarlılaştırıcı etkileri, serum VEGF seviyelerinde azalma ile anti-inflamatuar etkileri ve intraovaryan androjen seviyelerinde azalma ve granüloza hücresinin normal FSH duyarlılığının restorasyonu ile anti-androjenik etkiyi içerir (Unanyan ve diğerleri, 2022).

3-Ovulasyon indüksiyonu için aromataz inhibitörleri: Aromataz inhibitörleri, sitokrom p450 enzimlerini inhibe ederek östrojen üretimini azaltma yoluyla etki eder. Bir aromataz inhibitörü olan letrozol, endojen FSH ve LH salınımını artırır ve periferik doku östrojen reseptörlerini etkilemeden, granüloza hücrelerinde androjen aromatzasyonunun inhibisyonu yoluyla dolaşımdaki estradiol seviyelerini azaltarak hipofiz üzerinde negatif geri bildirimi sağlar. Ovulasyon indüksiyonu sırasında OHSS insidansını azaltır (Palomba, 2015).

4-IVF tedavi rejimlerinin bireyselleştirilmesi: OHSS'yi önlemek için KOH bireyselleştirilmeli ve gonadotropin uygulaması her kadına ayrı ayrı uyarlanmalıdır. AFC ve AMH kombinasyonunun, hiperstimülasyon olasılığını tahmin etmek için en iyi biyobelirteç olduğu kabul edilmektedir (Bosch ve Ezcurra, 2011).

5-PKOS'lu hastalarda laparoskopik ovaryan drilling: Ovaryan drilling (OD), tıbbi tedavinin başarısız olması durumunda dikkate alınması gereken ikinci basamak tedavidir. OD, %30-90'lık genel spontan ovulasyon oranı ve %13-88'lik son gebelik oranları ile sonuçlanır (Costello ve diğerleri, 2019). Isı veya lazer kullanılarak yapılan küçük perforasyonların foliküler büyüme ve ovulasyon ile sonuçlanmasına ait kesin mekanizma henüz açıklanmamıştır. Sonuçları iyileştirici etkinin, ovaryum üzerinde doğrudan mı yoksa sistemik bir endokrin mekanizma yoluyla mı gerçekleştiği bilinmemektedir. En uygun açıklama, ovaryan foliküllerin ve androjen üreten stromasının bir kısmının termal hasarlanmasıyla, hem lokal olarak hemde serum androjenlerinde azalmaya yol açarak daha uygun intrafoliküler ortamın yeniden kurulmasını sağlamasıdır. Diğer olası mekanizmalar, AMH konsantrasyonlarındaki azalma ve

polikistik overin çok kalın kortikal duvarında delikler oluşmasıdır (Kinneer ve diğerleri, 2020). OD'nin temel avantajı, ovulasyon indüksiyonu için gerekli olan gonadotropinlerin dozunu ve süresini azaltmasıdır. OD, 4-10 mm derinlikte 4-10 koterizasyon noktasını indükleyerek bir veya her iki over için yapılabilir. Her ovaryumun 4 noktadan daha az delinmesi daha düşük gebelik oranlarına yol açabilir ve 10 noktadan fazla indüklemek ovaryum hasarına neden olabilir. En iyi sonuçlar, serum LH düzeyleri yüksek olan zayıf kadınlarda görülmüştür (Jahromi ve diğerleri, 2018).

6-Ovulasyonu tetiklemek için hCG alternatifleri: Foliküllerin matürasyonunu tetiklemek için tercih edilen protokol, OHSS gelişme riskine göre belirlenmelidir. Eksojen hCG uygulamaları LH dalgalanmasını önlemek için kullanılmaktadır. Fakat uzun yarılanma ömrüne sahip olması uzun luteotrofik etkilere yol açtığından tetikleme için farklı uygulamalar önerilmiştir. hCG tiplerini karşılaştırmayı amaçlayan bir sistematik incelemede, rekombinant hCG (r-hCG) ve idrar hCG (u-hCG) arasında OHSS riski açısından anlamlı bir fark gösterilmemiştir. Benzer şekilde canlı doğum, klinik gebelik, devam eden gebelik ve düşük oranlarında da herhangi bir farklılık saptanmamıştır (Youssef ve diğerleri, 2016).

GnRH-a uygulaması, bir GnRH-ant ile düzenlenen IVF tedavilerinde oosit olgunlaşmasını tetiklemek için etkilidir. Son araştırmalar, OHSS riskini azaltma açısından matür oosit için hCG uygulamasına kıyasla GnRH-a kullanımının daha etkin olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, yeni otolog transfer döngülerinde canlı doğum ve devam eden gebelik oranlarında bir azalma ve erken düşük oranlarında bir artış gözlenmiştir (Youssef ve diğerleri, 2014).

Rekombinant LH, insan hipofiz LH'si ile aynı biyolojik ve farmakokinetik özelliklere sahiptir. Tetikleme için 30.000 IU'ya kadar tek bir doz kullanımı, final foliküler olgunlaşmayı indüklemek için etkili olduğu gibi OHSS'de önemli bir azalma sağlar (The European Recombinant Human LH Study Group,1998). Canlı doğum veya devam eden gebelik oranı, klinik gebelik oranı, düşük oranı ve tedavi sırasında toplanan oosit sayısı açısından fark gözlenmemiştir (Youssef ve diğerleri, 2016).

hCG dozunun 10000 IU'luk geleneksel kullanımı yerine daha düşük dozlarla uygulanmasının klinik sonuçları etkilemediği gösterilmiştir. Düşük doz hCG uygulamaları ile OHSS arasında ilişkiye ait kesin bir fikir birliği yoktur (Fiedler ve Ezcurra, 2012).

OHSS geliştirme riski yüksek olan hastalara GnRH ant uygulandıktan sonra bu riskin minimuma indiği kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, GnRH ant protokollerinden sonra etkinlik ve gebelik oranları ile ilgili tartışmalar olmuştur (Xing ve diğerleri, 2015).

B-Sekonder Önleme Yöntemleri

Sekonder önleme stratejileri ise, KOH'na aşırı yanıtı olan hastalarda OHSS'yi önlemek için kullanılır.

1- Coasting Yöntemi: GnRHant ya da GnRHa uygulamalarını içeren, serum estradiol seviyesinde önemli bir azalma elde edilene kadar hCG uygulamasının geciktirilmesini içeren bir OHSS önleme stratejisidir (Gearhart ve Coutifaris, 2011). Bununla birlikte, prosedürün etkinliğini canlı doğum, klinik gebelik ve düşük oranı açısından değerlendirmek için yetersiz kanıtlar mevcuttur. Estradiol miktarı 1500 pg/ml üzerindeyken öncü folikül çapı 15 mm'den az ise FSH uygulamayarak coasting başlamalıdır. Estradiol yükselişi 1 gün daha devam eder, dominant folikül hacmi FSH kesilmesinden 4 gün sonraya kadar artmaya devam eder (Kolibianakis ve diğerleri, 2006). İmplantasyon ve gebelik oranlarının düşmesini önlemek için coasting 4 günden fazla sürmemelidir.

2- Embriyo Kriyoprezervasyonu: İki randomize kontrollü çalışma ile yapılan bir Cochrane incelemesinde rutin kriyoprezervasyonu destekleyen yeterli kanıt olmamasına rağmen, son çalışmalar OHSS'yi önlemede en etkili yöntemin bir GnRHa tetikleyicisinin kullanılması ve ardından tüm embriyoların dondurularak saklanması olduğunu bildirmiştir (Devroey ve Adriaensen, 2011). Transferden kaçınılan durumlarda tüm embriyoların dondurularak saklanması, gebelikten itibaren hCG üretimini ve sonuç olarak erken OHSS formunu azaltabilir. "Freeze-all stratejisi" olarak da bilinen elektif kriyoprezervasyon, tüm embriyoların dondurulduğu ve "döngü segmentasyonu" olarak da bilinen sonraki dondurulmuş-çözülmüş embriyo döngülerinde transfer edildiği bir IVF döngüsünün planlanmasından oluşan stratejidir (Oktay ve diğerleri, 2006). Canlı doğum, kümülatif gebelik ve düşük oranlarında, elektif kriyoprezervasyon ile konvansiyonel strateji arasında fark bulunamamıştır (Walls ve Hart, 2018).

3- Siklus İptali: Ultrason taramalarında yüksek östrojen seviyelerine sahip çok sayıda folikül görüldüğünde, GnRHa IVF protokolleri sırasında OHSS'nin önlenmesi için son hCG tetiklemesinin durdurulması tek kesin yöntemdir. Farklı çalışmalarda OHSS'yi engellemek amacıyla hCG'yi durdurmak için, östradiolün kritik değerleri 2000 pg / mL (IUI için) ile 4000

pg / mL (IVF döngüleri için) olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte, GnRHant protokolleri sırasında yüksek estradiol seviyeleri iyi tolere edilebilir (Kummer ve diğerleri, 2013).

4- İmmatür Oositlerin In Vitro Maturasyonu (IVM): IVM, OHSS için yüksek risk altında olan aşırı yanıt veren hastalarda doğurganlık tedavisi için başka bir alternatif yöntem olarak düşünülebilir (Roque ve diğerleri, 2013). Bir IVM protokolünde, ortalama çapı 10 mm üzerinde olan, 20'den fazla büyüyen folikülü olan aşırı yanıt veren kadınlar için, gonadotropinler durdurulmalı ve olgun foliküllerin çapı 12-14 mm'ye ulaştığında 10.000 IU hCG uygulanmalıdır. Oosit toplama işlemi 36 saat sonra yapılır ve ardından IVM yapılır (Lim ve diğerleri, 2013). Oositler belirlenmiş kültür ortamlarında 24-48 saat olgunlaştırılır, IVF veya ICSI ile döllenir. Embriyo transferi her zamanki gibi gerçekleştirilir; normalde fertilizasyondan iki veya üç gün sonra iki embriyo transfer edilir. IVM döngüleri sırasında ovaryum stimülasyonunun uygulanmaması, ilaç maliyetinde azalma, OHSS riskinin olmaması ve klinik ve laboratuvar değerlendirmeleri için hasta takiplerinin sayısında azalma gibi pek çok fayda sağlar (Lanzendorf, 2006).

5-Düşük Doz Aspirin Kullanımı: Suprafizyolojik ovaryan stimülasyon, OHSS ile ilişkili trombosit hiperstimülasyonuna neden olabilir. Bu nedenle, ovaryan stimülasyonunun 1. gününden başlayarak (günde 100 mg) düşük doz aspirin tedavisi şiddetli OHSS riskini azaltabilir (Várnagy ve diğerleri, 2010). Aspirin, trombositlerde COX-1 enziminin aktivitesini inhibe eder, bu da trombosit aktivitesinde ve pıhtılaşma riskinde bir azalmaya neden olarak VEGF'nin neden olduğu patolojik kaskadı değiştirir (Vane ve Botting, 2003). Bununla birlikte son yapılmış bir çalışmada, düşük doz aspirin ile plasebo arasında orta ila şiddetli OHSS insidansında hiçbir fark gösterilmemiştir. Toplanan oosit sayısı ile klinik gebelik oranı arasında da fark bulunamamıştır (Jahromi ve diğerleri, 2019).

6- Vazopressin ile indüklenen VEGF sekresyon blokajı: Relcovaptan, vasküler düz kas proliferasyonunu ve vazokonstriksiyonunu düzenleyerek VEGF'yi inhibe etme yeteneğine sahip, peptit olmayan bir vazopressin reseptör antagonistidir. Hiperstimüle sıçan modelleri üzerinde yapılan bir çalışmada, relcovaptan uygulanması ile periton sıvısında daha düşük VEGF konsantrasyonları, over ağırlığında azalma ve korpus luteum sayısında azalma gözlenmiştir (Cenksoy ve diğerleri, 2014).

7-Kalsiyum İnfüzyonu: Artan serum kalsiyum seviyeleri, siklik adenosin monofosfat ile uyarılan renin sekresyonunu inhibe edebilir, anjiyotensin dönüştürücü enzim sentezinin üretimini azaltabilir ve insan luteinize granüloza hücrelerinde VEGF ekspresyonunu azaltabilir (Beierwaltes, 2010). Bu hipoteze dayanarak, oosit toplama işleminin yapıldığı günden

başlayarak 3 gün intravenöz kalsiyum uygulaması, OHSS riskini azaltmak için kullanılmıştır. Randomize kontrollü çalışma ile yapılan bir meta-analizde dopamin agonistleri ile kalsiyum uygulaması karşılaştırılmış ve OHSS riski açısından iki grup arasında fark bulunamamıştır (Tang ve diğerleri, 2021)

8-Volüm Genişleticiler: Albümin, hidroksietil nişasta (HES), mannitol, poligel ve dekstran dahil olmak üzere çeşitli hacim genişleticiler, OHSS'yi önlemek için yıllar boyunca kullanılmıştır. Hacim genişleticilerin OHSS'nin önlenmesi üzerindeki potansiyel etkisini açıklamak için artmış intravasküler hacim, ozmotik basınç, trombosit agregasyonunda azalma ve koagülasyonda azalma dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Meta-analitik veriler, oosit toplama sırasında insan albümininin intravenöz uygulamasının, OHSS yüksek riskli hastalarda tedavi veya plaseboya kıyasla orta-şiddetli OHSS insidansını azalttığını göstermiştir (Youssef ve Mourad, 2016). Albümin, intravasküler hacmin korunmasında çok önemli bir rol oynar. Böylece hipovolemi, hemokonsantrasyon, asit ve plevral efüzyonun ortaya çıkmasını önlemekle birlikte gebelik oranlarında azalma tespit edilmiştir.

HES, sentetik bir kolloid, glikojen benzeri polisakkarittir ve yüksek oranda dallanmış amilopektinin hidrolizi ve bunun sonucunda hidroksietilasyonu yoluyla elde edilir. Ghari ve ark. yaptığı çalışmada, OPU sırasında HES uygulamasının, kabergolin ve albumine kıyasla OHSS insidansını daha etkili azalttığını bildirmişlerdir (Ghahiri ve diğerleri, 2015).

9-Dopamin Agonistleri (Kabergolin, Kinagolid, Bromokriptin): Ovaryan foliküllerin hiperstimülasyonu sırasında, ovaryum da korpus luteum granuloza hücrelerinden salınan VEGF, VEGF reseptörü 2'ye bağlanarak kapiller geçirgenliğin artmasından sorumludur. Kabergolin, kinagolid ve bromokriptin gibi dopaminerjik agonistlerin, dopaminerjik reseptörlere bağlanarak VEGF reseptörünün endositozunu teşvik ederek, neovaskülarizasyonu ve vasküler geçirgenliği azalttığı gösterilmiştir (Basu ve diğerleri, 2001). Dopamin sentezinde anahtar enzim olan tirozin hidroksilazın regüle edilmesi, OHSS hayvan modelinde artmış vasküler permeabiliteyi azaltarak, dopaminin overlerde antianjiogenik etkisinin olduğunu göstermiştir. Özellikle hiperprolaktinemi tedavisinde kullanılan dopamin agonistleri, hayvan kanser modelinde yüksek dozda uygulanmış, VEGFR-2 fosforilasyonunu inhibe ederek VEGFR 2'ye bağımlı vasküler permeabilite ve anjiogenezi azalttığı gösterilmiştir (Gomez ve diğerleri, 2006).

Kabergolin (CAB); ön hipofiz laktotroplarından prolaktin (PRL) salgılanması üzerinde güçlü, seçici ve uzun süreli inhibitör aktiviteye sahip bir ergot türevidir (Colao ve Savastano, 2011). CAB, adenil siklaz inhibisyonuna neden olarak c-AMP' yi azaltma yönünden ve

apoptozu indükleyip D2 dopamin reseptörüne (DRD2) bağlanma konusunda da güçlüdür. Aynı zamanda CAB, DRD5'i aktive ederek otofajik hücre ölümünü indükler (Pascal-Vigneron ve diğerleri, 1995). Yapılmış çalışmalarda insan granüloza hücrelerinde VEGF protein üretimini ve salgılanmasını inhibe edebildiği gösterilmiştir, bu sayede vasküler geçirgenliği azaltır. Dolayısıyla kabergolin OHSS insidansını azaltır (Sharma ve Balasundaram, 2023).

Alvarez ve diğerleri (2007), OHSS ile ilgili olarak CAB uygulamasını ilk değerlendirenler arasında yer almışlardır. Yüksek riskli hastalarda, hCG uygulama gününden başlayarak 8 gün boyunca günlük oral doz 0,5 mg kabergolin kullanımı bir kontrol grubuyla eşleştirilmiştir. Elde ettikleri sonuçlar, kabergolinin ART sonuçlarıyla karşılaştırılabilir ve güvenli olduğunu göstermiştir. Ayrıca, kabergolinin hematokrit, hemoglobin, peritoneal sıvı miktarı ve orta derecede OHSS oranını azaltabildiği, estradiol seviyeleri üzerinde hiçbir etkisi olmadığı gösterilmiştir. En sık görülen yan etkiler baş ağrısı, mide bulantısı ve baş dönmesidir. Tang ve diğerleri (2012) tarafından yapılan bir Cochrane incelemesi, kabergolinin şiddetli OHSS'yi önleyememesine rağmen, klinik gebelik oranları ve düşük oranları üzerinde önemli bir etkisi olmadan orta derecede OHSS oranını etkili bir şekilde azalttığı sonucuna varılmıştır. D2 dopamin agonisti kabergolin, OHSS'nin önlenmesi ve tedavisi için 2002'den beri kullanılmaktadır ve hematokritte hızlı bir düşüş, idrar çıkışında artış ve vücut ağırlığında azalma gibi etkin sonuçlar göstermektedir. Carizza ve diğerleri (2008), CAB'nin gebelik, implantasyon ve düşük oranında herhangi bir etkiye neden olmadan OHSS'nin erken başlangıcını azalttığını bildirmişlerdir. Kabergolin'in erken OHSS'nin önlenmesinde profilaktik bir önlem olarak kanıtlanmış etkinliğine rağmen, geç başlangıçlı OHSS'nin önlenmesindeki rolünün sınırlı bir değeri vardır ve bu randomize çalışmalarda da ortaya konmuştur. Meta-analizlerle çeşitli sistematik incelemeler yapılmış olup en son analizlerin, dopaminerjik agonistlerin, tedavi ve / veya plaseboya kıyasla orta-şiddetli OHSS'yi etkili bir şekilde önlediğini göstermiştir. Ayrıca, etkileri, coasting, albumin, prednizolon, kalsiyum infüzyonu vb. gibi diğer ortak girişimlere kıyasla önemli ölçüde üstündür. Canlı doğum, klinik gebelik ve düşük oranları açısından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Tang ve diğerleri, 2021).

Kinagolid; dopamin D2 reseptörüne spesifik afinitesi olan, ergot olmayan bir dopamin agonisti ilaçtır. Kinagolidin ön hipofizdeki laktotrop hücreler üzerindeki D2 dopamin reseptörlerine bağlanması, adenilil siklaz aktivitesini ve hücre içi siklik adenosin monofosfatı azaltır, prolaktin salınımını inhibe eder (Barlier ve Jaquet, 2006). Serum PRL düzeylerini normalleştirmedeki etkinliği bromokriptininkine benzer olup %45 ila %100 arasında değişmektedir. Kabergolin'in 63-69 saat, Kinagolidin 17 saat gibi daha kısa yarı ömrü olması,

IVF tedavilerinde organogenez açısından maruziyeti en aza indirmeyi sağlar. Busso ve arkadaşları tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada; OHSS riski taşıyan IVF hastalarına üç farklı oral doz (50, 100, 200 mcg/gün) kinagolid randomize edilmiş ve plasebo ile karşılaştırılmıştır. Orta/şiddetli erken OHSS insidansı, plaseboya oranla tüm kinagolid gruplarında anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (Busso ve diğerleri, 2010). Kinagolidin D2 tipi dopamin reseptörleri için özgüllüğü, dopamin agonistlerine kıyasla yan etkilerini azaltır (Baumgarten ve diğerleri, 2013). Kabergolin ile kinagolid'in karşılaştırıldığı bir çalışmada OHSS riskinin kinagolid grubunda daha belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir (Taheripannah ve diğerleri, 2018).

Bromokriptin: 1960'ların sonlarında geliştirilen bromokriptin, klinik çalışmalarda kullanılmaya başlamıştır. Normal ve adenomatöz laktotrop hücrelerde dopamin D2 reseptörlerine bağlanıp onları uyarır ve PRL sentezinin inhibisyonuna neden olan postreseptör olaylara yol açar. İlacın yarı ömrünün diğer dopamin agonistlerine göre daha kısa olması, daha az yan etkiye sahip olması ve maliyet uygun oluşu avantajlarıdır. IVF tedavisinde, ovaryum stimülasyonundan sonra OHSS riski yüksek olan 44 kadının retrospektif bir çalışmasında, bromokriptin alan hastaların hiçbirinde ciddi veya kritik bir form veya geç başlangıçlı OHSS görülmemiştir. Erken başlangıçlı OHSS insidansı hafif ila orta arasında değişmiştir ve genel gebelik oranı %45,2 bulunmuştur (Spitzer ve diğerleri, 2011). Bununla birlikte, bromokriptin, endojen hCG üretimine bağlı olan geç OHSS'yi önleyemediği, bu nedenle daha yüksek dozlarda bromokriptin uygulamasının daha uygun olabileceği bildirilmiştir. Bulgular, bromokriptinin yüksek riskli hastalarda gebelik oranlarından ödün vermeden klinik olarak anlamlı OHSS insidansını ve şiddetini azalttığını göstermiştir. Bromokriptin 2,5-20 mg/gün dozlarında genellikle iyi tolere edilir. En sık görülen yan etkileri mide bulantısı, kusma, ortostatik hipotansiyon ve daha az oranda burun tıkanıklığı, baş ağrısı, kabızlık ve işitsel halüsinasyonlar, sanrsal fikirler ve ruh hali değişiklikleri gibi psikotik olaylardır. Bu nedenle psikiyatrik bozukluklarda dikkatli kullanılması önerilmektedir.

2.4. Quersetin (QUR)

Fenolikler; fenolik asitleri, stilbenleri, tanenleri ve kumarinleri içeren flavonoid olmayanlar ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılır (Abotaleb ve diğerleri, 2018). Flavonoidler, 4.000'den fazla çeşidi olan bir polifenolik bileşik kategorisine ait doğal ürünlerdir. Kendi içinde

yapısal farklılıklarına göre izoflavonoid (genistein), flavonoller (Kuersetin, kaempferol), flavononlar (eriodictyol, narengenin), flavonlar (apigenin) ve antosiyaninler (malvidin) olarak altı sınıfa ayrılırlar (Peterson ve Dwyer, 1998). Meyvelerde, kabuk köklerinde, sebzelerde, çayda, tahıllarda, gövdede ve çiçeklerde bulunan fenolik yapılardır (Lakhanpal ve Rai, 2007). Özellikle bitkilerin odunsu dokularında aglikonlar şeklinde, çiçek, yaprak, meyve gibi canlı dokularında glikozitler şeklinde, çekirdeklerinde ise her iki formda bulunurlar. Bu besinler; antiapoptotik, antiallerjik, antitümöral, antienflamatuar, antibakteriyel, antioksidan, antiviral özellik gösterirler. Polifenoller özellikle; nörodejeneratif bozukluklar, diyabet, kardiovasküler hastalıklar, kanser ve hipertansiyon gibi kronik hastalıklar da hafifletici özelliklere sahiptirler.

QUR, quercetum'dan elde edilen flavonoidlerin bir üyesidir. İzolasyonu ve biyolojik tanımlanması 1936 yılında Szent-Gyorgyi isimli bir araştırmacı tarafından yapılan bir flavonoldur (Formica ve Regelson, 1995). QUR, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından 3,3',4',5,7- pentahydroxyflavanone (3,3',4',5,7-pentahydroxy-2-phenylchromen-4-one) olarak tanımlanmıştır. İnsan vücudunda üretilmez; brüksel lahanası, elma, karnabahar, soğan, üzüm, çilek, kiraz, turp, portakal, domates, çay, ginkgo gibi çeşitli gıda ve şifalı bitkilerde bulunan doğal bir flavonoid bileşiğidir (Kelly, 2011). QUR, alkol ve lipitlerde tamamen çözünen ancak suda çözünmeyen acı sarı bir kristaldir. Quercetin ve türevleri mide asidinde stabildir; bununla birlikte, midede emilip emilmediğine dair herhangi bir rapor yoktur. Çalışmalara göre %93 oranında ince bağırsağın üst segmentinde emilmektedir (Chen ve diğerleri, 2005).

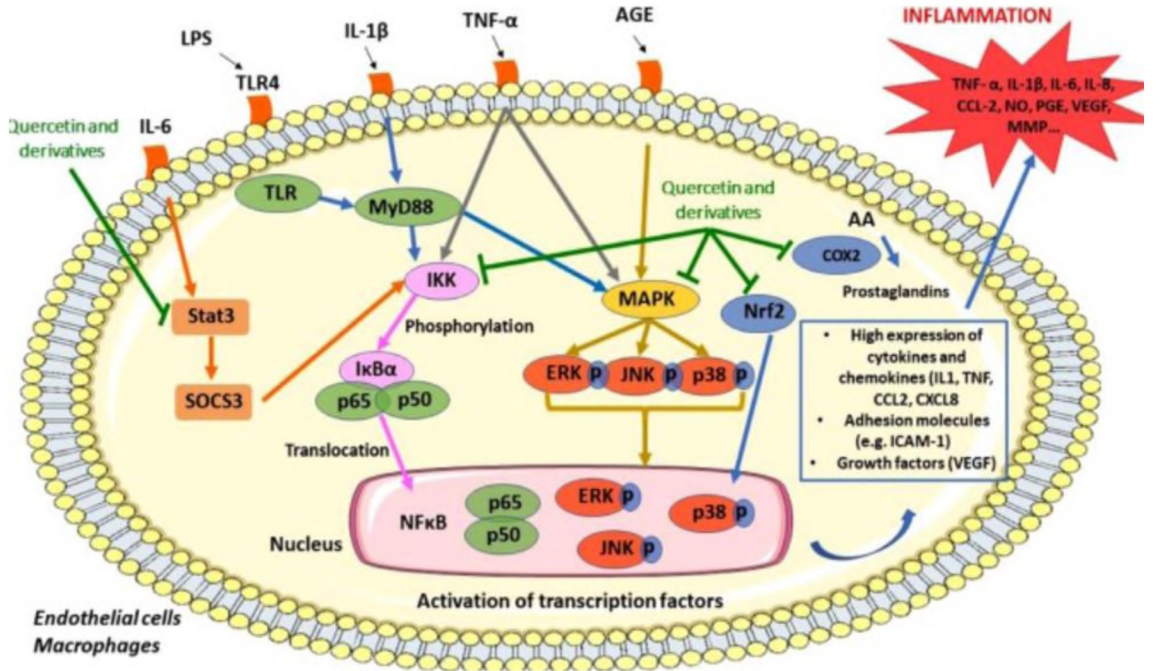
Quercetin, ovaryum granüloza hücrelerinin çoğalması, apoptozu ve hormon salınımı dahil olmak üzere hücresel fonksiyonları doğrudan etkiler. Böylece hücre steroidojenik aktivitesinin düzenlenmesinde ve hormonal dengesizliklerin düzeltilmesinde, dolayısıyla ovaryum fonksiyonlarının modülasyonunda rol oynar. Granüloza hücrelerinde, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GSH-PX) ve glutatyon S-transferaz (GST) ekspresyonunu arttırarak ovaryumun antioksidan kapasitesini arttırdığı gösterilmiştir (Shah ve Patel, 2016; Wang ve diğerleri, 2018). Meme, kolon, prostat, over, endometrium, karaciğer, beyin, kolon ve akciğer kanserinin inhibisyonunda önemli bir rolü olduğu bildirilmektedir. Ayrıca QUR, protein kinaz C-inhibisyonu, hücre döngüsü modülasyonu, anjiyogenez inhibisyonu, trombosit agregasyonu ve mitokondriyal biyogenez stimülasyonu dahil olmak üzere çeşitli biyolojik etkiler uygular (Hashemzaei ve diğerleri, 2017). Kadın genital sisteminde, özellikle overlerde bir antikanser ve antioksidan ajan olarak önemli rol oynar. Bazı çalışmalar, QUR'un kadınların yaşamlarını

olumsuz yönde etkileyebilecek PKOS ve endometriozis üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. QUR'un PKOS'ta meydana gelen metabolik ve hormonal bozuklukları azaltabileceği bildirilmiştir. Sistematik bir derlemede, Tabrizi ve ark. QUR'un LH, testosteron, hiperandrojenemi ve insülin direnci (IR) düzeylerini azalttığını bildirmiştir. Dislipidemi ve folikülogenezi iyileştirici etkilerinin QUR'un antioksidatif ve antienflamatuar özelliklerinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Jahan ve diğerleri, 2018). QUR'un aynı zamanda bir fitoöstrojen olarak etkisi sonucu, sağlıklı folikül sayısını ve hormonların salgılanmasını artırarak ovaryum performansını iyileştirebileceği bildirilmektedir. QUR'un over kanser hücreleri üzerindeki koruyucu etkilerini çeşitli mekanizmalarla açıklayan çalışmalar yapılmıştır (Parvaresh ve diğerleri, 2016). QUR içeren terapötik ajanlarla, tümör hücrelerinin apoptozunu arttırıp, tümör proliferasyonu ve angiogenezi inhibe edilerek, ovaryan kanser türlerine karşı kemoterapi tedavilerini iyileştirebilecek protokoller uygulanmaktadır (Xu ve diğerleri, 2018).

IVM ortamına antioksidanlar eklenmesi, ROS üretiminin olumsuz etkilerini önlemeye yardımcı olabilir. Kang ve ark. farklı konsantrasyonlarda QUR ile IVM besiyeri takviyesi üzerine yaptıkları çalışmada düşük bir QUR konsantrasyonunun, daha düşük ROS üretim seviyelerine ve daha yüksek oosit gelişim oranlarına neden olduğunu göstermişlerdir. Yine benzer bir çalışmada; yüksek konsantrasyonlardaki QUR'un oosit ve blastosist gelişiminin nükleer olgunlaşması üzerinde zararlı etkileri olmuştur (Kang ve diğerleri, 2016).

Postovulatuar yaşlanma, oosit kalitesinde zamana bağlı olarak embriyo gelişimini etkileyebilecek yapısal ve moleküler değişikliklerle ilişkilidir. Oksidatif stresin hücrel yaşlanmada önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. QUR tedavisinin, yaşlanmaya bağlı oositlerde morfolojik değişiklikleri ve mitokondriyal dağılım defektlerini azalttığı gösterilmiştir. Postovulatuar yaşlanma sırasında Bcl-2 ve kaspazların aktivitesinde bir azalma aracılığıyla apoptozun inhibe edildiği öne sürülmüştür (Wang ve diğerleri, 2017). Yağ asidi oksidasyonu, vücuttaki enerji dengesini korumak için önemli bir fizyolojik süreçtir ve esas olarak mitokondride meydana gelir. Jiang ve ark. yaptığı çalışmada, QUR'un Adenozin Monofosfat-aktive Protein Kinaz (AMPK) yolunu aktive edip, yağ asidi oksidasyonunu hızlandırarak obez farelerde lipid oluşumunu azaltabileceğini, lipid homeostazını ve enerji dengesini koruyabileceğini göstermişlerdir (Jiang ve diğerleri, 2020). Kronik inflamasyon, granüloza hücrelerinin apoptozunu arttırır, sağlıklı foliküllerin oluşmasını zorlaştırır. QUR, serum IL-6, TNF- α ve diğer enflamatuar faktörlerin seviyesini doğrudan azaltabilir (Zheng ve diğerleri, 2022). Hücrel sinyal iletim yolları üzerine yapılan çalışmalar, QUR'un makrofajlarda inflamatuvar yanıtı baskılayabileceğini göstermiştir (Şekil-7) (Septembre-

Malaterre ve diğerleri, 2022) . Monositlerin makrofajlara dönüşümünü ve polarizasyonunu inhibe etmek aynı zamanda lipopolisakkaritin (LPS) neden olduğu inflamatuvar hasarı iyileştirmek için COX-1 ve COX-2 gen ifadesini baskılayarak, NF- κ B sayesinde Bcl-2 molekülünü baskılayarak ve p53, AMPK sinyal iletimini indükleyerek apoptozisi uyarabileceğinin gösterilmesi dikkat çekicidir (H. Li ve diğerleri, 2021; W. Li ve diğerleri, 2021; Luo ve diğerleri, 2022). Başka bir çalışmada, QUR'in proinflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu COX-1 ve COX-2 yoluyla inhibe edebileceği gösterilmiştir (Yuan ve diğerleri, 2020). Bir dizi çalışma, QUR'un NO'yu artırabileceğini, endotelin-1 ekspresyonunu inhibe edebileceğini, yüksek glikozun neden olduğu vasküler endotel hücrelerinin hasarından koruyabileceğini ve vasküler endotel hücrelerinin normal sistolik ve diyastolik fonksiyonunu geri kazanabileceğini göstermiştir (Taguchi ve diğerleri, 2020).



Şekil-7. Quercetin ve türevlerinin anti-inflamatuvar mekanizmaları

OHSS patofizyolojisinde temel sorun, vasküler geçirgenliğin artışı, ovaryan luteinize granüloza hücrelerinde VEGF artan sekresyonunun, duyarlı hastalarda OHSS semptomlarının insidansında artış yaratmasıdır. hCG uygulaması VEGF'yi yükseltir ve bu da COX-2 ve vasküler geçirgenlik gibi vazoaktif maddelerin üretiminin artmasına neden olur. Santini ve ark. tarafından yapılan bir çalışma bu sonuçları doğrulamıştır. Bu çalışma sonucunda QUR'un VEGF üretiminin inhibisyonu yoluyla anjiyojenik süreci önleyebileceğini bildirmişlerdir (Santini ve diğerleri, 2009).

QUR, endometriozisi tedavi etmek için VEGF ve ısı şoku proteini 70 (HSP70) ekspresyonunun inhibisyonu aracılığıyla, sıçanlarda endometriozisi baskılayabilecek doğal bir terapötik ajan olarak kullanılabilir (Zhang ve diğerleri, 2009). Cao ve diğerleri (2014) sıçan endometriozis modelinde QUR'un hipotalamik-hipofiz-gonad eksenini üzerindeki etkilerini değerlendirmiş, FSH ve LH'nin serum seviyelerini azaltıcı etki ettiğini göstermişlerdir. Tamamlayıcı bir faktör olarak QUR'ın farklı bozukluklarda tedavi için farklı etkileri olduğu ve aynı zamanda çift yönlü aktiviteleri olduğu görülmüştür.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 07.02.2023 tarih 07/23 numaralı onayı ile yapıldı. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından 13.07.2023 tarihinde TPF-23025 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.1. DeneySEL OHSS Modeli Oluşturulması

Çalışmada kullanılacak hayvanlar; Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (MUDEM-HADYEK) temin edildi. Benzer çalışma literatürlerine dayanarak, her bir çalışma grubu için kullanılabilecek deney hayvanı sayısı 7 ile sınırlandırıldı. Buna uygun olarak araştırmanın örneklemine 22 günlük 30-50 gr, 42 adet Wistar albino türü dişi sıçan oluşturdu. Hayvanlar 12 saat gece/gündüz periyodunda, 21-24 °C ve %45-55 nem özelliği olan hayvan barınma yerlerinde, standart sıçan yemi ve musluk suyuyla ad libitum beslendi. Hayvanlar kafes başına 3-4 rat olacak şekilde standart kafeslerde gruplandırıldı. Kafesler 2 günde bir olacak şekilde temizlendi.

Literatürde de belirtildiği üzere, ratlar OHSS modeli geliştirmek için uygun deney hayvanlarıdır. İmmatür ratların tercih edilmesinin temel nedeni; aynı yaş ve aynı menstrual döngü fazında yeterli sayıda hayvanın temin edilmesindeki güçlük, önceki döngülere ait hormonların etkili olabileceği olasılığı ve önceki döngülerden kalabilecek foliküllerin varlığı ile birlikte matür ratlarda estrus döngüsünün oldukça kısa (yaklaşık 3-5 gün) olması ve bu durumun hiperstimülasyon sağlamak için yeterli süreyi tanınamamasıdır. Bu nedenle literatürde yer alan çalışmaların tamamında immatür ratların kullanıldığı görülmektedir. Oluşturulan bu modeller sayesinde hem OHSS'nin patofizyolojisi detaylı şekilde incelenebilmekte hem de potansiyel yeni tedavi ajanlarının etkinliği test edilebilmektedir (Kitajima ve diğerleri, 2004).

DeneySEL OHSS modeli oluşturmak için postnatal 22. günden itibaren ardışık 4 gün boyunca 0,1 ml 10 IU Gebe Kısarak Serum Gonadotropin (PMSG) (Folligon, 5 x1000 IU + diluent, MSD, Animal Health, Intervet International, Netherlands) ve 26. gün 0,1 ml 30 IU İnsan Koryonik Gonadotropin (hCG) (Chorulon, 5 x1500 IU + diluent, MSD, Animal Health,

Intervet International, Netherlands) intraperitoneal (i.p.) enjekte edildi (Ferrero ve diğeri, 2014).

3.2. Çalışmanın Deney Grupları

Çalışmaya dahil edilen ratlar aşağıda belirtildiği gibi rastgele 6 grup ve her grupta 7 hayvan olacak şekilde ayrılmıştır:

Grup I (n=7): Deneyin 22-26. günleri arası 0,1 ml %0,9'luk NaCl intraperitoneal (ip.) uygulanan grup kontrol grubu olarak belirlendi (Kontrol Grubu).

Grup II (n=7): Bu gruba 22. günde 0,1 ml %0,9'luk NaCl içinde 10 IU PMSG ip. olarak uygulanmaya başladı, 4 ardışık gün ip. olarak uygulamaya devam edildi. 26. günde 30 IU ip. hCG uygulandı (OHSS Grubu).

Grup III (n=7): Quercetin 20 mg/kg/gün oral gavaj yolu ile 22. günden başlamak üzere ardışık olarak toplam 6 gün oral gavaj olarak verildi (Quercetin Grubu).

Grup IV (n=7): Cabergolin 22. günden başlayarak 100 µg/kg/gün olacak şekilde 6 gün boyunca oral gavaj yolu ile verildi (Cabergolin Grubu).

Grup V (n=7): 10 IU PMSG, 22.günden başlayarak toplam 4 gün ip. olarak, 26. gün 30 IU hCG ip. uygulandı. 20 mg/kg/gün Quercetin 22.günden başlayarak toplam 6 gün oral gavaj yolu ile verildi (OHSS+ Quercetin Grubu).

Grup VI (n=7): 10 IU PMSG 22.günden başlayarak toplam 4 Gün ip. olarak uygulanıp 26.gün 30 IU hCG ip uygulandı. Eş zamanlı 22. günden başlayarak günde 1 kez oral gavaj yoluyla 100 µg/kg/gün Cabergolin toplam 6 gün verildi. (OHSS+ Cabergolin Grubu).

Tablo 2. Deney grupları ve deney protokolü

GRUPLAR	22.Gün	23.Gün	24.Gün	25.Gün	26.Gün	27.Gün	28.Gün
GRUP I (Kontrol) N=7	0,1 ml % 0.9 NaCl(ip)	0,1 ml % 0.9 NaCl (ip)	0,1 ml % 0.9 NaCl (ip)	0,1 ml % 0.9 NaCl (ip)	0,1 ml % 0.9 NaCl (ip)		S A K R İ F İ K A S Y O N
GRUP II (OHSS) N=7	10IU/0,1 ml PMSG/ % 0,9NaCl (ip)	10 IU/0,1ml PMSG/ % 0,9NaCl (ip)	10 IU/0,1ml PMSG/ % 0,9NaCl (ip)	10 IU/ 0,1ml PMSG/ % 0,9NaCl (ip)	30 IU/0,1ml hCG/ % 0,9NaCl (ip)		
GRUP III (Quercetin) N=7	20 mg/kg/gün (oral gavaj)	20 mg/kg/gün (oral gavaj)	20 mg/kg/gün (oral gavaj)	20 mg/kg/gün (oral gavaj)	20 mg/kg/gün (oral gavaj)	20 mg/kg/gün (oral gavaj)	
GRUP IV (Cabergolin) N=7	100 µg/kg/gün (oral gavaj)	100 µg/kg/gün (oral gavaj)	100 µg/kg/gün (oral gavaj)	100 µg/kg/gün (oral gavaj)	100 µg/kg/gün (oral gavaj)	100 µg/kg/gün (oral gavaj)	
GRUP V (OHSS+ Quercetin) N=7	10 IU/0,1ml PMSG/ % 0,9NaCl (ip) + 20 mg/kg/gün (oral gavaj)	10 IU/0,1ml PMSG/ %0,9NaCl (ip)+ 20 mg/kg/gün (oral gavaj)	10 IU/0,1ml PMSG/ % 0,9NaCl (ip)+ 20 mg/kg/gün (oral gavaj)	10 IU/0,1ml PMSG/ % 0,9NaCl (ip) + 20 mg/kg/gün (oral gavaj)	30 IU/0,1ml hCG / % 0,9 NaCl (ip)+ 20 mg/kg/gün (oral gavaj)	20 mg/kg/gün (oral gavaj)	
GRUP VI (OHSS+ Cabergolin N=7	10 IU/ 0,1mlPMSG/ % 0,9NaCl (ip)+ 100 µg/kg/gün (oral gavaj)	10 IU/ 0,1mlPMSG/ % 0,9NaCl (ip)+ 100 µg/kg/gün (oral gavaj)	10 IU/ 0,1mlPMSG/ % 0,9NaCl (ip)+ 100 µg/kg/gün (oral gavaj)	10 IU/ 0,1mlPMSG/ % 0,9NaCl (ip)+ 100 µg/kg/gün (oral gavaj)	30 IU/ 0,1 ml hCG % 0,9NaCl (ip) + 100 µg/kg/gün (oral gavaj)	100 µg/kg/gün (oral gavaj)	

Çalışmada kullanılan Quercetin (BLD Pharm, BD30401), mısır yağı içerisinde çözülerek hazırlanmış ve 20 mg/kg/gün dozunda, günde bir kez olmak üzere 0.25 ml hacminde oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Uygulama süresi toplam 6 gün olarak belirlendi.

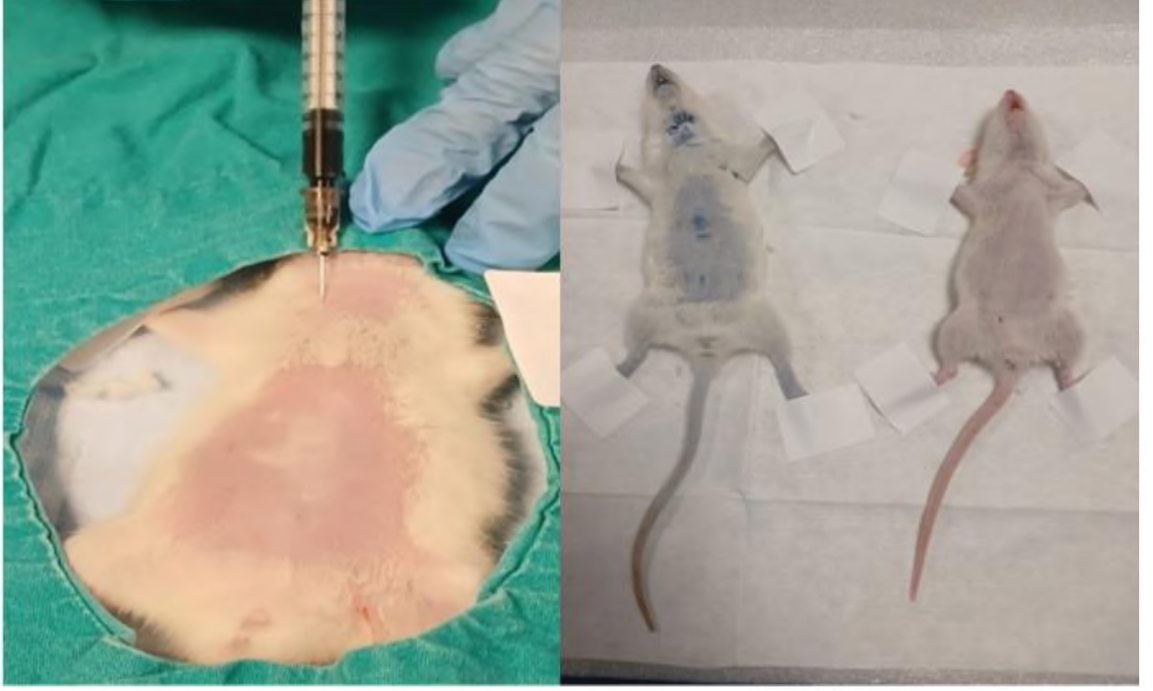
Cabergolin (Dostinex-Pfizer, Ascoli Piceno, Italya), 100 µg/kg/gün olacak şekilde 6 gün boyunca günlük 0.25 ml oral gavaj olarak verildi.

Tüm gruplardaki denekler, deney protokolüne başlanmadan önce ve sakrifikasyondan önce tartıldı. Uygulamaların ardından postnatal 28. günde anestezik madde 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne 2 %, Alfasan International B.V., Netherlands) ve 60 mg/kg ketamin hidroklorid (Alfamine 10 %, Alfasan International B.V., Netherlands) verilerek ratlar uyutuldu. Hayvanları hipotermiden korumak için işlemler 22-26 derece oda sıcaklığında yapıldı.

3.3. Vasküler Permeabilite Ölçümü için Periton Sıvısının Toplanması

Hayvanlardaki vasküler permeabiliteyi değerlendirmek için 5 mM Evans Blue (EB) (BLDpharm, BD129926) boyası distile suda seyreltilerek sabit miktarda (0.2 ml), ratların

boyun bölgesi traşlandıktan sonra juguler venden insülin enjektörü yardımıyla intravenöz (i.v.) olarak verildi. Otuz dakika bekleme süresinden sonra peritoneal kavite 5 ml %0,9 NaCl solusyonu (21°C) ile doldurularak 30 saniye çalkalanıp doku ve damar hasarı oluşturmadan periton yıkama sıvısı dikkatlice geri alındı. Peritoneal sıvı 0.05 ml 0.1 N NaOH içeren tüplere konuldu. Alınan örnekler Vasküler Permeabilite ölçümü yapılana kadar uygun koşullarda (-80°C) saklandı.



Resim 8. Juguler venden Evans Blue uygulaması

3.4. Kan Örneklerinin Alınması

Abdominal kıllar tıraşlandıktan sonra antiseptik olarak %10'luk povidone iyodin çözeltisi uygulandı. Medyan laparotomi yapıldı, intrakardiyak olarak EDTA (etilen diamin tetra asetik asit)'li tüplere 2 ml kan alınıp, 3000 rpm da 10 dk santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlandı. Elde edilen serumlar ependorflara alınarak yapılacak olan biyokimyasal analizler için -80°C'de analiz gününe kadar muhafaza edildi.

3.5. Ovaryumların Çıkarılması ve Tartılması

Sıçanların sol ovaryumları diseke edilerek çıkarıldı ve ağırlık tartımı işlemi ardından histolojik analizler için %10'luk nötral formalinle (NF) tespit edildi. Sıçanların sağ ovaryumları ependorfların içine alınarak, Oksidan ve Antioksidan doku enzimleri tayini için homojenize edilmek üzere analiz gününe kadar -80°C'de saklandı.

3.6. Vasküler Permeabilite, Serum Analizleri, TNF-alfa ve Estradiol Ölçümü

3.6.1. Vasküler Permeabilite Ölçümü

Peritoneal sıvı 900 X g' de 12 dakika santrifüj edildikten sonra Evans Blue (EB) konsantrasyonu 600 nm'de Shimadzu UV-1601 UV-Visible spektrofotometri cihazında değerlendirildi. Vasküler geçirgenlik, ekstravaze olan boya seviyesi her 100 gram vücut ağırlığına EB milimol (mM) olarak standardize edilerek ölçüldü.

3.6.2. Biyokimyasal Analizler

Deneyin sonlandırıldığı gün alınan kan örnekleri EDTA'lı biyokimya tüplerine konuldu, santrifüj edilerek ependorflara konulup -80°C dolabında çalışma gününe kadar bekletildi. Oda ısısına getirilen numunelerde biyokimya analizleri (Üre, Kreatin, Sodyum, Potasyum, ALT, AST) için Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında COBAS 8000 (c702) biyokimyasal analiz cihazında (Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, Almanya) enzimatik yöntemlerle belirlendi. Aynı serum örneklerinden hayvanlarda ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile TNF-alfa ve Estradiol düzeyleri ölçüldü.

3.6.2.1. Serumdan TNF-alfa ve Estradiol Ölçümleri

Serum TNF alfa ve Estradiol konsantrasyonları, üreticinin talimatlarına göre rat TNF alfa ELISA kiti (Sunred Biological Technology Co., Ltd., Şanghay, Çin; Katalog No: DZE201110765) ve rat estradiol ELISA kiti (Sunred Biological Technology Co., Ltd., Şanghay, Çin; Katalog No: DZE201110175) kullanılarak belirlendi. Tüm ölçümler bir mikro plaka okuyucu (Multiskan GO; Thermo Scientific, Rockford, IL, ABD) kullanılarak iki kez gerçekleştirildi.

3.7. Ovaryum Dokusunda Total Antioksidan (TAS) ve Total Oksidan (TOS) Markerların Analizi

Çalışma günü dokular tartıldı ve 1/10 oranında olacak şekilde potasyum klorür tamponu içinde (KCl; pH: 7,4; 140 mM) homojenizatör (IKA T10 Ultra-Turrax 10) kullanılarak 20.000 devir/dakikada homojenize edildi. Doku homojenatı 7000 rpm, (+ 4) °C'de 5 dakika santrifüj edildi. Doku homojenatından elde edilen süpernatant ile Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) testleri çalışıldı.

3.7.1. Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü

TAS seviyeleri ticari olarak temin edilen kitler (Relassay, Türkiye, Cat#RL0017) kullanılarak ölçüldü. Otomatik yöntem, daha stabil bir ABTS (2,2'-Azino-bis (3- etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunun karakteristik renginin antioksidanlar tarafından ağartılmasına dayanmaktadır. Sonuçlar Trolox eşdeğeri mmol /L olarak ifade edildi (253).

3.7.2. Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü

TOS seviyeleri ticari olarak temin edilen kitler (Relassay, Türkiye, Cat#RL0024) kullanılarak ölçüldü. Yöntemde, numunede bulunan oksidanlar demir iyonu-o-dianisidin kompleksini demir iyonuna oksitledi. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol

miktarda bulunan gliserol molekülleri tarafından güçlendirildi. Ferrik iyon, asidik bir ortamda ksilenol turuncusu ile renkli bir kompleks üretti. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerin toplam miktarıyla ilişkilirdi. Test, hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve sonuçlar, litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri (H₂O₂ eşdeğeri µmol /L) cinsinden ifade edildi (254).

3.7.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

TOS'un TAS'a oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak hesaplandı. Hesaplama için elde edilen TAS birimi µmol/L'ye dönüştürüldü.

3.8. Ovaryum Histomorfolojik İncelemesi

NF içindeki ovaryumlar plastik doku takip kasetlerine konularak NF'de 24 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyon işleminin bitmesini takiben kasetler 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkanarak yükselen dereceli alkollerde (%70, %80, %96, %100) dehidrate edilip, ksilende şeffaflaştırılarak doku gömme cihazında (Leica, EG 1150 H, Almanya) parafine gömüldü.

Tablo 3. Doku takip protokolü

Kimyasallar	Süre
%70'lik alkol	1 saat
%80'lik alkol	1 saat
%96'lik alkol	1 saat
%100'lük alkol	1 saat
Ksilol	45 dakika
Ksilol	45 dakika
Parafin	1 saat
Parafin	1 saat
Blok gömme	

Her hayvana ait parafinli doku bloğundan, mikrotom (Thermo Fisher Scientific, Shandon Finesse İngiltere) yardımıyla, aynı yapının iki kez değerlendirilmeye alınmasını önlemek için 50 µm aralıklarla, 4 µm kalınlığında her grup için 10'ar adet kesit folikül sayımı için kullanıldı (255). Histokimyasal incelemeler için rodajlı lamlara ve immunohistokimyasal incelemeler için polilizinli lamlara doku kesitleri hazırlandı. Hazırlanan bu lamlar 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilip kesitlere genel histolojik yapıyı gözlemlemek amacıyla Hematoksilen-Eozin (H-E) ve Masson Trikrom boyama yöntemleri uygulandı.

Tablo 4. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü

Kimyasallar	Süre
Ksilen	60 dk
%96'lık alkol	5 dk
%96'lık alkol	5 dk
%80'lik alkol	5 dk
Çeşme suyu	3 dk
Harris hematoksilen	5 dk
Çeşme suyu	6 dk
Eozin	4 dk
Çeşme suyu	3 dk
%80'lik alkol	5 dk
%96'lık alkol	5 dk
%96'lık alkol	5 dk
Ksilen	15 dk
Entellan ile kapatma	

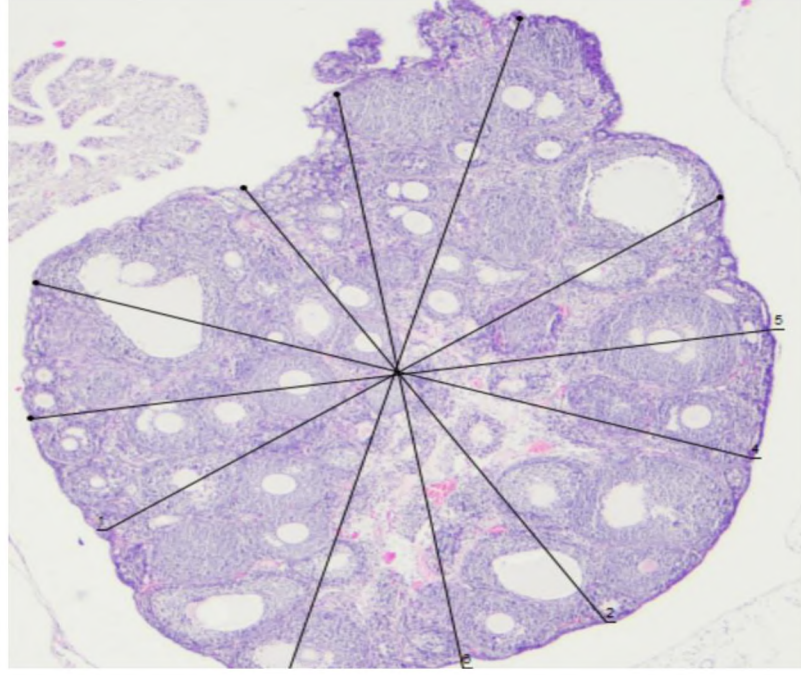
Ovaryumun histomorfolojik değerlendirmesi Ross'a göre yapıldı (Ross ve Pawlina, 2016). Bu sınıflamaya göre, oosit etrafında tek tabaka yassı hücrelerin görüldüğü foliküller primordiyal folikül; oosit etrafında tek tabaka kübik hücrelerin görüldüğü foliküller erken

primer folikül; oosit etrafında birden fazla kübik hücre tabakasının (artık granüloza hücreleri adını alır) görüldüğü foliküller geç primer folikül; granüloza hücreleri arasında bir veya daha fazla boşluk veya tek bir büyük antral boşluk içeren foliküller sekonder folikül; oosit etrafında kumulus ooforus'un görüldüğü ve tek bir büyük boşluk içeren folikül graaf folikülü olarak tanımlandı. Ayrıca, antral boşlukta kan pıhtısı içeren foliküller korpus hemorajikum; antral boşlukta bağ doku hücrelerinin bulunduğu ve şişkin granüloza lutein hücrelerinin görüldüğü foliküller korpus luteum; folikül içerisinde boşluğun olmadığı, piknotik çekirdeklere sahip hücrelerin görüldüğü veya deforme olmuş zona pellusida kalıntılarının bulunduğu foliküller atretik folikül olarak tanımlandı. Bunlara ek olarak, oosit içermeyen, büyük bir antral boşluğa sahip ve genellikle 1-2 sıralı granüloza hücre tabakasının bulunduğu foliküller kistik folikül olarak tanımlandı.

Folikül sayılarının hesaplanmasında, her gruptan 10 adet kesit kullanıldı, çekirdekleri görülen hücreler sayıldı. Her grup için ayrı ayrı olmak üzere, her kesitteki toplam folikül sayısı farklı folikül tiplerine oranlandı ve % folikül değerleri elde edildi.

3.8.1. Ovaryum Dokusu Çap Ölçümü

Her gruba ait sıçanların ovaryum doku kesitlerinden alınan resimler kullanılarak her ovaryum çap ölçümü için 6 ayrı ölçüm sonucu Image j 1.52p programı kullanılarak (NIH, Bethesda, MD) alındı. Sonrasında bu ölçümlerin ortalamaları alınarak çap uzunlukları mm cinsinden belirlendi (Resim 9).



Resim 9. Ovaryum aplarının Image j ile lm, H&E, 4X

3.8.2. Masson Trikrom Boyama Yöntemi

Tüm kesitler boyama öncesi 60 dk 60°C etüvde bekletilmiş, devamında 3 kez 10 dk ksilen solusyonuna alınmıştır. Deparafinizasyon için yüksek dereceli alkolden dşge doğru geçirilerek (%96, %96 ve %80) 5'er dakika bekletildi, 5 dakika distile sudan geçirildi. Masson Trichrome boyama kiti (Bioptica, Cat.Number:04-010802) kullanılarak ticari kit içindeki prosedür uygulandı. Boyamaya hazır hale getirilen preparatlara A solusyonu (Weigert'in demirli hematoksileni) B (Ferrik Klorid) solusyonu eşit miktarda karıştırılarak preparatlara damlatılıp 10 dk bekletildi. eşme suyunda 3 dk yıkama yapıldı. D solusyonu (Biebrichscarlet-asidfuksin) damlatıldı, 5-10 dk bekletildi. Distile suya alınan kesitlere E solusyonu (Fosfomolibdik asit-fosfotungustik asit) damlatılıp 10-15 dk tutuldu. Yıkamadan preparat üzerindeki reaktif dökülerek F solusyonu (Anilin Blue) damlatılıp 5-10 dk tutulup distile suda yıkama yapıldı. Preparatlar 2 defa 2'şer dakika ara ile %95 etil alkolden geçirilerek kurutuldu. Preparatlar 2 defa 2'şer dakika ara ile ksilende temizlendi. Entellan damlatılarak lamelle kapatma yapıldı. Kollajen ve mukus mavi; çekirdek siyah, sitoplazma, keratin, kas fibrilleri kırmızı boyandı. Tunika albuginea kollajen lif içeriği değerlendirilip teka tabakalarının kalınlığı karşılaştırıldı.

3.9. Ovaryum Dokularının İmmünohistokimyasal Analizi

Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alınarak polilizinli lamlara yerleştirildi. Deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemleri H&E boyama yönteminde olduğu gibi yapılmıştır. 60 dk etüv ve 60 dk ksilen basamaklarından sonra, yüksek dereceli alkolden düşüğe doğru geçirilip (%96, %96 ve %80) 5 dakika tutulup, distile sudan geçirildi. Daha sonra sitrat buffer (pH 6.0) (Citrata buffer-Bio-optica, Milano-Italy) 1/10 oranında distile su ile dilüe edilerek hazırlandı. Mikrodalga fırında 8 dk 800 watt sıcaklıkta sitrat buffer içinde preparatlara antiijen retrieval işlemi uygulandı. Kesitler immünohistokimya barına dizilip dokuların etrafı PAP-pen ile çizildi, %0,1 derişimde PBS (Bio-optica, Milano-Italy) ile hazırlanan Triton X 100 (Biomatik Corporation, Kanada, USA) kesitlerin üzerini kapatacak kadar damlatıldı. Wash Buffer (Xwash Buffer,20x, BioGenex, USA) içinde 5 dk yıkanan kesitlere endojen peroksit blokajı için %3'lük hidrojen peroksit (TA-125-HP, ThermoScientific) 1/10 oranında distile su ile dilüe edilerek 10 dk. uygulandı. İşlem sonrasında Wash Buffer ile lamalar yıkandı. Yıkanan lamlara 5 dakika UltraV Block (Thermo Scientific, UK) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemten sonra dokular yıkanmadan üzerindeki süperblok dökülerek primer antikor aşamasına geçildi. 1/100 oranında hazırlanan VEGF (orb11553 Biorbyt, UK), COX-2 (orb10450, Biorbyt, UK) ve PEDF (BT LAB, Jiansing Korain Biotech) primer antikorları her lam için 100 µl hazırlanarak kesitlerin üzerine damlatıldı. Dokulara uygulanan primer antikorlar +4° C'de 1 gece inkübe edildi. Ertesi gün oda sıcaklığına alınan lamalar wash buffer içinde 5 dk yıkandı. Kesitlere 10 dk biotinli sekonder antikor (Thermo Scientific, UK) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar wash buffer ile 5 dk yıkandıktan sonra dokular enzimin biotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Thermo Scientific, UK) etkin bırakılıp, işlem sonunda dokular yine wash buffer ile 5 dk yıkandı. Son olarak ortama immünoreaktivitenin görünürlüğünü sağlamak için 3,3 diaminobenzidin (DAB) substratı içeren kromojen DAB eklenerek boyaması gerçekleştirildi. Distile suda 5 dk yıkanan kesitler dokuların zıt boyanması için Mayer's Hematoksilen damlatılarak 2-3 dakika boyandı. Çeşme suyunda 5 dk yıkanan kesitler, distile suya alınarak 5 dk bekletildi. Sırası ile %80'lik alkolde 2 dakika %96'lık alkolde 2 kez 2 dakika bekletildi. Son olarak 15dk ksilen de bekleyen kesitler entellan ile kapatıldı. Kesitler bilgisayar destekli Nikon Y-THM Japan görüntülü analiz sisteminde incelenerek değerlendirildi. Kesitlere ait fotoğraflamalar yapıldı.

İmmünohistokimya boyamalarındaki yoğunluklar H-skor analiz yöntemi ile değerlendirildi. Bu yöntemde her grup için 20x büyütmede rastgele 10 farklı bölge seçilerek, boyanma dereceleri negatif (0), zayıf (1), orta (2) ve kuvvetli (3) pozitif olmak üzere iki histolog tarafından farklı zamanlarda değerlendirildi. İmmünoreaktivite derecesi % hücre olarak değerlendirildi ve $\Sigma (1+d) \cdot hy$ formülü (d: boyanma derecesi, hy:o dereceye sahip hücre yüzdesi) kullanılarak H-skor hesaplandı (256).

3.10. İstatistiksel Analizler

Tüm değişkenler için grup bazında Shapiro-Wilk normallik testi uygulanmıştır. Normal dağılım gösteren değişkenler için varyansların homojen olup olmadığı incelenmiştir. Tüm değişkenler homojen bulunurken, vasküler permeabilite değişkeni homojenlik varsayımını sağlamamıştır. Normallik ve varyans homojenliği varsayımlarını sağlayan değişkenler üzerinde One Way ANOVA testi uygulanmıştır. ANOVA sonucunda anlamlı bulunan değişkenler için grup farklarının hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Tukey HSD testi uygulanmıştır. Normallik varsayımını sağlayan ancak varyans homojenliğini sağlamayan vasküler permeabilite değişkeni üzerinde Welch ANOVA testi uygulanmıştır. Test sonucunun anlamlı çıkması üzerine, farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Games-Howell post hoc testi yapılmıştır.

Normal dağılım göstermeyen tüm değişkenler için Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda anlamlı bulunan değişkenler için grup karşılaştırmalarına yönelik Dunn's post hoc testi uygulanmıştır.

Yapılan istatistiksel analiz ve hesaplamalar R 4.4.2 istatistiksel programlama dili kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel olarak $p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,0001$ değerinden küçük olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi. Veriler normal dağılımlar için ortalama $\pm$ standart sapma ve normal dağılmayanlar için medyan $\pm$ IQR olarak verildi.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Deneyisel uygulama bitiminde dekapite edilen sıçanların ovaryum büyüklükleri makroskopik olarak karşılaştırıldığında; kontrol grubuna ait ratların fallop tüplerinin ince ve ovaryumlarının pürüzsüz bir yüzeye sahip, oldukça küçük olduğu; OHSS oluşturulmuş grupta fallop tüplerinin, kontrol grubuna göre daha geniş ve ovaryumların oldukça büyük, kistik yapıda olduğu gözlemlendi. Quercetin ve Cabergolin uygulanan gruplarda fallop tüpleri ve ovaryum boyutlarının kontrol grubuyla benzer büyüklükte olduğu görüldü. OHSS protokolü ile birlikte Quercetin ve Cabergolin uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre fallop tüplerinin daha kalın ve ovaryumların daha büyük olduğu gözlenirken; hiperstimülasyon grubuna göre fallop tüplerinin daha ince ve ovaryumların yine kistik yapıda fakat daha küçük olduğu izlendi.

4.2. Ovaryum Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Ratların ovaryumları deney protokolu bitiminde çıkartılarak tartıldı. Sonuçların istatistiksel analizleri yapıldı. Normal dağılım göstermeyen tüm değişkenler için Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda anlamlı bulunan değişkenler için grup karşılaştırmalarına yönelik Dunn's post hoc testi uygulanmıştır.

Tablo 5. Ovaryum ağırlıkları tablosu (medyan $\pm$ IQR)

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P DEĞERİ
Ovaryum Ağırlığı (mg)	24,9 $\pm$ 4,85	147,5 $\pm$ 29,65	33,5 $\pm$ 6,9	33,3 $\pm$ 11,5	97,4 $\pm$ 9,25	79,5 $\pm$ 10,5	p<0,0001

Gruplar arasında ovaryum ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır (p<0.0001). Kontrol grubu ortalama ovaryum ağırlığı 24,9 $\pm$ 4,85 mg olarak tüm

gruplar içinde en düşük olarak belirlenirken, OHSS grubunda bu değer belirgin bir artışla $147,5 \pm 29,65$ mg olarak en yüksek düzeyine ulaşmıştır. Quercetin ($33,5 \pm 6,9$ mg) ve Cabergolin ($33,3 \pm 11,5$ mg) uygulanan gruplarda ovaryum ağırlıkları, OHSS grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuş olup kontrol grubuna yakın seyretmiştir. OHSS üzerine Quercetin uygulanması durumunda ovaryum ağırlığı $97,4 \pm 9,25$ mg ile sınırlı bir düşüş gösterirken, OHSS + Cabergolin grubunda bu değer $79,5 \pm 10,5$ mg olarak ölçülmüştür. Grup karşılaştırmalarına yönelik Dunn's post hoc testi sonuçları aşağıdaki gibidir:

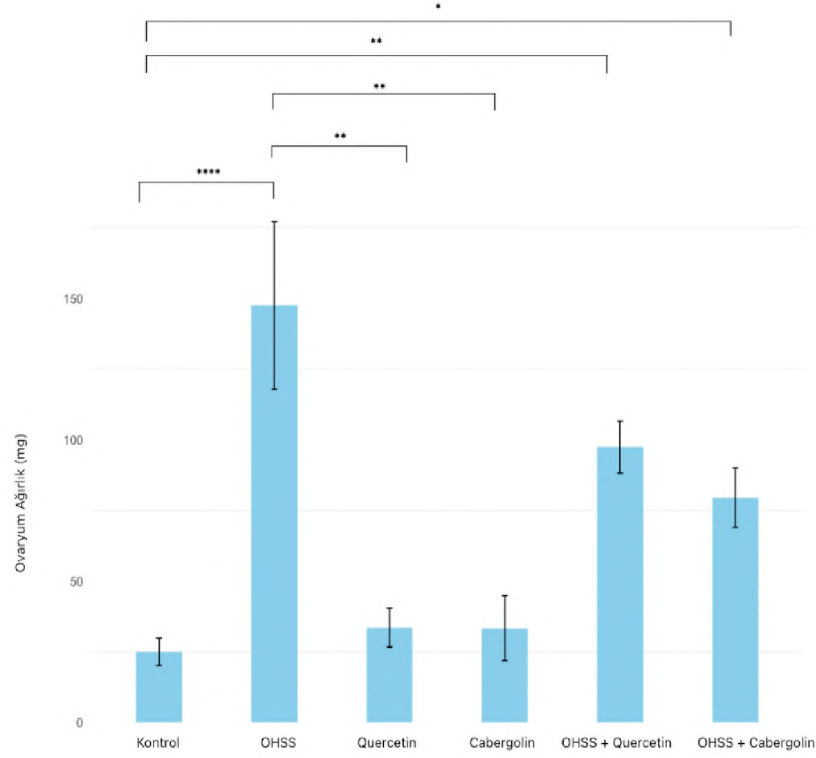
Tablo 6. Gruplar arası ovaryum ağırlık değişimi için Dunn's post hoc testi sonuçları

Ovaryum Ağırlıkları:

Comparison	Z	P _{unadj}	P _{adj}
Grup 1 - Grup 2	-5,0542	0,0000	0,0000
Grup 1 - Grup 3	-1,1546	0,2482	1,0000
Grup 2 - Grup 3	3,8996	0,0001	0,0014
Grup 1 - Grup 4	-1,5250	0,1273	1,0000
Grup 2 - Grup 4	3,5293	0,0004	0,0063
Grup 3 - Grup 4	-0,3704	0,7111	1,0000
Grup 1 - Grup 5	-3,8778	0,0001	0,0016
Grup 2 - Grup 5	1,1764	0,2394	1,0000
Grup 3 - Grup 5	-2,7232	0,0065	0,0970
Grup 4 - Grup 5	-2,3528	0,0186	0,2795
Grup 1 - Grup 6	-3,3550	0,0008	0,0119
Grup 2 - Grup 6	1,6993	0,0893	1,0000
Grup 3 - Grup 6	-2,2003	0,0278	0,4167
Grup 4 - Grup 6	-1,8300	0,0673	1,0000
Grup 5 - Grup 6	0,5229	0,6011	1,0000

Ovaryum ağırlığına ilişkin gruplar arası karşılaştırmalarda Dunn's testi sonuçlarına göre elde edilen çoklu analizlerde; Kontrol grubu ile OHSS ($p < 0,0001$), OHSS+Quercetin ($p < 0,01$) ve OHSS+Cabergolin ($p < 0,05$) kıyaslandığında ovaryum ağırlığının OHSS uygulanmış tüm gruplarda anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. OHSS grubu ile Quercetin ($p < 0,01$) ve Cabergolin ($p < 0,01$) grupları karşılaştırmasında OHSS grubunun çok anlamlı olarak daha yüksek ovaryum ağırlığına sahip olduğu görülmüştür. OHSS+Quercetin ile OHSS+Cabergolin, Quercetin ve Cabergolin kombinasyonlarının ovaryum ağırlığı üzerine etkileri birbirine eşit

düzeydedir ($p=1.000$), anlamlı fark bulunmamıştır. OHSS grubu ile kombinasyon grupları (OHSS+ Quercetin ve OHSS+Cabergolin) arasında ovaryum ağırlığı tedavi gruplarında daha düşük bulunsada anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1.000$).



Şekil 7. Grupların ovaryum ağırlık grafiğine göre karşılaştırılması

Ovaryum ağırlığının, sham grubunda en düşük, OHSS grubunda ise en yüksek olduğu belirlendi. OHSS, OHSS+Quercetin ve OHSS+Cabergolin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Kontrol grubu ile OHSS, OHSS+Quercetin ve OHSS+Cabergolin grupları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu saptandı. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p \leq 0.0001$

4.3. Ovaryum Çaplarının Değerlendirilmesi

Normal dağılım göstermeyen ovaryum çap değerlendirmesi için Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda anlamlı bulunan değişkenler için grup karşılaştırmalarına yönelik Dunn's post hoc testi uygulanmıştır.

Tablo 7. Grupların ovaryum çapları (medyan $\pm$ IQR)

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P DEĞERİ
Ovaryum Çapları (mm)	2,1 $\pm$ 0,56	4,88 $\pm$ 0,41	1,67 $\pm$ 0,52	2,04 $\pm$ 0,52	3,23 $\pm$ 0,75	3,75 $\pm$ 0,07	p<0.0001

Ovaryum çaplarına ilişkin elde edilen veriler, gruplar arasında anlamlı varyasyonlar göstermiştir (p<0.0001). Kontrol grubunda ortalama ovaryum çapı 2,1 $\pm$ 0,56 mm iken, OHSS grubunda bu değer artarak 4,88 $\pm$ 0,41 mm'ye ulaşmıştır. Quercetin (1,67 $\pm$ 0,52 mm) ve Cabergolin (2,04 $\pm$ 0,52 mm) uygulanan gruplarda ovaryum çapı, kontrol grubuna benzer düzeyde bulunmuş ve OHSS grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük kalmıştır. OHSS ile birlikte Quercetin uygulanan grupta ovaryum çapı 3,23 $\pm$ 0,75 mm, OHSS + Cabergolin grubunda ise 3,75 $\pm$ 0,07 mm olarak ölçülmüştür.

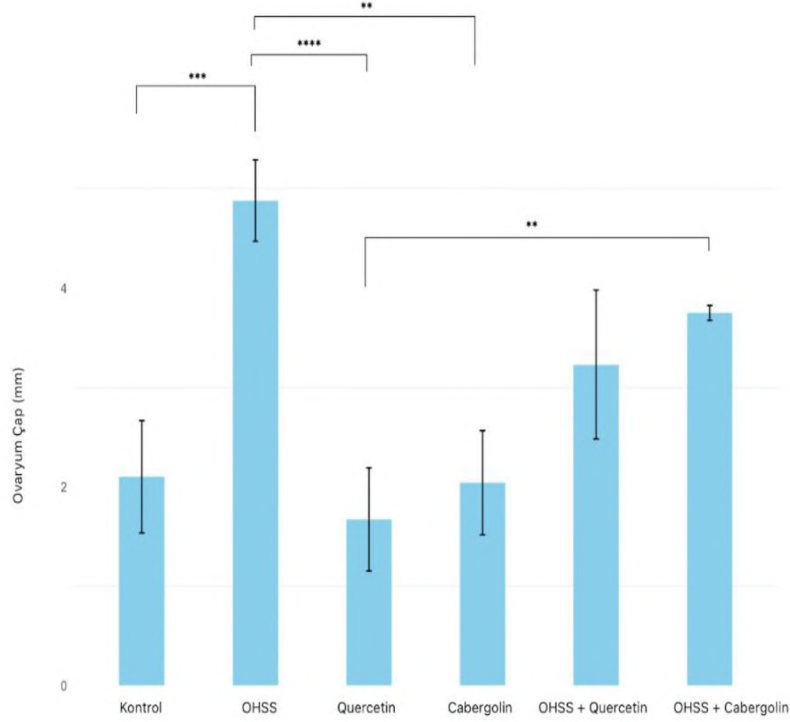
Tablo 8. Gruplar arası ovaryum çapları için Dunn's post hoc testi sonuçları

Ovaryum Çapları:

Comparison	Z	P _{unadj}	P _{adj}
<u>Grup 1 - Grup 2</u>	-4,0089	0,0001	0,0009
<u>Grup 1 - Grup 3</u>	0,7408	0,4588	1,0000
<u>Grup 2 - Grup 3</u>	4,7496	0,0000	0,0000
<u>Grup 1 - Grup 4</u>	-0,1089	0,9133	1,0000
<u>Grup 2 - Grup 4</u>	3,8999	0,0001	0,0014
<u>Grup 3 - Grup 4</u>	-0,8497	0,3955	1,0000
<u>Grup 1 - Grup 5</u>	-2,0698	0,0385	0,5771
<u>Grup 2 - Grup 5</u>	1,9391	0,0525	0,7874
<u>Grup 3 - Grup 5</u>	-2,8106	0,0049	0,0742
<u>Grup 4 - Grup 5</u>	-1,9609	0,0499	0,7484
<u>Grup 1 - Grup 6</u>	-2,7234	0,0065	0,0969
<u>Grup 2 - Grup 6</u>	1,2854	0,1986	1,0000
<u>Grup 3 - Grup 6</u>	-3,4642	0,0005	0,0080
<u>Grup 4 - Grup 6</u>	-2,6145	0,0089	0,1340
<u>Grup 5 - Grup 6</u>	-0,6536	0,5134	1,0000

OHSS grubu, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ovaryum çapının anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0.001). OHSS grubunun ayrıca Quercetin (p<0.0001) ve Cabergoline grubu (p<0.01) ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit

edilmiştir. Quercetin ile OHSS + Cabergoline grubu karşılaştırmasında da fark anlamlıdır ($p<0.01$). OHSS + Quercetin ve OHSS + Cabergoline arasındaki ovaryum çapı karşılaştırması sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p= 1,0000$). Diğer grup çiftleri arasında yapılan karşılaştırmalarda da anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p> 0,05$).



Şekil 8. Grupların ovaryum çapı grafiğine göre karşılaştırılması

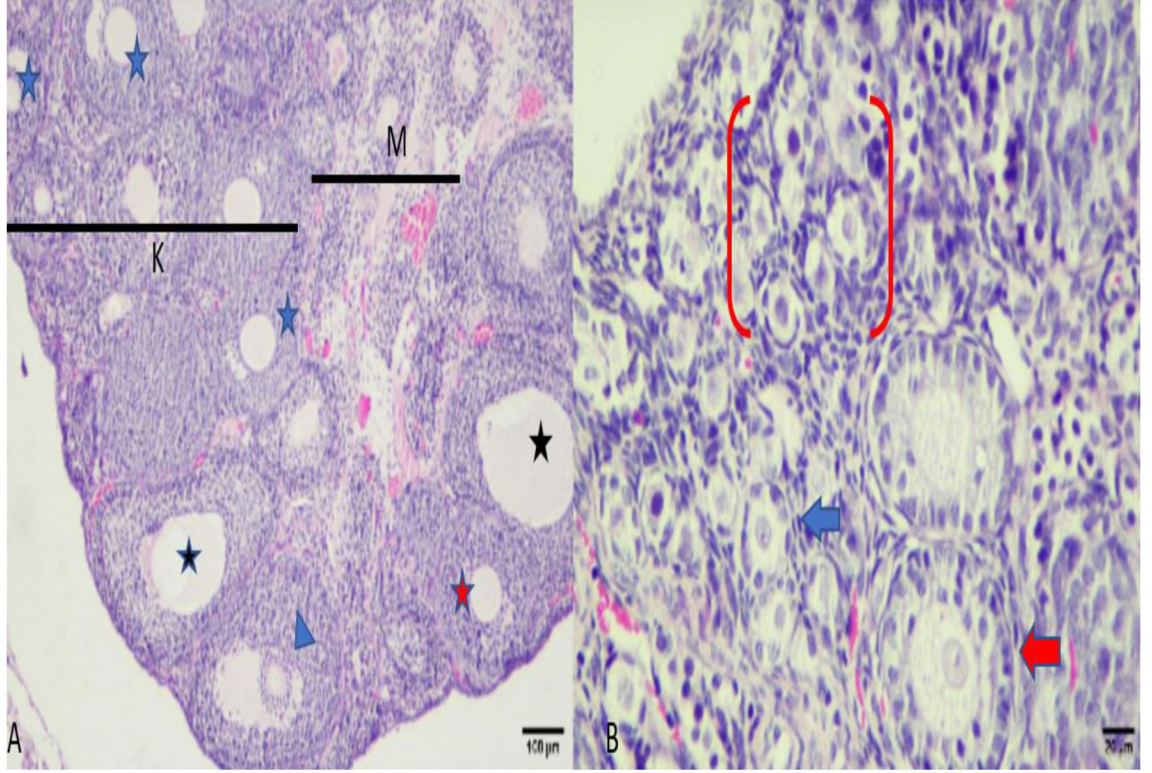
Quercetin grubu en düşük çapa sahipken OHSS grubunda en yüksek ovaryum çapı ölçüm sonuçları mevcuttur. Kontrol grubu ile OHSS grubu arasında fark vardır. OHSS grubu ile OHSS+Quercetin ve OHSS+Cabergolin grupları arasında anlamlı farklılık yoktur. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p<0,001$, **** $p \leq 0.0001$

4.4. Histolojik Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.4.1. Ovaryum Histomorfolojilerinin Değerlendirilmesi

Morfolojik analiz amacıyla gruplara ait Hematoksilen-Eozin boyama görüntülerine bakıldığında; Kontrol grubu ovaryumlarında primordiyal ve gelişmekte olan foliküllerin oldukça fazla sayıda olduğu, atretik ve kistik folikül sayılarının oldukça düşük olduğu görülmüştür (Tablo 9). Bu gruptaki ovaryum dokularının korteks ve medulla bölgelerinin belirgin bir şekilde ayrıt edilebildiği, folikül tipleri ve bağ dokusu alanlarının normal

görünümde olduğu gözlemlendi. Kortekste primer oositin tek katlı yassı hücreler tarafından çevrenmesi ile oluşan primordiyal folliküller, erken primer, geç primer folliküller, follikül sıvısının biriktiği antrum boşluğu içeren sekonder (antral) folliküller, primer oositin korona radiata ile çevrelediği ve kumulus ooforusu içeren büyük çaplı Graaf folliküllerine rastlandı (Resim 10 A-B).

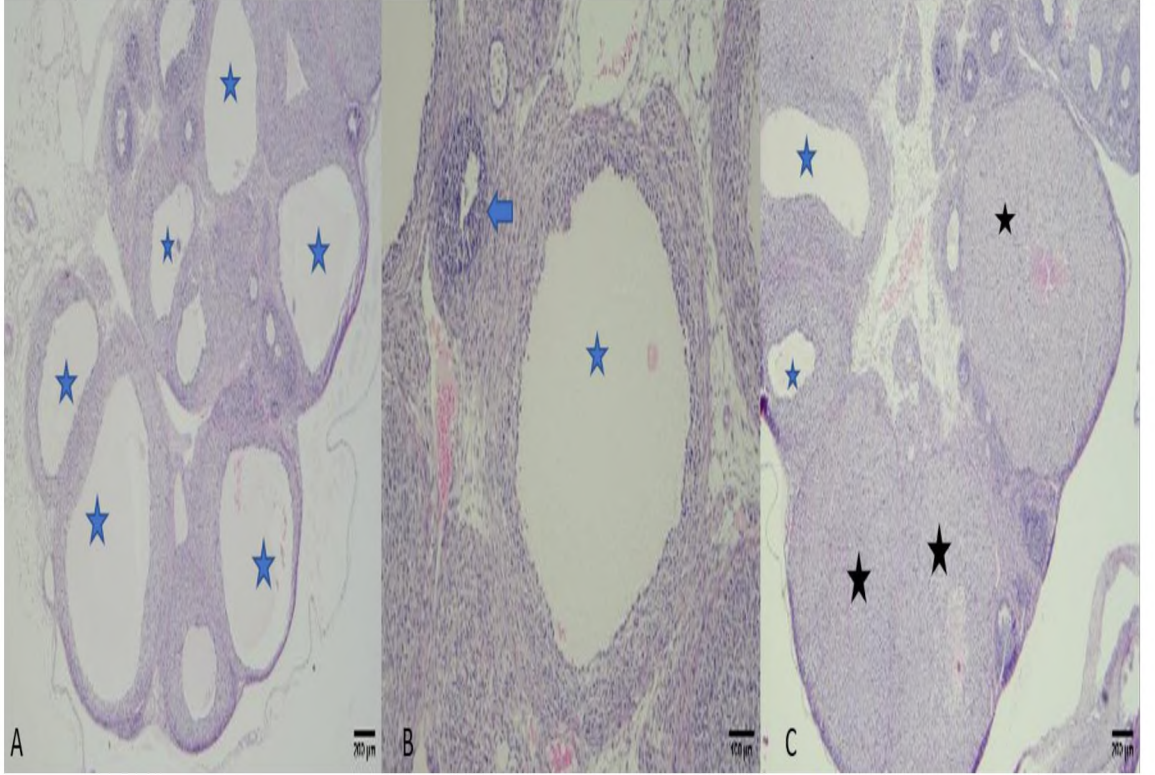


Resim 10. Kontrol grubu ovaryum H&E boyama görüntüleri.

A- K: Korteks, M: Medulla, Mavi yıldız: Sekonder folikül, Siyah Yıldız: Kistik folikül, Kırmızı Yıldız: Geç primer Folikül, Mavi ok başı: Graaf (Olgun)Folikül. (Fotomikrograf 10X büyütme ile görüntülenmiştir.) B- Kırmızı çevrili alan: Primordiyal foliküller, Mavi Ok: Erken Primer Folikül, Kırmızı Ok: Geç Primer Folikül (Fotomikrograf 40X büyütme ile görüntülenmiştir.) Ölçek: A-100 µm, B-20µm

OHSS grubunda; kontrol grubuna göre ovaryum çapının çok arttığı gözlemlendi. Ayrıca bu grupta yapılan uygulamalara bağlı olarak geliştiği düşünülen ve kontrol grubunda görülmeyen duvarı birkaç sıra hücre tabakasından oluşan çok sayıda kistik oluşumlara rastlandı. Bunların folliküler kistik oluşumlar olduğu düşünüldü. Kistik oluşumların ve korpus luteum yapılarının ovaryum dokusunun hemen tamamına yakınına oluşturduğu saptandı (Resim 11-A). Korteksin içinde primordiyal folliküller, erken primer folliküller ve geç primer folliküller daha az sayıda

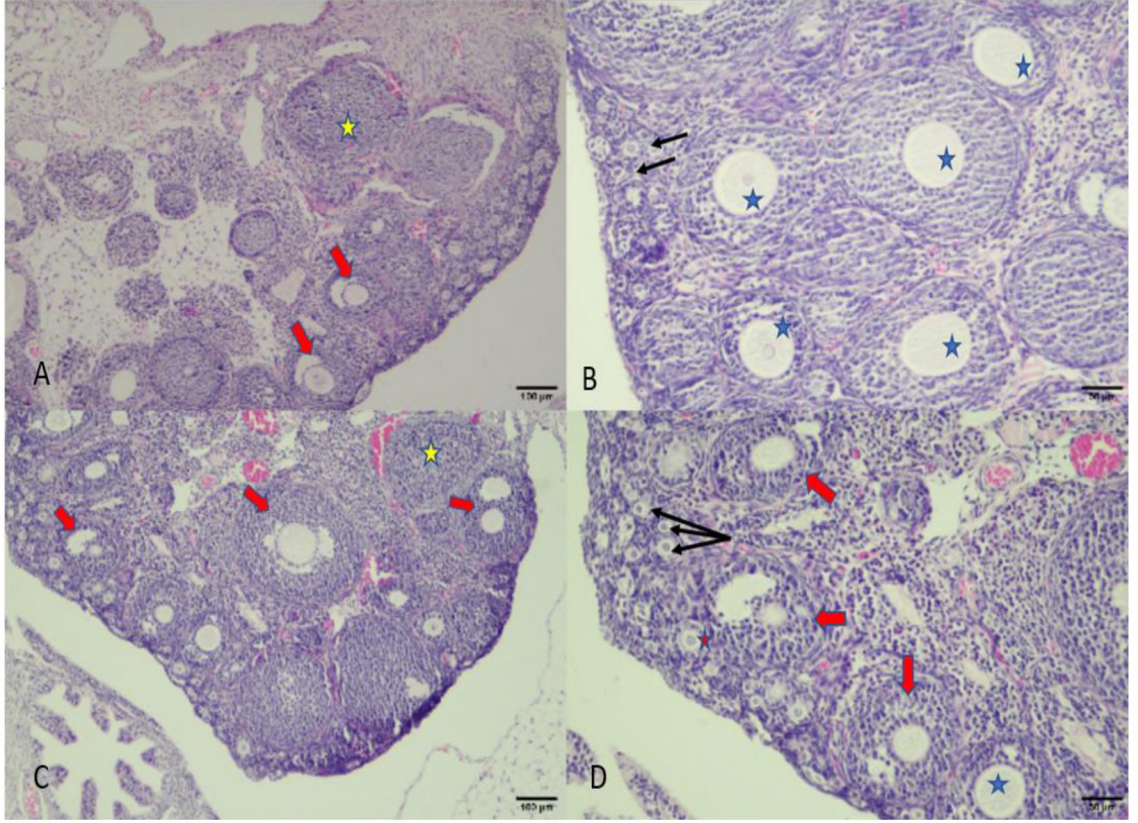
görünmekteydi. Bunların yanısıra kesitlerde atretik folliküller de gözlemlendi (Resim 11-B). Sekonder follikül ile Graaf follikülün yanı sıra kontrol grubuna göre daha çok korpus luteum yapısı dikkati çekti (Resim 11-C, Tablo 9). Korpus luteum yapıları incelendiğinde, içte soluk boyanan granüloza lutein hücreleri ile dışta koyu boyanan teka lutein hücrelerinden oluştuğu görülmekteydi (Resim 11-C).



Resim 11. OHSS grubu ovarium H&E boyama görüntüleri

A-Fotomikrograf 4X büyütmede geniş yer kaplayan kistik foliküller çok sayıda ve belirgin (mavi yıldız) olarak izlenmektedir. B-Kistik foliküllerden birinin 10X büyütme ile görünümü (mavi yıldız), atretik bir folikül (mavi ok) C- Siyah yıldız: Korpus luteum, Mavi yıldız: Kistik folikül (Fotomikrograf 4X büyütme) Ölçek A-C: 200 µm, B: 100 µm

Quercetin ve Cabergolin gruplarına ait ovariumlarda; kistik foliküllerin sayısındaki azalma ile birlikte nadiren atretik foliküllerin varlığı saptandı. Korpus luteum sayısında oldukça az gözlemlendi. Primordiyal, erken ve geç primer ile antral foliküller ve matür foliküllerin sayısı kontrol grubuna yakın görüldü (Resim 12, Tablo 9). Quercetin grubunda antral foliküllerin fazlalılığı dikkat çekiciydi. (Resim 12-A). Her iki grubun mikroskopik incelemelerinde birbirine ve kontrol grubuna benzer sayı ve görünümde foliküllere sahip oldukları görüldü.

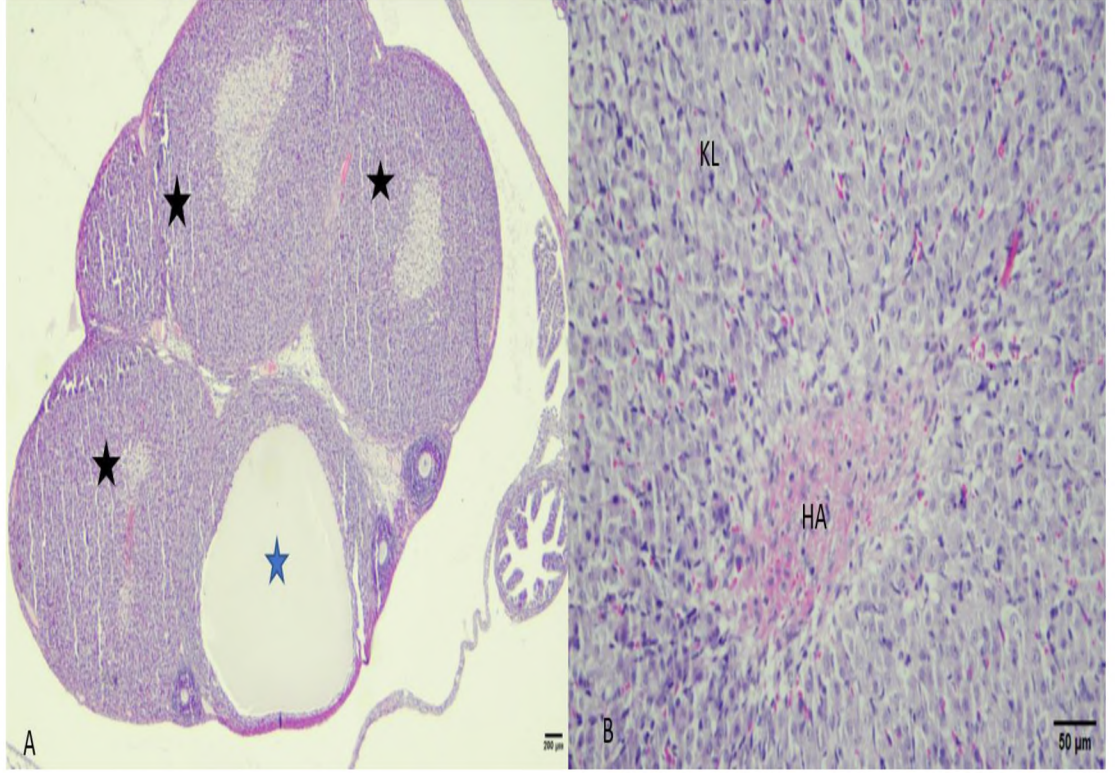


Resim 12. Quercetin ve Cabergolin grupları H&E boyama görüntüleri

A-Quercetin C-Cabergolin grubuna ait x10 luk büyütmede görüntüler; Kırmızı Ok: Sekonder foliküller Sarı Yıldız: Korpus Luteum; B-Quercetin D-Cabergolin grubuna ait x20 büyütmede görüntüler; Mavi Yıldız: Geç Primer Folikül, Siyah Ok: Primordiyal Folikül (Ölçek A-C:100 µm B-D:50 µm)

OHSS+Quercetin grubuna ait kesitlerde; ovaryum çapının OHSS grubuna göre nispeten daha küçük, kontrol grubundan ise oldukça büyük olduğu ve kortekste değişik gelişim aşamalarında (primordiyal, erken ve geç primer, antral) folliküllerin kontrol grubundan oldukça daha az sayıda görülmesi dikkat çekiciydi (Resim 13-A, Tablo 9). Kortekste primer oositin tek katlı yassı follikül hücrelerince çevrenmesiyle oluşan primordiyal folliküller izlendi. Ayrıca ovaryum kesitlerinde atretik folliküllere de rastlandı. Bu grupta, OHSS grubunda çok sayıda görülen korpus luteum oluşumları daha az sayıdaydı (Resim13-A). Korpus luteumlar incelendiğinde, bu yapıların soluk sitoplazmalı, poligonal yapıdaki granüloza lutein hücreleri ile onları çevreleyen teka lutein hücrelerinden oluştuğu saptandı (Resim 13-B). Bazı ovaryum kesitlerinde hemorajik bölgelere sahip korpus hemorajikumlara da izlendi. Bu bölgeler merkez boşluğunun sadece bir kısmında bulunuyordu (Resim 13-B). Bu grupta OHSS grubunda

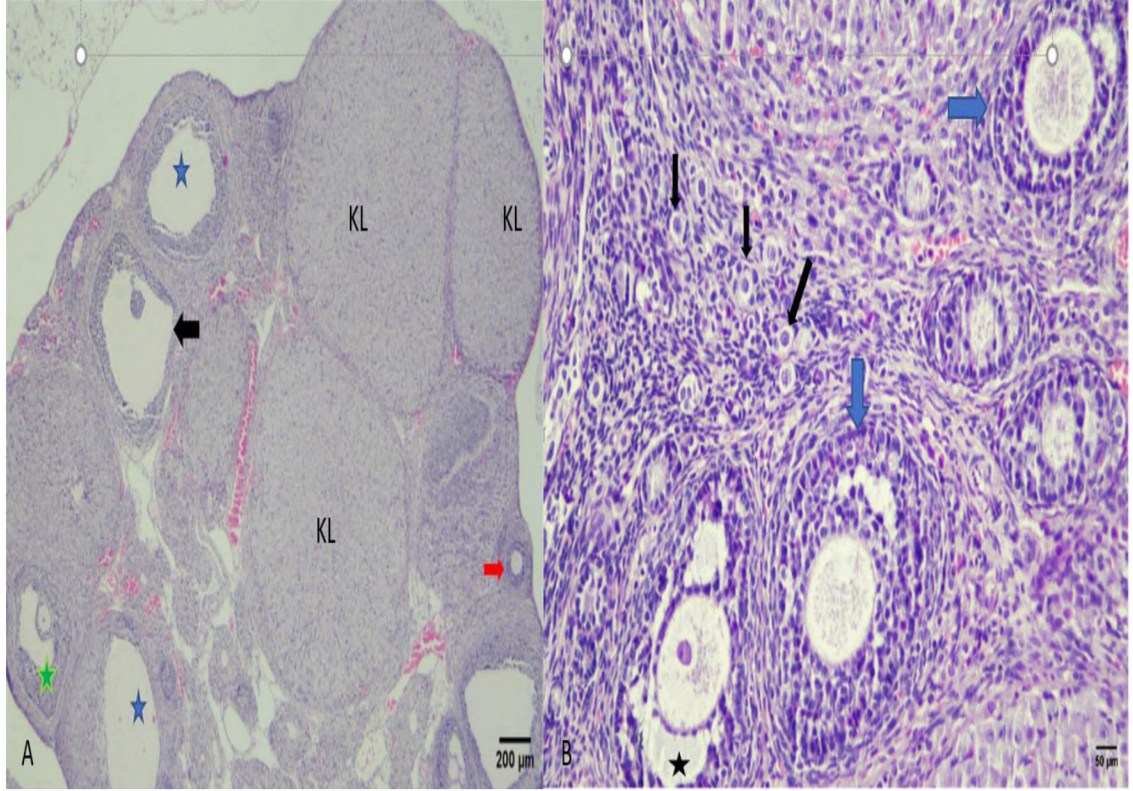
görülen çevresi hücreler ile çevrelenmiş kistik oluşumların mevcut olduğu ancak bu oluşumların OHSS grubuna göre azalmış olduğu saptandı (Resim 13-A).



Resim 13. OHSS+Quercetin grubu H&E boyama görüntüleri

A-Fotomikrograf 4X büyütmede siyah yıldız: Korpus Luteum, Mavi yıldız: Kistik Folikül
B- Korpus Luteum 20X büyütme de ortada HA: Hemorajik alan görülmektedir (Ölçek A-200 µm B-50 µm)

OHSS + Cabergolin grubu ovaryumlarında, ovaryum çaplarının OHSS grubuna yakın olduğu fakat atretik ve kistik folikül sayılarının OHSS grubuna göre daha az sayıda olduğu, gelişmekte olan foliküllerin ve korpus luteum sayılarının arttığı gözlemlendi (Resim 14-A). OHSS gruplarından farklı olarak bu grupta primordiyal ve geç primer foliküller daha fazla sayıda ve göze çarpan görünümdeydi (Resim 14-B).



Resim 14. OHSS + Cabergolin grubu H&E boyama görüntüleri.

A-Mavi yıldız: Kistik folikül, Yeşil yıldız: Graaf folikül, Siyah ok: Atretik folikül, KL: Korpus Luteum, Kırmızı Ok: Geç Primer Folikül (fotomikrograf 4X büyütme, ölçek:200µm)
B-Siyah Ok: Primordiyal foliküller, Mavi ok: Sekonder foliküller, Siyah yıldız: Graaf Folikül (Fotomikrograf 20X büyütme, ölçek:50µm)

Tablo 5. Deney gruplarına ait folikül sayıları (% ortalama $\pm$ std sapma)

Kontrol grubuna göre ;(*) 0.01 < p < 0.05, (**) 0.001 < p < 0.01

OHSS grubuna göre; a: p < 0.05

	Kontrol	OHSS	Quercetin	Cabergolin	OHSS + Quercetin	Cabergolin
Primordiyal Folikül	15,57 $\pm$ 11,28	4,14 $\pm$ 2,54	9,71 $\pm$ 7,56	13,85 $\pm$ 10,31	8,14 $\pm$ 1,34	9,85 $\pm$ 8,64
Erken Primer Folikül	5 $\pm$ 2,5	3 $\pm$ 2,5	11 $\pm$ 7,5	10 $\pm$ 6	7 $\pm$ 1,5	6 $\pm$ 4,5
Geç Primer Folikül	5,57 $\pm$ 5,59	3,42 $\pm$ 2,22	4,14 $\pm$ 3,84	4,42 $\pm$ 2,69	4,71 $\pm$ 1,11	6,85 $\pm$ 4,59
Sekonder Folikül	7,71 $\pm$ 5,46	3,85 $\pm$ 1,21	7,28 $\pm$ 5,64	5,85 $\pm$ 3,62	5 $\pm$ 0,81	3,71 $\pm$ 2,81
Graaf (Antral) Folikül	2,28 $\pm$ 1,25	1,71 $\pm$ 0,95	3,57 $\pm$ 2,63	3,71 $\pm$ 1,88	3,14 $\pm$ 1,77	2,14 $\pm$ 1,21
Atrezik Folikül	2 $\pm$ 3,5	2 $\pm$ 2	6 $\pm$ 3,5	4 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	4 $\pm$ 5,5
Kistik Folikül	3 $\pm$ 2	10 $\pm$ 6	2 $\pm$ 1 _a	1 $\pm$ 1 _a	2 $\pm$ 1	5 $\pm$ 2
Korpus Hemorajikum	0 $\pm$ 0,5	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0,5	0 $\pm$ 1,5
Korpus Luteum	0 $\pm$ 0	7 $\pm$ 3,5*	0 $\pm$ 0 _a	0 $\pm$ 0 _a	5 $\pm$ 2	7 $\pm$ 3**

Kontrol grubuna ait ovaryumlarda; en fazla sayıda primordiyal foliküllerin olduğu (15,57±11,28) daha sonra sırasıyla sekonder folikül, erken ve geç foliküllerin sayı olarak fazla olduğu, kistik folikül sayısı ile atrezik foliküllerin sayısının nadiren gözlemlendiği, korpus luteumun hiç görülmediği tespit edildi.

OHSS grubunda; kistik foliküllerin (10±6) en çok olduğu, 2.sırada korpus luteumun (7±3,5) olduğu gözlemlendi. Atrezik folikül sayıları da kontrol grubuna göre yüksek bulundu.

Quercetin grubu erken primer folikül ve primordiyal folikül açısından sayının fazla olduğu, korpus luteum ve hemorajikum'un hiç görülmediği çalışma grubu oldu. Bu grupta hem atrezik hem de kistik folikül sayısı düşük saptanmıştır.

Cabergolin grubunda ise primordiyal (13,85±10,31) ve erken primer folikül gelişimi kısmen korunmuş (10 ± 6), ancak sekonder (5,85±3,62) ve Graaf folikül (3,71±1,88) sayıları düşük düzeyde kalmıştır.

OHSS + Quercetin grubunda OHSS grubuna göre gelişmekte olan folikül sayılarında artış görülmekle birlikte, kistik folikül sayısı (2 ± 1) düşük olarak saptanmıştır. Korpus luteum sayısının (5±2) kontrol grubundan (0±0) fazla, OHSS grubuna (7±3,5) yakın olduğu gözlemlenmiştir.

OHSS+Cabergolin grubunda gelişmekte olan folikül sayıları OHSS grubuna göre artmış olup atrezik (4±5,5) ve kistik folikül (5±2) sayıları daha az olmakla birlikte korpus luteum sayısının (7±3) OHSS grubuna yakın sayıda olduğu gözlemlenmiştir.

4.4.1.1. Primordiyal Folikül

Gruplara göre primordiyal folikül sayılarının ortalama ± std sapma ile dağılımına göre; OHSS grubunda primordiyal folikül sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktür (p<0.05). Cabergolin ve OHSS+Cabergolin uygulamaları, OHSS grubuna kıyasla folikül sayısını artırmıştır ama istatistiksel anlamlılığı yoktur. Kontrol grubunda primordiyal folikül sayısı en yüksektir. OHSS+Quercetin grubu ile OHSS+Cabergolin grupları primordiyal folikül sayıları birbirine benzerdir.

4.4.1.2. Erken Primer Folikül

OHSS grubunda erken primer folikül sayısı, kontrol grubuna kıyasla azalmış ve en düşük seviyededir. Quercetin grubu OHSS grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek ($p = 0.0448$) erken primer folikül sayısına sahiptir, istatistiksel anlamlılığı mevcuttur. OHSS+Quercetin grubu OHSS+Cabergolin grubuna kıyasla daha fazla erken primer folikül içermektedir fakat istatistiksel anlamlı değildir.

4.4.1.3. Geç Primer Folikül

Geç primer folikül oranı tüm gruplar arasında benzer olduğundan istatistiksel analiz sonuçlarına göre gruplar arasında herhangi bir farka rastlanmamıştır, tüm karşılaştırmalarda ($p>0,05$) olarak bulunmuştur. OHSS grubu, en düşük ortalama sahip gruptur. OHSS+Cabergolin grubunda en yüksek ortalama ile geç primer folikül sayısı gözlenmiştir.

4.4.1.4. Sekonder (Antral) Folikül

Kontrol ($7,71\pm5,46$) ve Quercetin ($7,28\pm5,64$) gruplarında sekonder folikül sayısı en yüksektir. OHSS ve OHSS+Cabergolin gruplarında belirgin bir düşüş gözlenmektedir. Quercetin ($7,28\pm5,64$) ile Cabergolin ($5,85\pm3,62$) ve OHSS+Quercetin ($5\pm0,81$) ile OHSS+Cabergolin ($3,71\pm2,81$) grupları arasında da Quercetin kullanılan gruplarda daha fazla olmak üzere sekonder folikül sayılmıştır. Gruplar arası istatistiksel anlamlılık yoktur.

4.4.1.5. Graaf Folikül

OHSS grubu, antral folikül sayısı bakımından en düşük ortalama sahiptir (1.71 ± 0.95). Quercetin (3.57 ± 2.63) ve Cabergolin (3.71 ± 1.88) gruplarında antral folikül sayısı, kontrol grubunun (2.28 ± 1.25) üzerine çıkmıştır. OHSS+Quercetin (3.14 ± 1.77) grubunda OHSS+Cabergolin (2.14 ± 1.21) grubuna göre daha fazla sayıda graaf folikül tespit edilmiştir.

En yüksek antral folikül sayısı Cabergolin grubuna aittir. Gruplar arası istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

4.4.1.6. Atrezik Folikül

Kontrol ve Quercetin gruplarında atrezik folikül sayısı düşüktür ($2 \pm 3,5$ ile 2 ± 2). OHSS grubunda ($6 \pm 3,5$) yüksek sayıda ortalamaya sahip foliküller mevcuttur. Tedavi grupları olan Cabergolin (4 ± 2), OHSS+Quercetin (5 ± 2) ve OHSS+Cabergolin ($4 \pm 5,5$) gruplarında da orta düzeyde artış OHSS grubundan düşük olarak dikkat çekmektedir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre gruplar arasında herhangi bir farka rastlanmamıştır.

4.4.1.7. Kistik Folikül

OHSS grubu, 10 ± 6 ortalama ile kistik folikül sayısının en yüksek olduğu gruptur. Kontrol grubuyla OHSS grubu arasında fark yoktur. Cabergolin (1 ± 1) ve Quercetin (2 ± 1) uygulamaları, kontrol grubuna yakın görünmektedir. OHSS+Cabergolin grubunda (5 ± 2) bu etki kısmen sürse de OHSS'ye kıyasla anlamlı düşüş söz konusu değildir. OHSS ile OHSS+Quercetin arasında ve OHSS+Cabergolin grupları arasında fark yoktur. OHSS grubu ile Quercetin ($p=0,0041$) ve Cabergolin ($p=0,0000$) arasında, Cabergolin grubu ile OHSS+Cabergolin grubu arasında ($p=0,0032$) anlamlı farklılık saptanmıştır. OHSS+Quercetin ile OHSS+Cabergolin arasında anlamlı fark yoktur ($p= 1,0000$).

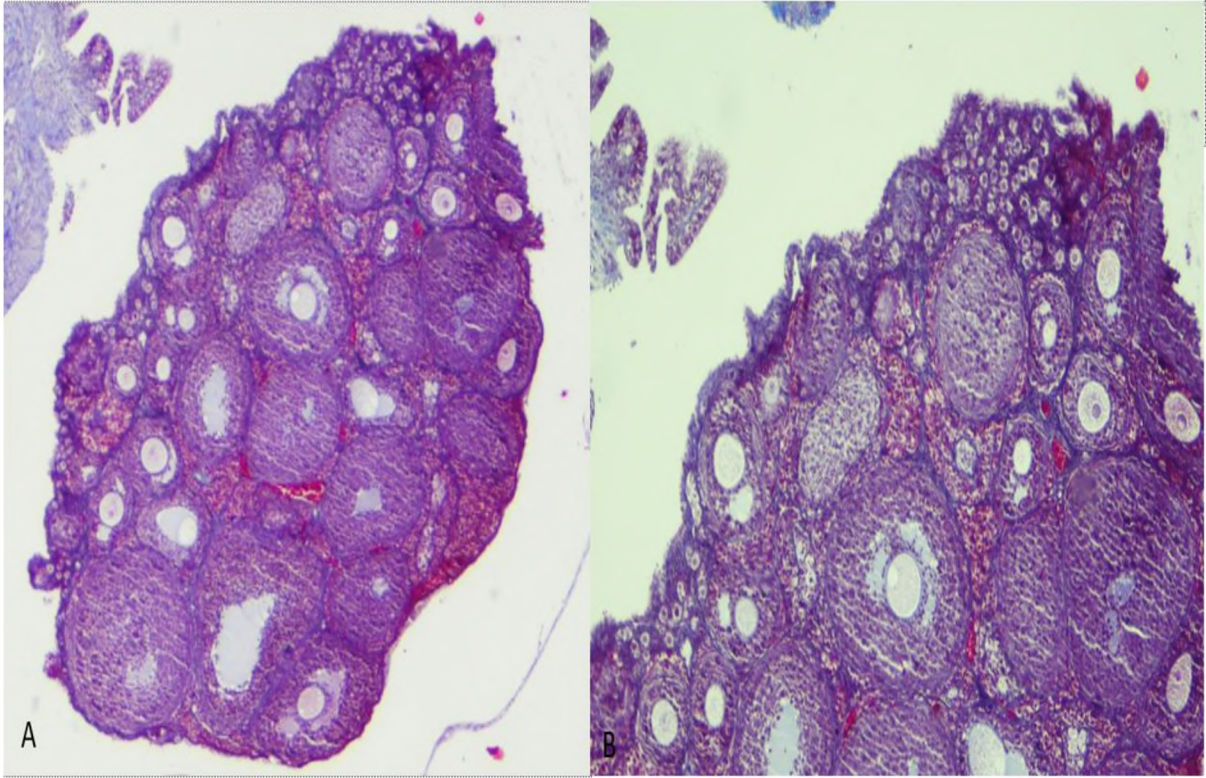
4.4.1.8. Korpus Hemorajikum

Korpus hemorajikum oluşumu, yalnızca OHSS+Quercetin grubunda gözlenmiştir (1 ± 0.5), diğer tüm gruplarda ortalama sifıra yakındır.

4.4.1.9. Korpus Luteum

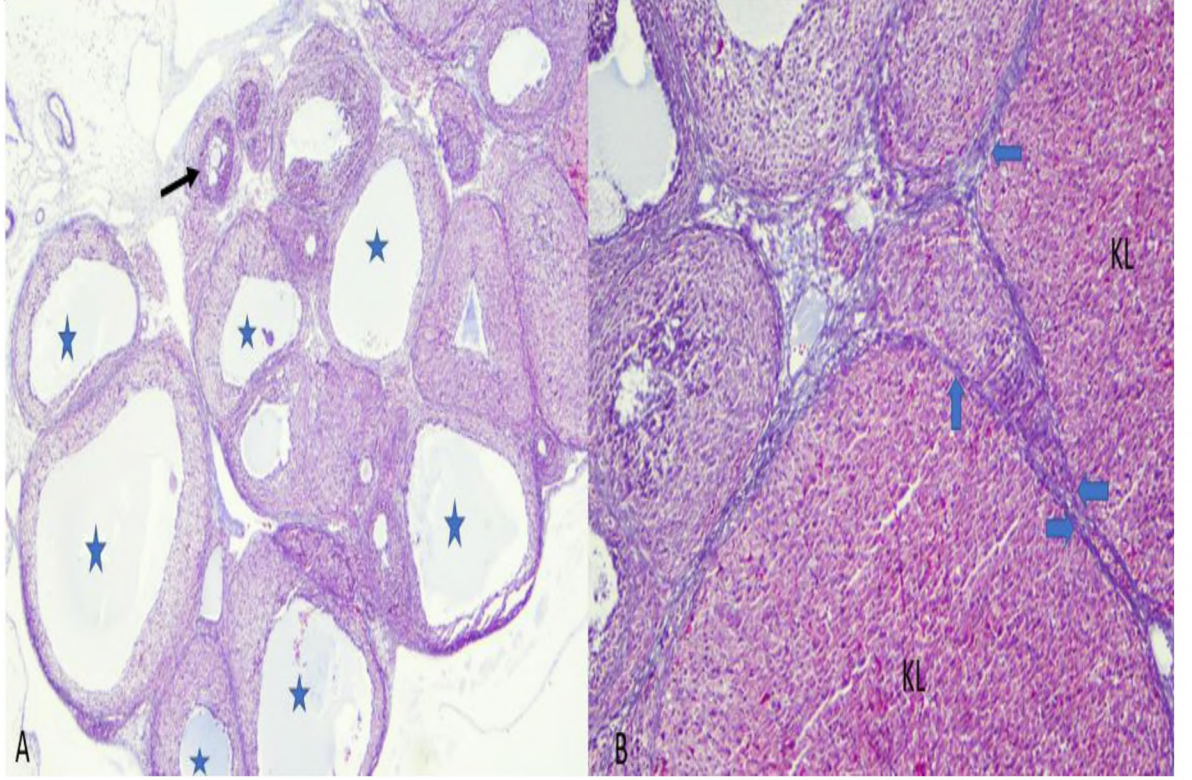
Korpus luteum oluşumu yalnızca OHSS ($7 \pm 3,5$), OHSS+Quercetin (5 ± 2), ve OHSS+Cabergolin (7 ± 3) gruplarında gözlenmiştir. Kontrol, Quercetin ve Cabergolin monoterapi gruplarında hiç korpus luteum oluşmamıştır. OHSS+Quercetin grubunda gözlenen korpus luteum sayısı, OHSS grubuna göre kısmen daha düşüktür. OHSS+Cabergolin grubunda ise OHSS ile benzer sayılar gözlenmiştir. Gruplar arasındaki farklar anlamlı değildir.

4.4.2. Masson-Trikrom (MT) Boyama Bulguları



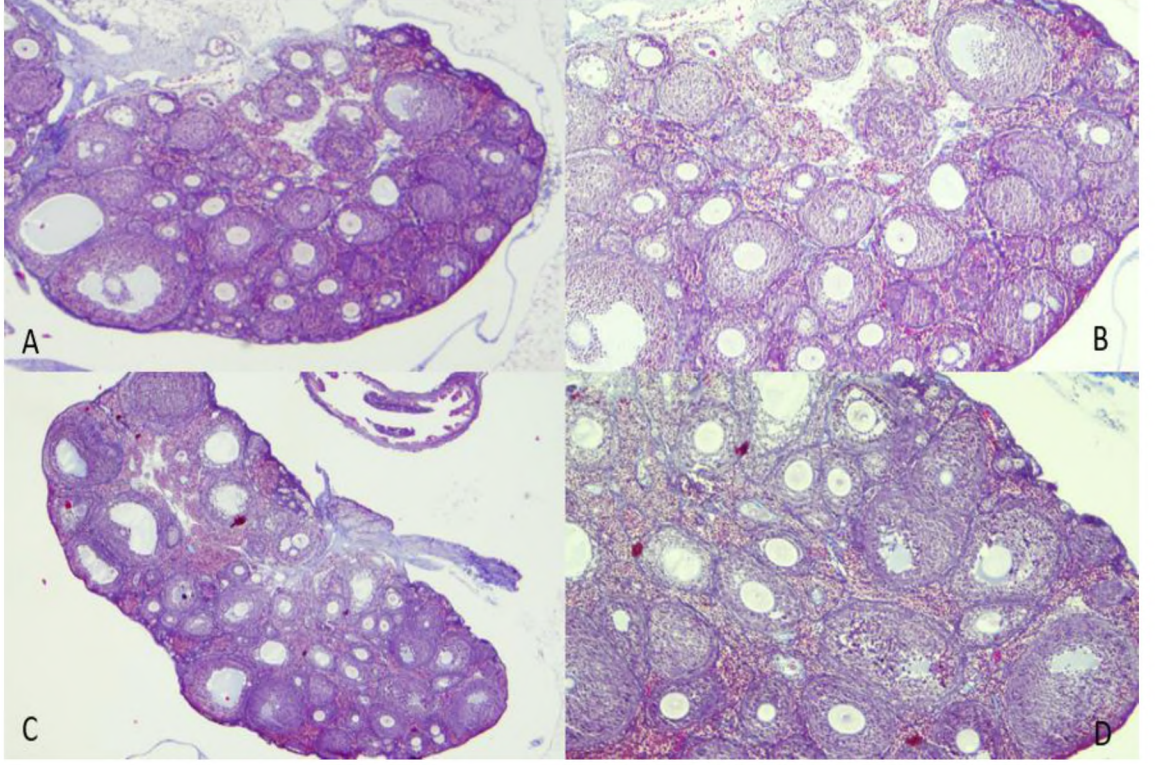
Resim 15. Kontrol grubu over dokusu MT boyaması

A. Çok sayıda primordiyal folikül ve gelişmiş foliküller gözlemlenmektedir (Fotomikrograf 4X büyütme ile görüntülenmiştir). B. Bağ dokusu ve kan damarları içeren medulla bölgesi anilin blue ile hafif boyanma göstermiştir (Fotomikrograf 10X büyütme ile görüntülenmiştir).



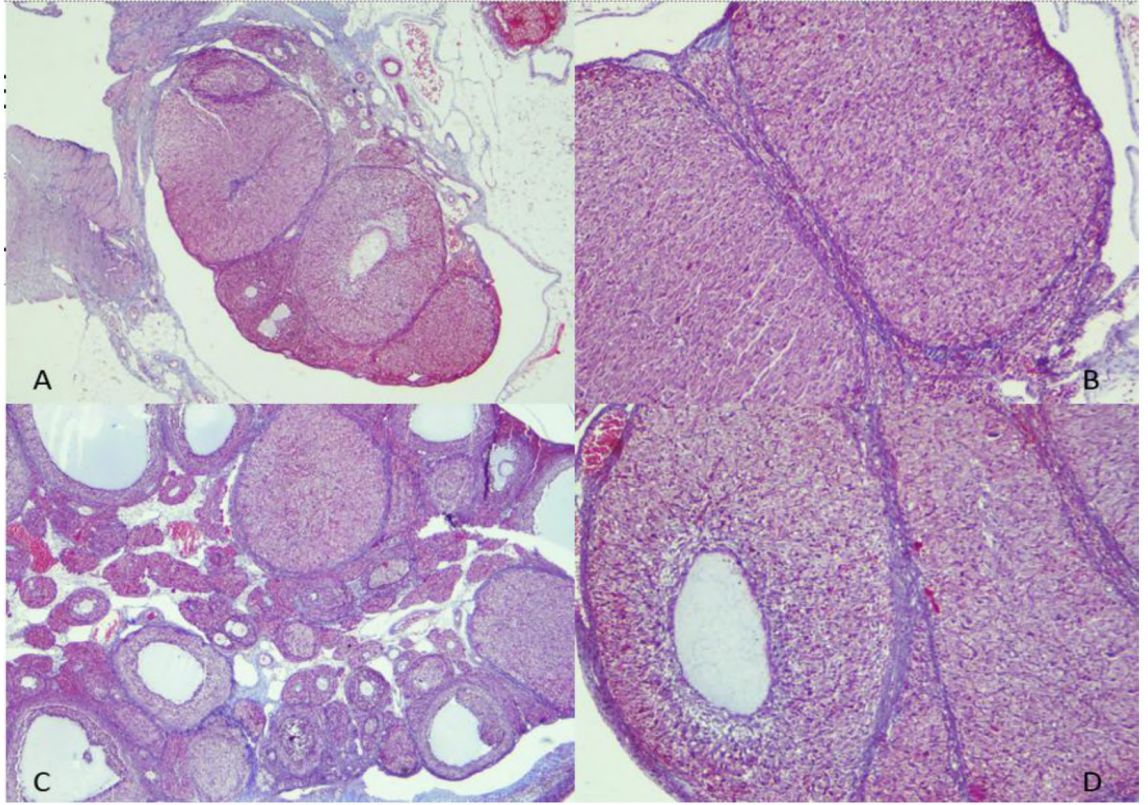
Resim 16. OHSS grubu over dokusu MT boyaması.

A. Çok sayıda kistik yapının (mavi yıldız) yanı sıra bir adet sekonder folikül (siyah ok) gözlenmektedir (Fotomikrograf 4X büyütme ile görüntülenmiştir). B. Yoğun kistik yapıların yanı sıra korpus luteum (KL) büyük ve fazla sayıda gözlenmiştir. Teka tabakasında (mavi oklar) hiperplazi, medullada kollajen boyanma artışı da görülmektedir (Fotomikrograf 10X büyütme ile görüntülenmiştir).



Resim 17. Quercetin ve Cabergolin grubu MT boyaması

Quercetin (Şekil A-B) ve Cabergolin (Şekil C-D) görüntülere bakıldığında her iki grupta da kontrol grubuna benzer şekilde primordiyal ve gelişmekte olan foliküllerin fazlaca olduğu, medulla boyamasının kontrol grubundan biraz daha fazla boyanma gösterdiği izlenmiştir. (Şekil A-C x4 büyütme, Şekil B-D x10 büyütme)



Resim 18. OHSS+Quercetin grubu (Şekil A-B) ve OHSS+Cabergolin grubu (Şekil C-D) MT boyaması.

Şekil A ve B de kontrol grubuna kıyasla yer yer artmış kollajen dağılımı ve azalmış folikül sayısı, OHSS grubuna göre daha az sayıda kistik ve atrezik folikül gözlenmiştir. OHSS grubuna benzer şekilde teka tabakasında hiperplazi de görülmektedir (Şekil A-C 4X büyütme, Şekil B-D 10X büyütme)

4.4.3. Ovaryumların İmmünohistokimyasal Analizlerinin Değerlendirilmesi

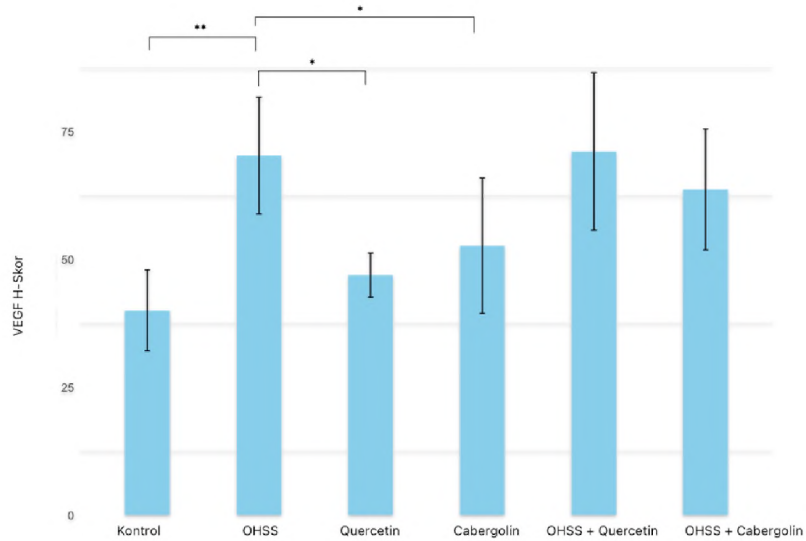
4.4.3.1. VEGF Dağılımı

VEGF immünoreaktivite dağılımları genel yapıya bakarak değerlendirilmiş ve sonuçları Tablo 10’da verilmiştir. Ovaryumlara ait VEGF dağılımlarına bakıldığında intrasitoplazmik, ekstrasellüller ve perivasküler alanlarda boyanma yoğunluğu gözlenmiştir.

Tablo 10. Deney gruplarına ait VEGF İmmünohistokimyasal H Skor Sonuçları (medyan $\pm$ IQR)

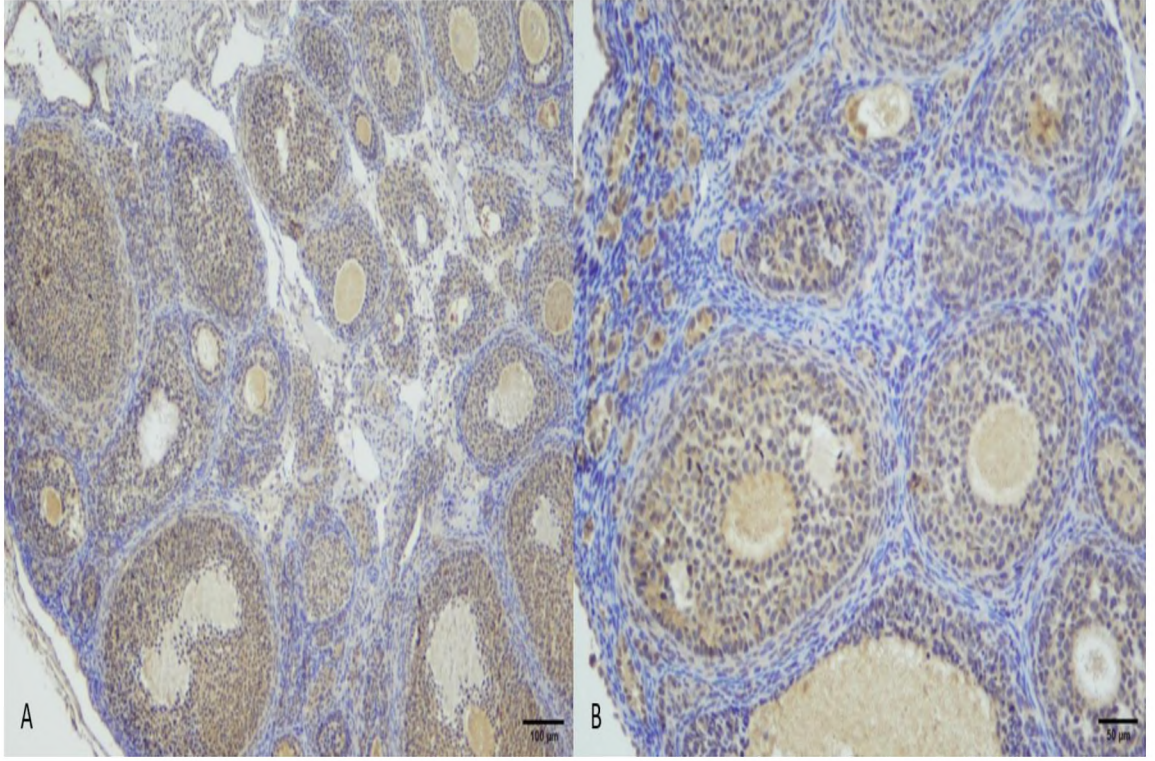
	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P değeri
VEGF H-Skor	40,06 $\pm$ 7,89	70,31 $\pm$ 11,41	46,94 $\pm$ 4,33	52,70 $\pm$ 13,25	71,13 $\pm$ 15,41	63,70 $\pm$ 11,83	p < 0.001

En düşük kontrol grubunda (40,06 $\pm$ 7,89) en yüksek OHSS (70,31 $\pm$ 11,41) ve OHSS+Quercetin (71,13 $\pm$ 15,41) gruplarında gözlem sonuçları elde edilmiştir. Kontrol grubuyla OHSS grubu arasındaki fark (p<0.01) yüksek derecede anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubunun diğer gruplar ile anlamlı farklılığı yoktur. Quercetin (46,94 $\pm$ 4,33) ve Cabergolin grupları (52,70 $\pm$ 13,25) kontrol grubuna göre hafif artmıştır, anlamlı farklılık yoktur. OHSS grubuna göre Quercetin ve Cabergolin grupları arasındaki fark anlamlı yüksektir (p<0.05). Quercetin ve Cabergolin gruplarının kendi aralarında farklılık yoktur. OHSS+Quercetin (71,13 $\pm$ 15,41) ve OHSS+Cabergolin (63,70 $\pm$ 11,83) grupları arasında da istatistiksel farklılık saptanmamıştır.



Şekil 9. Grupların VEGF immünohistokimyasal H skor sonuçlarına göre karşılaştırılması.

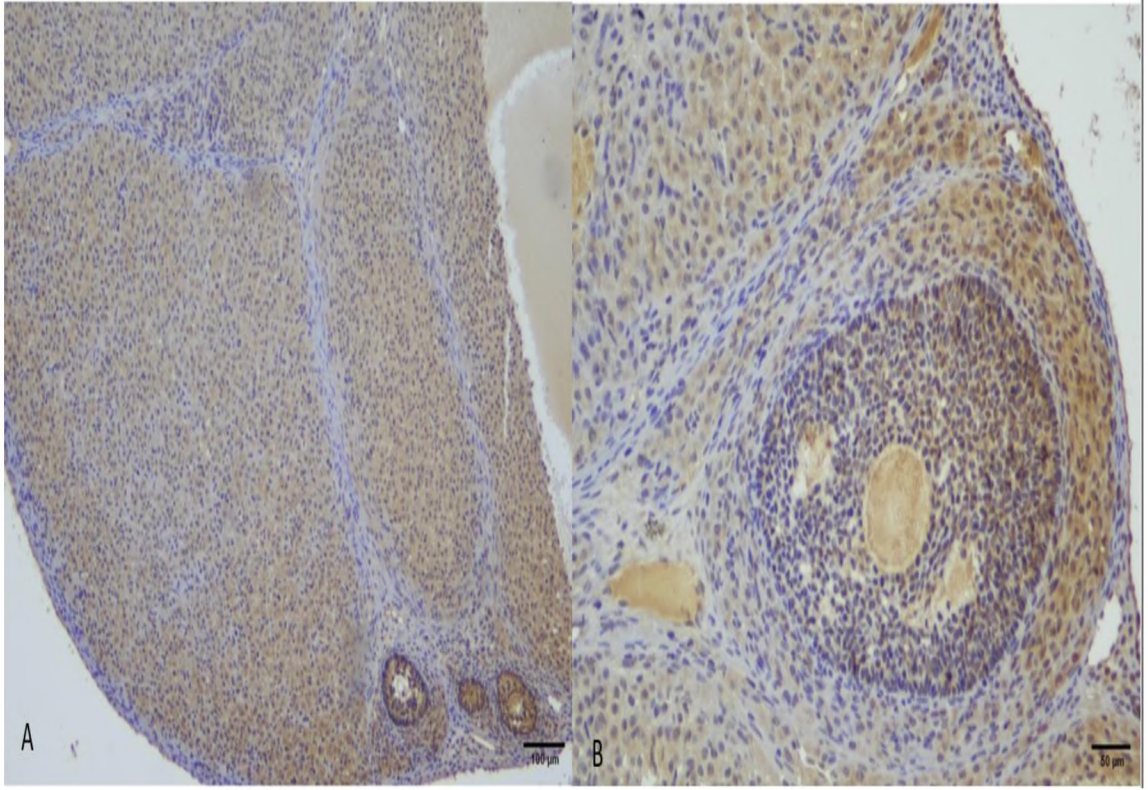
Kontrol grubu, Quercetin ve Cabergolin gruplarında en düşük boyanma gözlenirken, en yüksek VEGF boyanmasının OHSS ve OHSS+Quercetin grubunda olduğu görülmüştür. OHSS grubu kontrol, Quercetin ve Cabergolin grupları arasında anlamlılık vardır. * p $\leq$ 0.05, ** p $\leq$ 0.01, ***p<0,001, **** p $\leq$ 0.0001



Resim 19. Kontrol grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

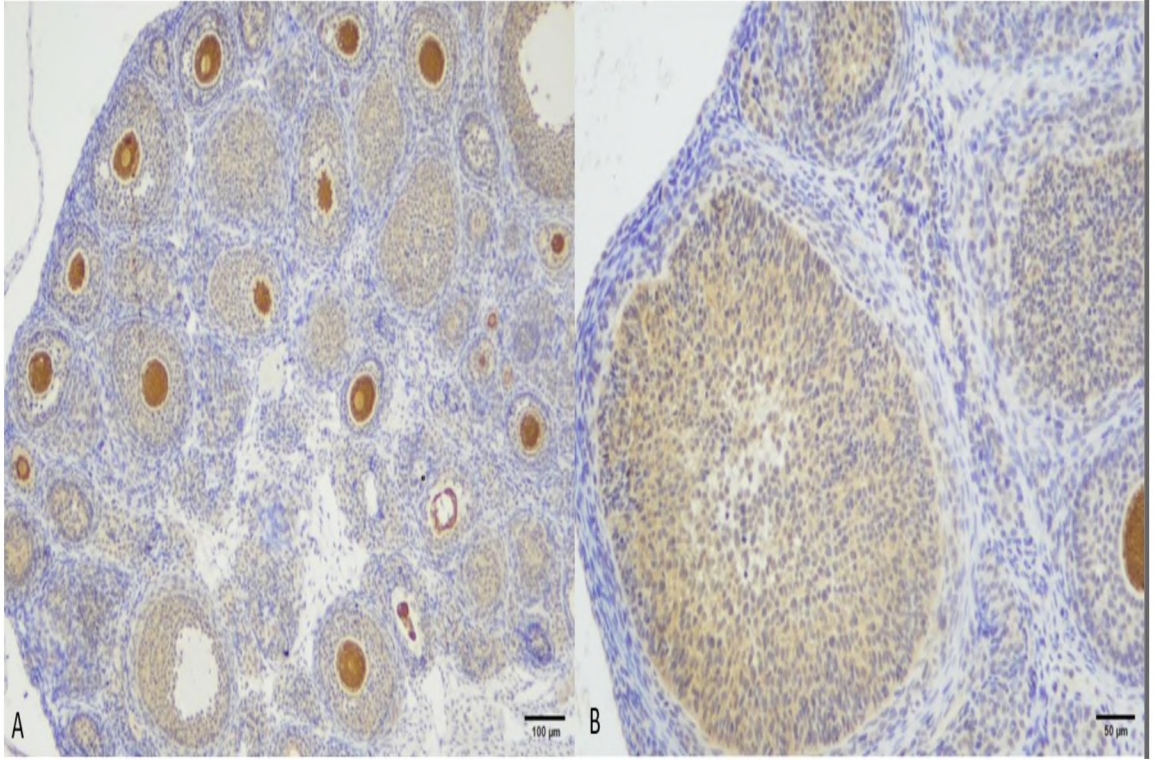
Kontrol grubuna ait VEGF dağılımlarına bakıldığında intrasitoplazmik, ekstrasellüller ve perivasküler alanlarda boyanmanın yanısıra granuloza hücrelerinde intrasitoplazmik dağılım gösterdiği görülmüştür. Primordiyal foliküllerde zayıf boyanma, erken primer foliküllere ait granuloza hücrelerinde ise yer yer orta-kuvvetli pozitif boyanmalar gözlense de genel olarak zayıf pozitif boyanma tespit edildi. Geç primer foliküllere ait boyanmalar zayıf pozitif değerlendirilirken benzer şekilde Sekonder foliküle ait granuloza hücrelerindeki VEGF immünoaktivitesinin kontrol gruplarında zayıf pozitif olduğu belirlendi. Graaf foliküllerinde bazı alanlarda orta derecede pozitiflik saptanırken atretik ve kistik foliküllerde zayıf pozitif boyanma gözlendi.

Korpus Hemorajikum ve Korpus Luteum saptanmadığından VEGF boyanması değerlendirilmedi.



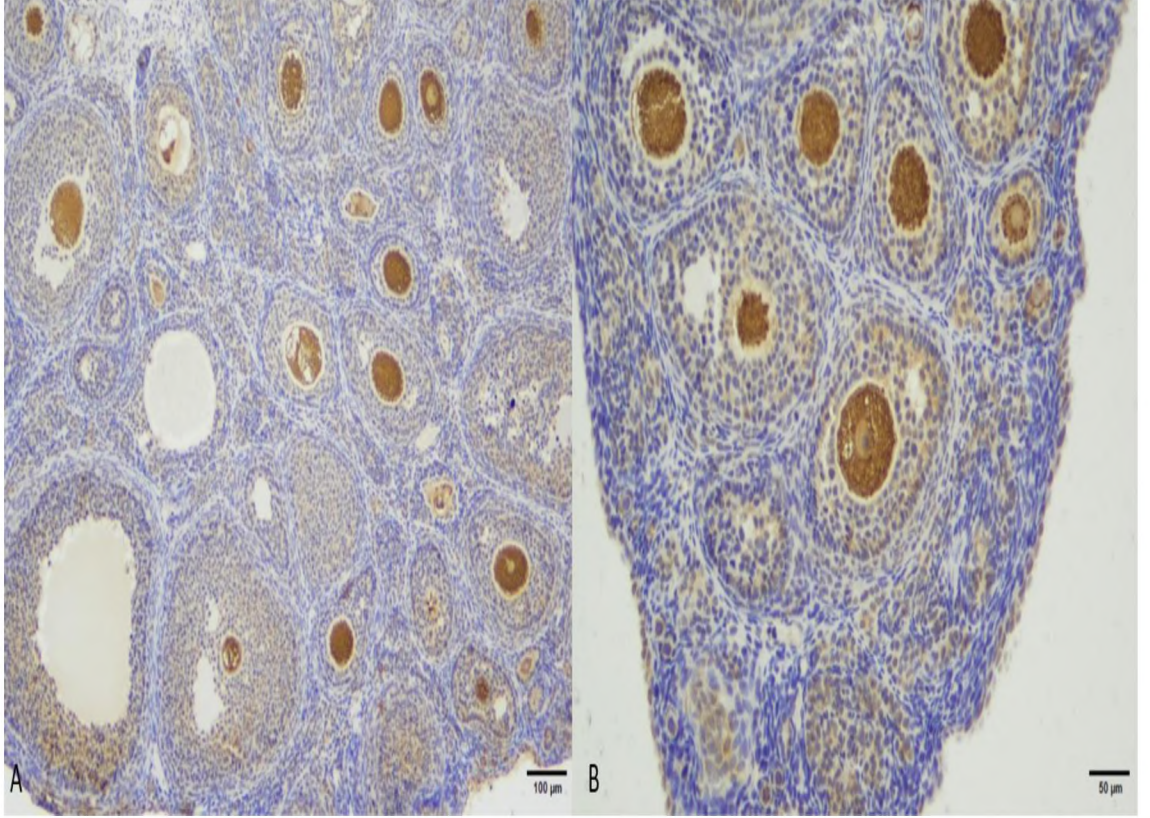
Resim 20. OHSS grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS grubunda primordiyal foliküllerdeki granuloza hücrelerinin VEGF immünoreaktivitesi, kuvvetli pozitif olarak belirlendi. Erken primer foliküller ve geç primer foliküllerde zayıf pozitif, sekonder foliküllerde boyanmanın arttığı ve orta pozitif olduğu saptandı. Graaf folikülü OHSS grubundaki bazı granuloza hücrelerinde kuvvetli pozitif boyanmayla birlikte sıklıkla orta pozitif boyanma saptandı. Kistik foliküllerde antral boşluk etrafındaki granuloza hücreleri orta düzeyde pozitiflik gösterdi. Korpus luteum boyanmaları orta-kuvvetli pozitif olarak değerlendirildi.



Resim 21. Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

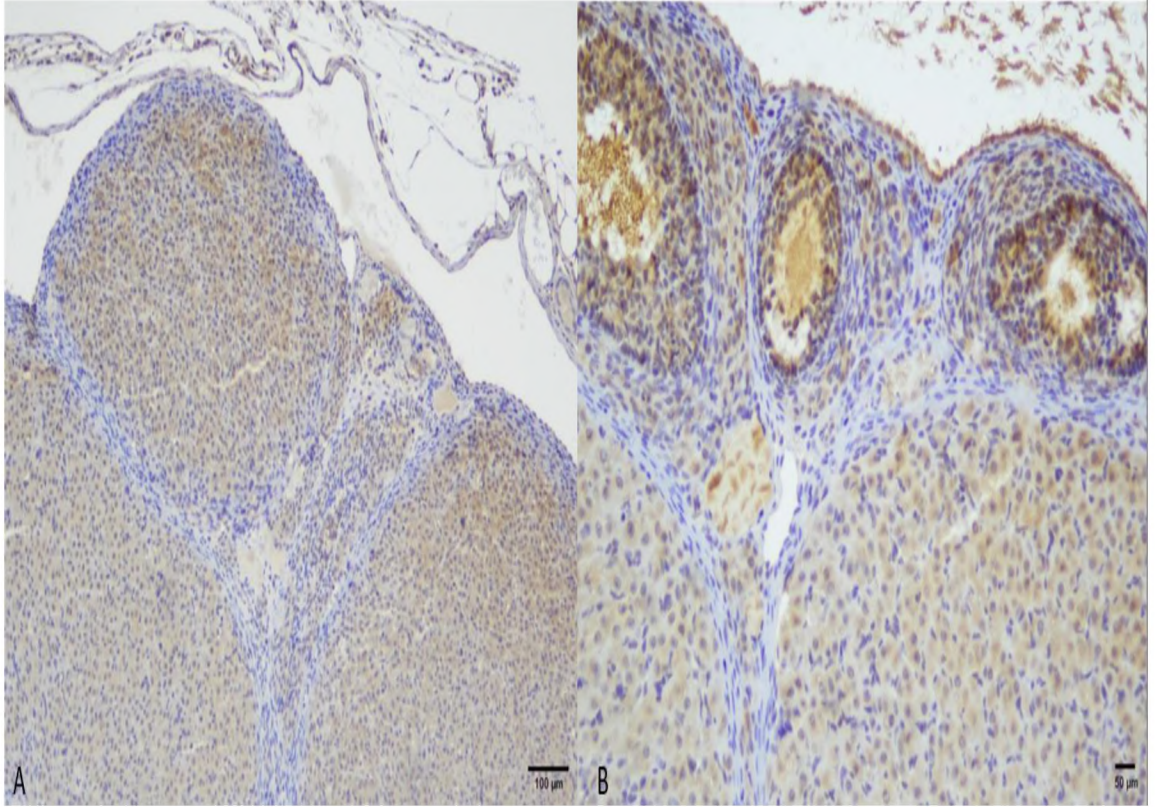
Quercetin grubunda; Primordiyal, erken ve geç primer foliküllerin zayıf-negatif boyanma gösterdiği; sekonder ve kistik foliküllerin zayıf boyanma özelliğinde olduğu yine bu foliküllere ait oosit sitoplazmasının belirgin boyanma gösterdiği izlenmiştir. Graaf foliküllerinde orta düzeyde boyanma gözlemlendi. Atrezik foliküllerin boyanması zayıf olarak değerlendirildi.



Resim 22. Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

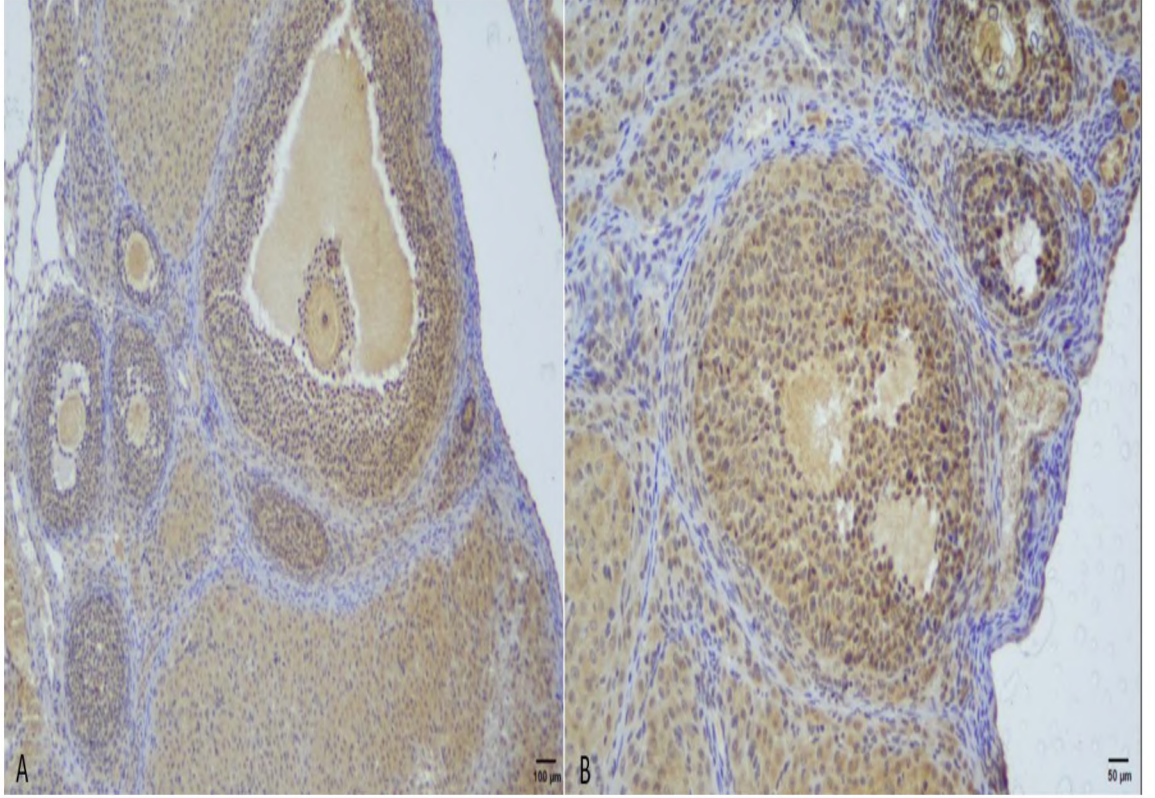
Cabergolin grubuna ait VEGF dağılımlarına bakıldığında; granuloza hücrelerindeki intrasitoplazmik dağılım ile birlikte primordiyal foliküllerde zayıf boyanma, erken primer foliküllere ait granuloza hücrelerinde ise negatif-zayıf pozitif boyanma olarak tespit edildi. Geç primer foliküllere ait boyanmalar zayıf pozitif değerlendirilirken benzer şekilde sekonder foliküle ait granuloza hücrelerindeki VEGF immünoaktivitesinin Cabergolin gruplarında zayıf pozitif olduğu belirlendi. Graaf foliküllerinde orta derecede pozitiflik saptanan bazı alanlara rağmen genel görünümde zayıf boyanma olarak değerlendirildi. Atretik ve kistik foliküllerde zayıf pozitif boyanma gözlemlendi.

Korpus Hemorajikum ve Korpus Luteum saptanmadığından VEGF boyanması değerlendirilmedi.



Resim 23. OHSS+Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS+Quercetin grubunda genel bakışta tüm ovaryumun OHSS grubundan daha düşük yoğunlukta kontrol grubundan ise daha belirgin boyanma özelliğinde olduğu gözlemlendi. Primordiyal foliküllerde, erken ve geç primer foliküllerde orta derecede boyanma, antral foliküllere bakıldığında ise folikül büyümesi ile birlikte oosit sitoplazmasında ve granuloza hücrelerinde benzer şekilde orta yoğunlukta bir boyanma mevcuttu. Atrezik ve kistik foliküllerin boşlukları ve etraflarını saran hücresel alanda boyanma yoğunluğu artmıştı. Korpus luteumları ise periferlerinde daha yoğun orta kısmında ise daha düşük olmak üzere zayıf düzeyde boyanma özelliği gösterdi.



Resim 24. OHSS+Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında VEGF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS+Cabergolin grubu hücresel boyanma özelliklerine bakıldığında primordiyal foliküllerin yer yer orta yoğunlukta, erken ve geç primer foliküllerde orta yoğunlukta bir boyanma gözlemlendi. Antral foliküllerin orta kuvvette boyanma gösterip özellikle antral sıvılarının boyanması dikkat çekiciydi. Kistik foliküllerin iç folikül hücreleri daha yoğun boyanma gösterdi. Korpus luteum yapıları orta-düşük yoğunluklu olarak izlendi. Bazı foliküllerin teka hücreleri içinde de düşük yoğunlukta boyanma görüldü.

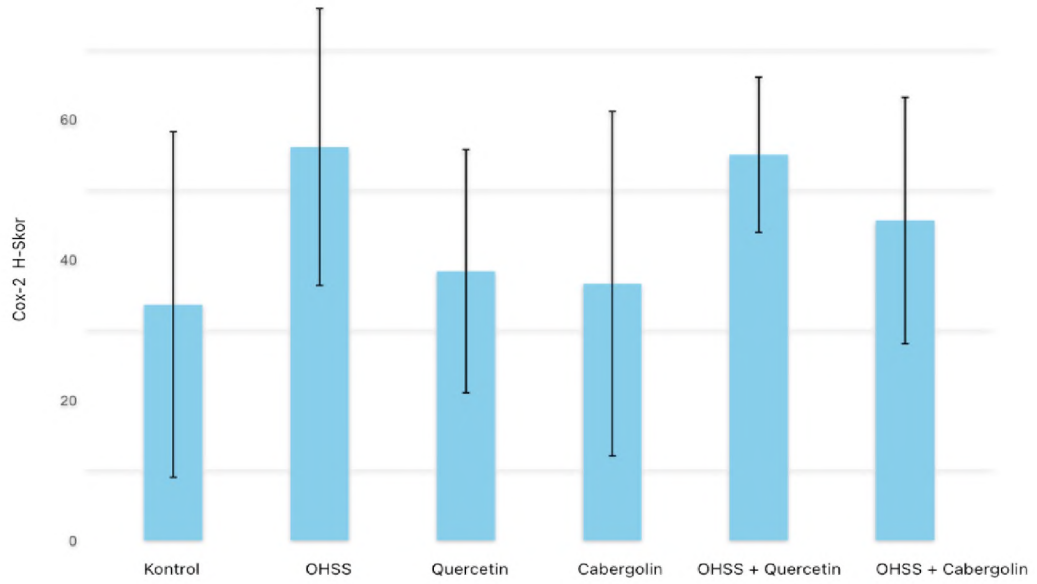
4.4.3.2. COX-2 Dağılımı

COX-2 immünoreaktivite dağılımları genel yapıya bakarak değerlendirilmiş ve sonuçları Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 11. Deney gruplarına ait COX-2 İmmünohistokimyasal H Skor Sonuçları (medyan ± IQR)

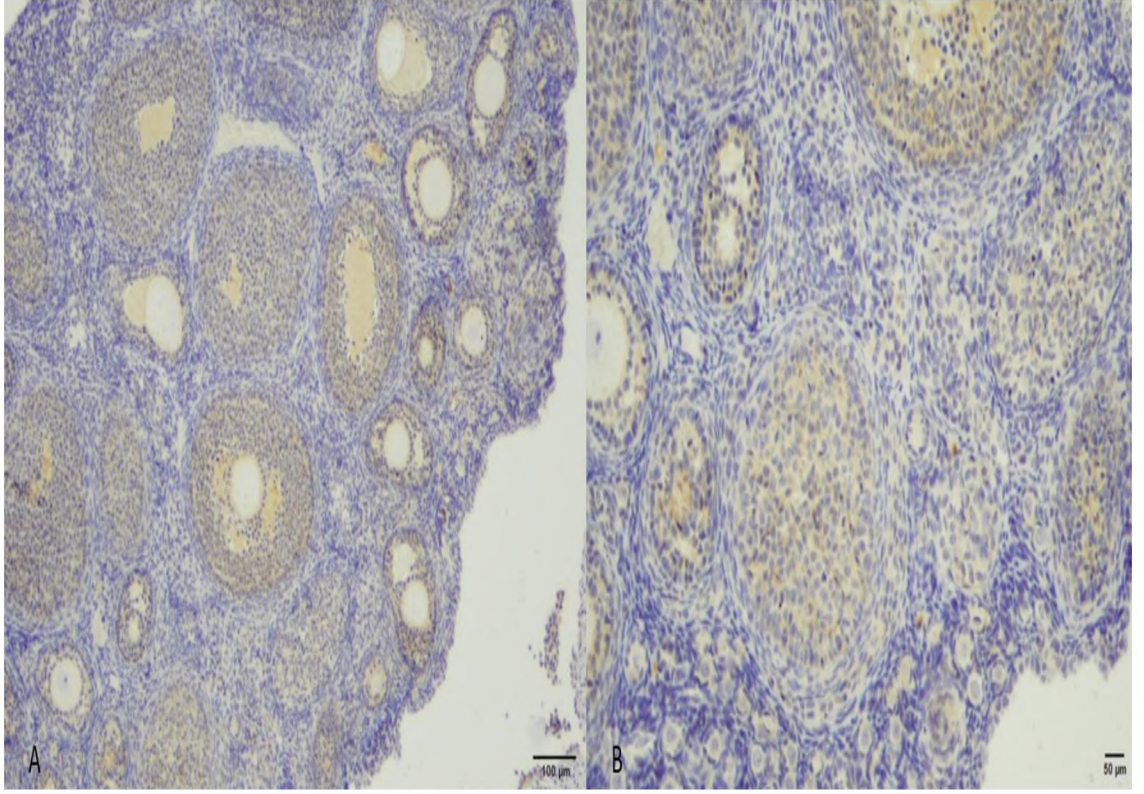
	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB
Cox-2 H-Skor	33,62 ± 24,61	56,04 ± 19,72	38,38 ± 17,31	36,60 ± 24,54	54,98 ± 11,07	45,59 ± 17,56

Ovaryumlara ait COX-2 boyanma özelliğine baktığımızda daha çok granuloza hücrelerinin sitoplazmik alanında boyanma olduğu görüldü. H skor analizlerine göre bakıldığında kontrol grubunda ($33,62 \pm 24,61$) en düşük, OHSS ($56,04 \pm 19,72$) ve OHSS+Quercetin ($54,98 \pm 11,07$) gruplarında en yüksek dağılım gözlenmiştir. Quercetin ($38,38 \pm 17,31$) ve Cabergolin grupları ($36,60 \pm 24,54$) kontrol grubuna göre hafif artmıştır, anlamlı farklılık yoktur. OHSS+Quercetin ($54,98 \pm 11,07$) ve OHSS+Cabergolin ($45,59 \pm 17,56$) grupları arasında da istatistiksel farklılık saptanmamıştır.



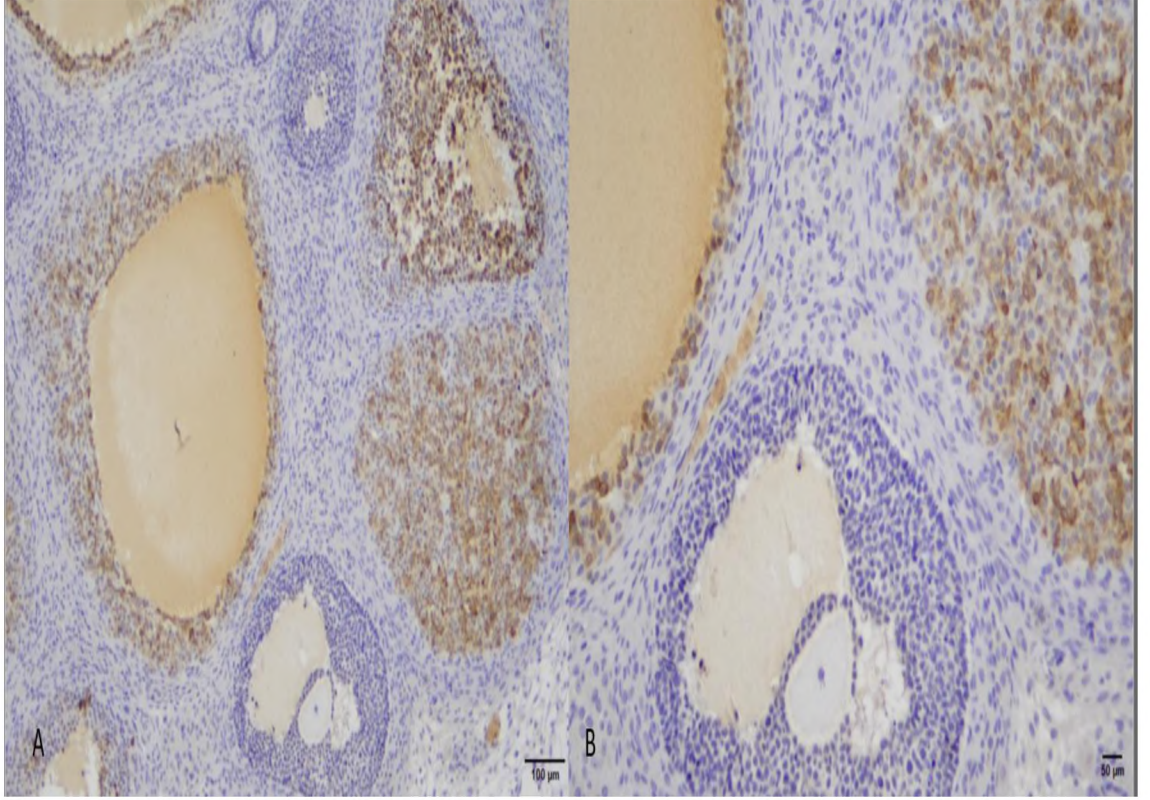
Şekil 10. Grupların COX-2 immünohistokimyasal H skor sonuçlarına göre karşılaştırılması.

Kontrol grubu, Quercetin ve Cabergolin gruplarında en düşük boyanma gözlenirken, en yüksek COX-2 boyanmasının OHSS ve OHSS+Quercetin grubunda olduğu görülmüştür. Gruplar arası anlamlı farklılık yoktur.



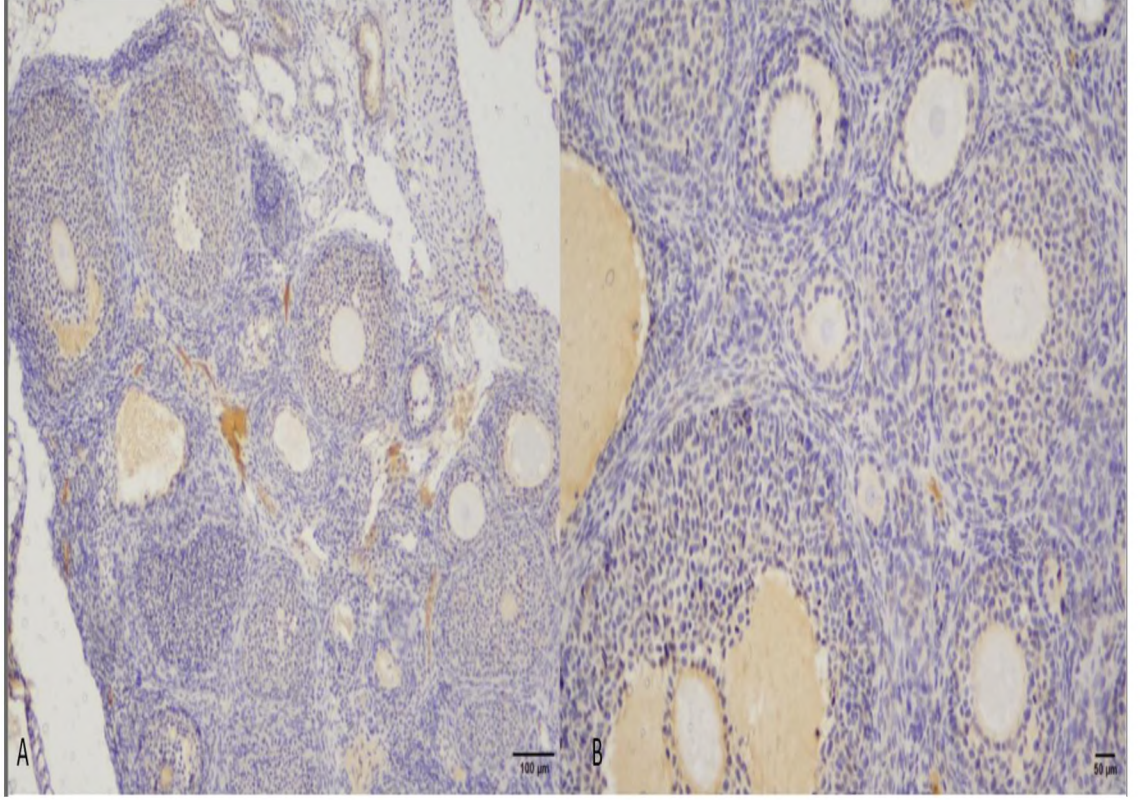
Resim 25. Kontrol grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

Kontrol grubunda COX-2 immünohistokimyasal analizinde hücresel boyanma özelliklerine göre; primordiyal foliküllerin zayıf pozitif olduğu, erken ve geç primer foliküllerin çoğunlukla negatif ya da zayıf pozitif boyandığı görüldü. Sekonder foliküllere ait boyamalar zayıf ve antral boşluklarda gözlenirken Graaf ve kistik foliküllerde folikül boşluğunda çoğunlukla negatif ya da zayıf boyanma gözlemlendi.



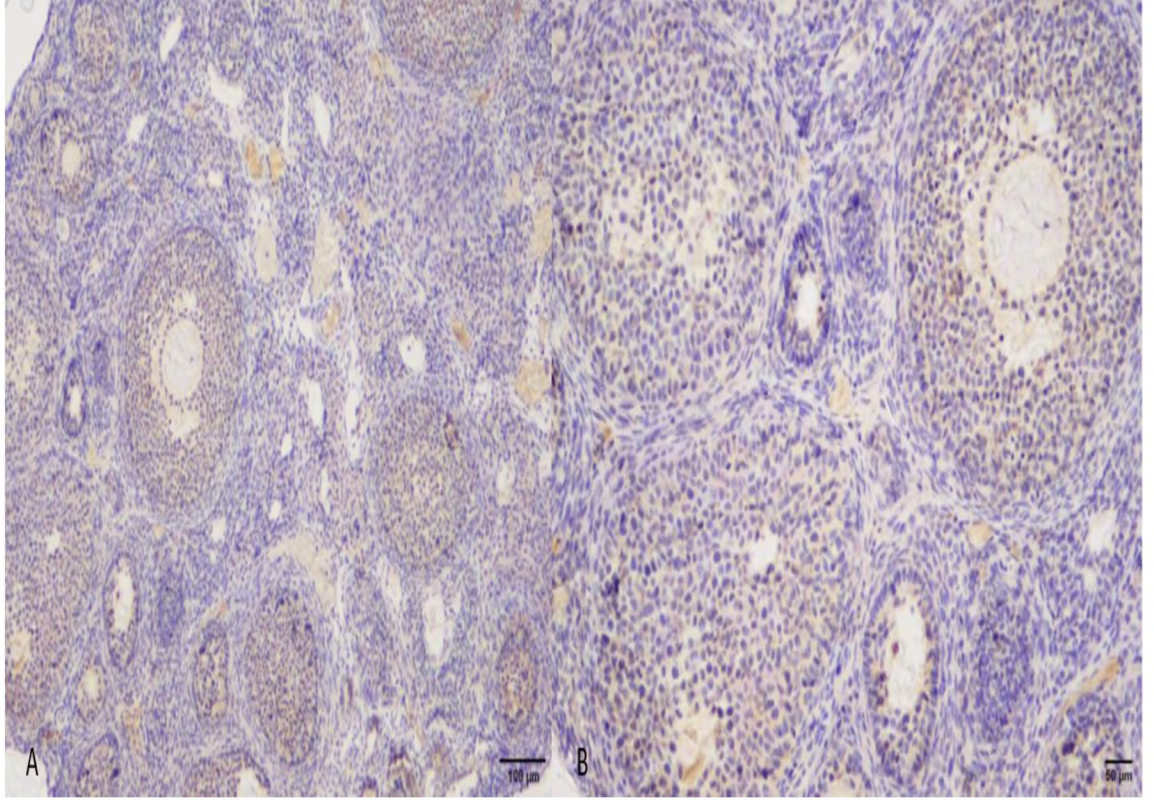
Resim 26. OHSS grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS grubunda primordiyal, erken ve geç primer foliküllerde, benzer şekilde antral foliküllerde COX-2 boyanması negatif iken kistik folikül ve korpus luteum boyanması orta-kuvvetli pozitif saptandı. Özellikle kistik folikül boşluğu çevresindeki granüler hücrelerde yoğun boyanma belirgin olarak gözlemlendi. OHSS grubunun genel görünümünde kistik yapılar çok sayıda olduğundan boyanmalar daha çok kistik yapılar iç tarafında, folikül sıvısında ve etrafında izlenmiştir.



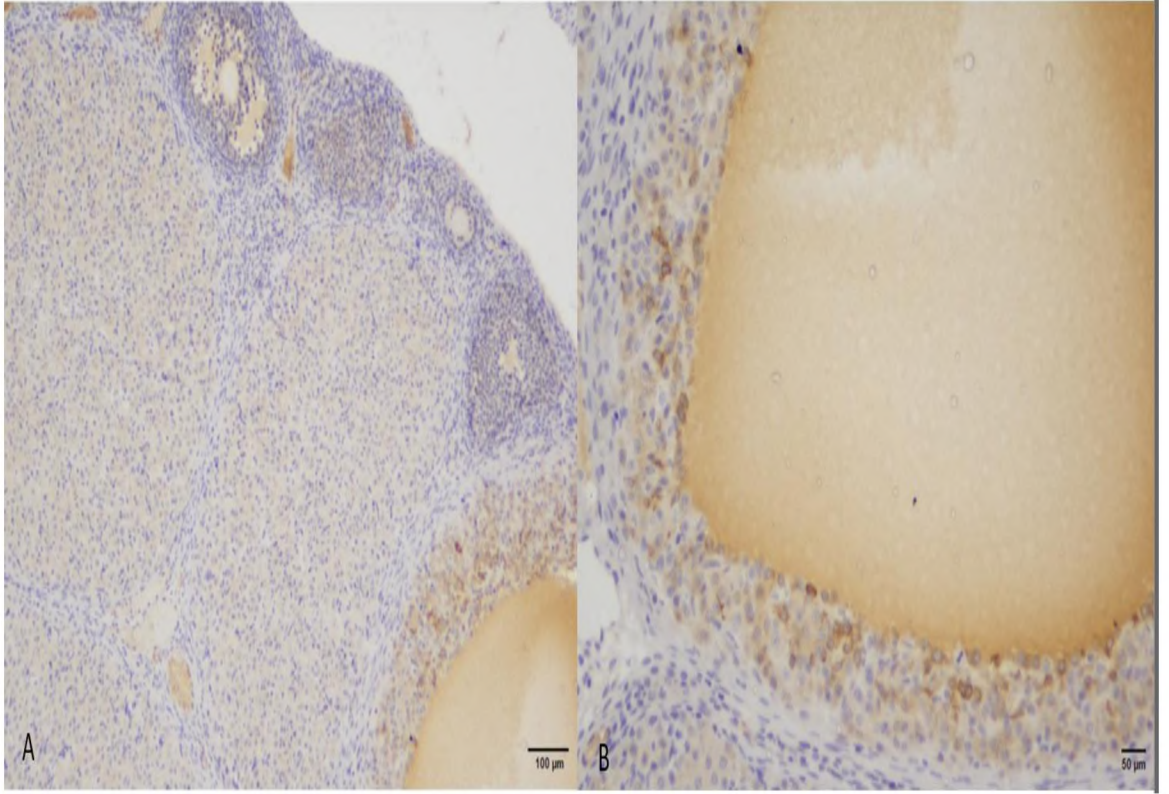
Resim 27. Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

Quercetin grubunda COX-2 için yapılan immünboyama kesitleri incelendiğinde; primordiyal ve gelişmekte olan tüm foliküllerin kontrol grubuna benzer şekilde çoğunlukla negatif boyanma, bazı foliküllerde hafif boyanma özelliği gösterdiği; sekonder ve tersiyer foliküllerde antral boşluk içindeki folikül sıvısında, atrezik foliküllerde ve vasküler alanlarda boyanmanın yine zayıf olduğu görüldü. Graaf folikülün antral boşluktaki folikül sıvısı içinde gözlenen boyanmanın aynı foliküllerdeki oosit sitoplazmasında da hafif şiddette olduğu gözlemlendi.



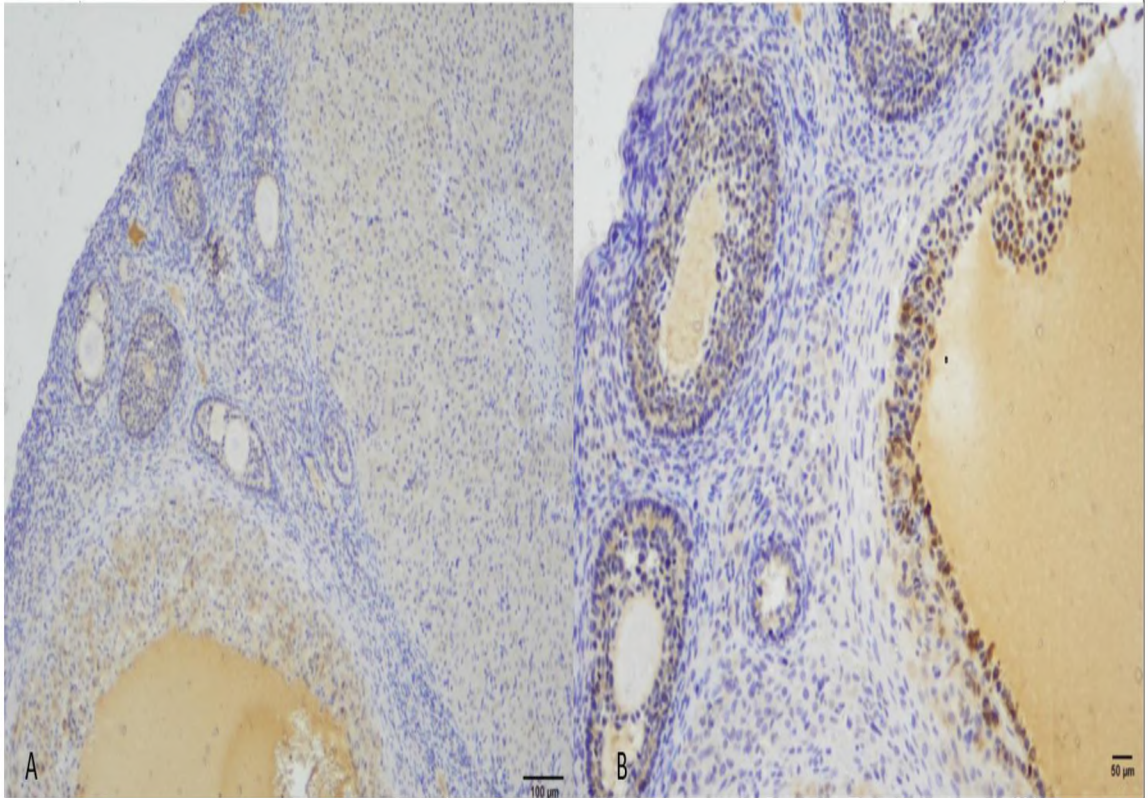
Resim 28. Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

Cabergolin grubu genel boyama yoğunlukları kontrol grubuna benzer şekilde folikül dışı alanlarda negatif boyamaların çoğunlukta olduğu, foliküller düzeyinde genellikle tüm parankim yapısı içinde zayıf düzeyde boyamaların görüldüğü alanlar ön plandaydı.



Resim 29. OHSS+Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS+Quercetin grubunda COX-2 antikoru boyanma dağılımına baktığımızda; geniş bir alanda düşük-orta düzeyde COX-2 pozitifliği izlendi. Primordiyal ve gelişmekte olan foliküllerde zayıf ya da negatif boyanma gözlemlendi. Pozitif boyanma özellikle kistik foliküller ve korpus luteum yapılarında yığılma halinde görüldü. Boyanma şiddeti çoğunlukla zayıf-orta düzeyde olup granüloza hücre tabakasında sınırlı bölgelerde belirgin DAB boyaması mevcuttu.



Resim 30. OHSS+Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında COX-2 immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS+Cabergolin grubunda geniş alanlarda hafif yoğunlukta boyanma göze çarpmakla birlikte özellikle antral foliküllerin folikül boşluğuna bakan kısımlarında daha yoğun olmak üzere granuloza hücre tabakalarında belirgin şekilde boyanma mevcuttur. Bazı büyük kistik foliküllerin iç yüzeylerinde folikül sıvısı komşuluğundaki alanlarda orta düzeyde boyanmalar da izlenmiştir. Boyanmalar lokalize saptanmamıştır.

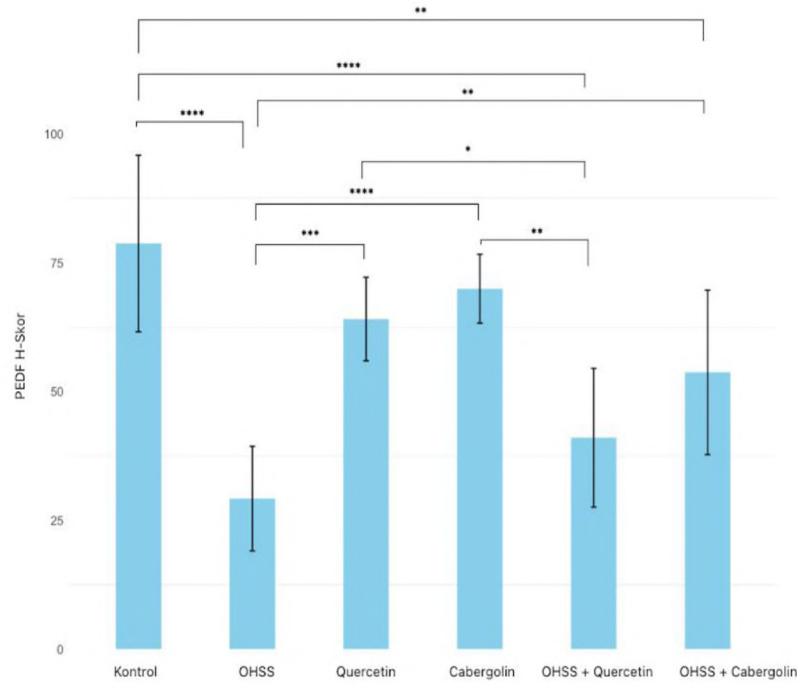
4.4.3.3. PEDF Dağılımları

PEDF güçlü bir anti-anjiyogenik ve anti-inflamatuvar faktör olup, over dokusunda vasküler homeostazın sürdürülmesinde önemli rol oynar. PEDF immünoreaktivite dağılımları genel yapıya bakarak değerlendirilmiş ve sonuçları Tablo 20’de verilmiştir.

Tablo12. Deney gruplarına ait PEDF İmmünohistokimyasal H Skor Sonuçları (medyan ± IQR)

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P değeri
PEDF H-Skor	78,74 ±17,13	29,24 ± 10,16	64,08 ± 8,11	69,99 ± 6,68	41,05 ± 13,47	53,72 ± 15,96	p < 0.00001

Kontrol grubu ($78,74 \pm 17,13$) PEDF ekspresyonunun en yüksek düzeyde olduğu gruptur. OHSS grubunda ($29,24 \pm 10,16$) PEDF düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır. Quercetin ($64,08 \pm 8,11$) ve Cabergolin ($69,99 \pm 6,68$) uygulamaları PEDF düzeylerini kontrol grubu düzeyine yakınlaştırmıştır. OHSS+ Quercetin ($41,05 \pm 13,47$) grubunda PEDF düzeyi kısmen artmıştır. OHSS+Cabergolin grubu ($53,72 \pm 15,96$) PEDF düzeyini daha fazla yükseltmiş olup, Quercetin'e kıyasla daha belirgin bir toparlanma göstermiş ancak kontrol grubunun altında kalmıştır.

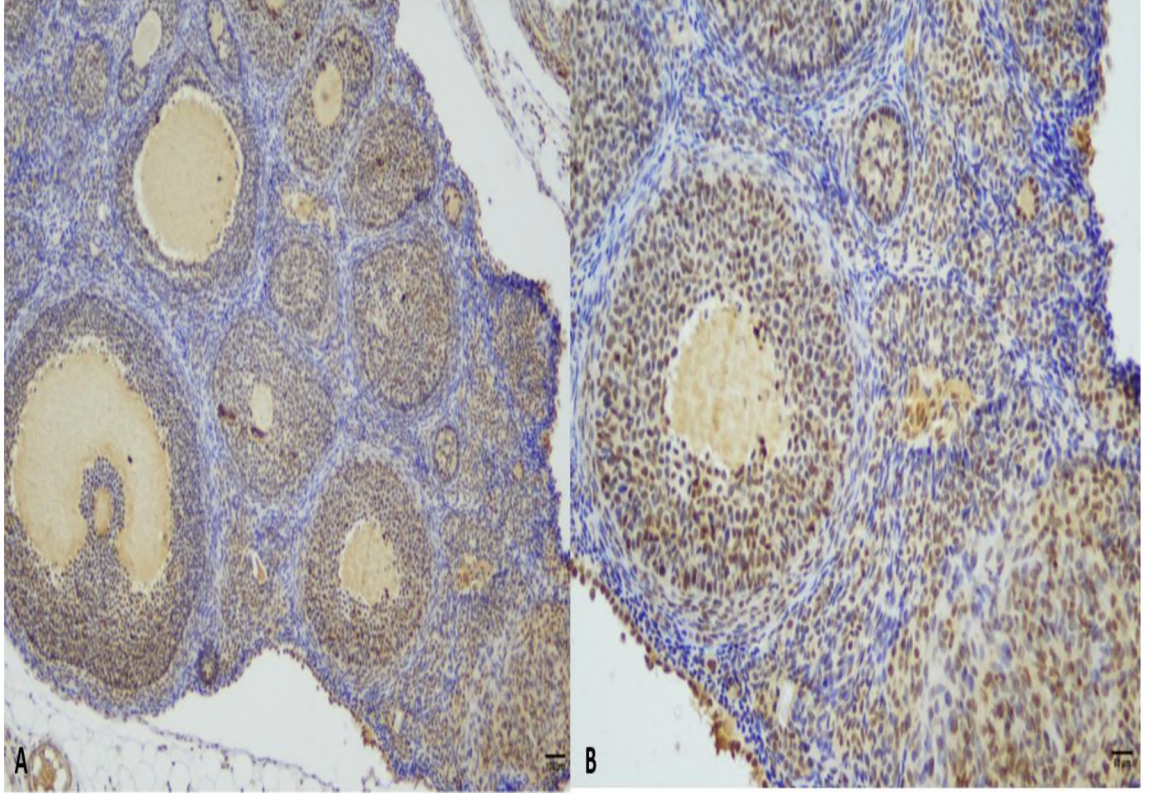


Şekil 11. Grupların PEDF immünohistokimyasal H skor sonuçlarına göre karşılaştırılması.

Kontrol grubu, Quercetin ve Cabergolin gruplarında en yüksek boyanma gözlenirken, en düşük PEDF boyanmasının OHSS ve OHSS+Quercetin grubunda olduğu görülmüştür. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p < 0,001$, **** $p \leq 0.0001$

PEDF H skoruna göre yapılan Tukey testi alt grup analizlerinde; Kontrol grubundaki yükseklik OHSS ve OHSS+Quercetin grubuna göre ($p < 0.001$) çok yüksek derecede anlamlıdır. Kontrol grubu ile OHSS+Cabergolin grubu arasında ($p < 0.01$) yüksek düzeyde istatistiksel anlamlılık mevcuttur. OHSS grubunda, OHSS+Quercetin grubu dışında tüm gruplarla ($p < 0.05$) anlamlı farklar saptanmıştır. Quercetin ile Cabergolin grupları arasında

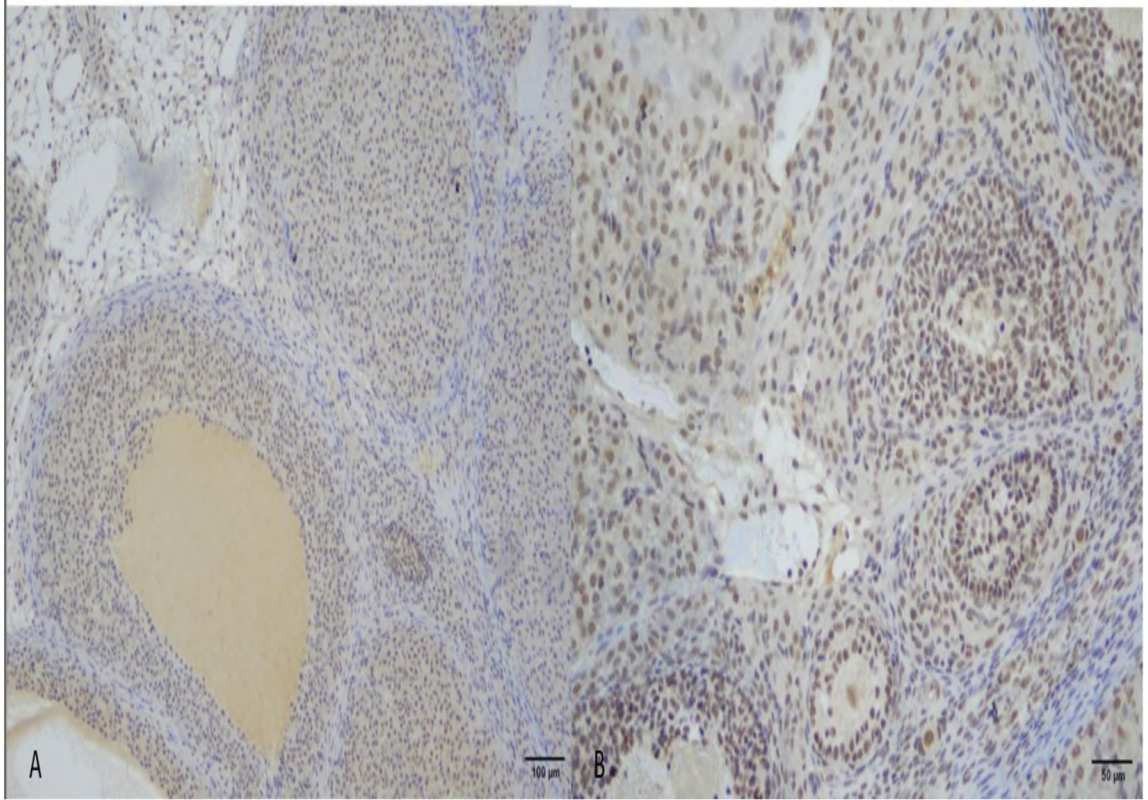
anlamlılık yoktur. Benzer şekilde OHSS+Quercetin ve OHSS+Cabergolin grupları arasında da anlamlı fark bulunamamıştır.



Resim 31. Kontrol grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

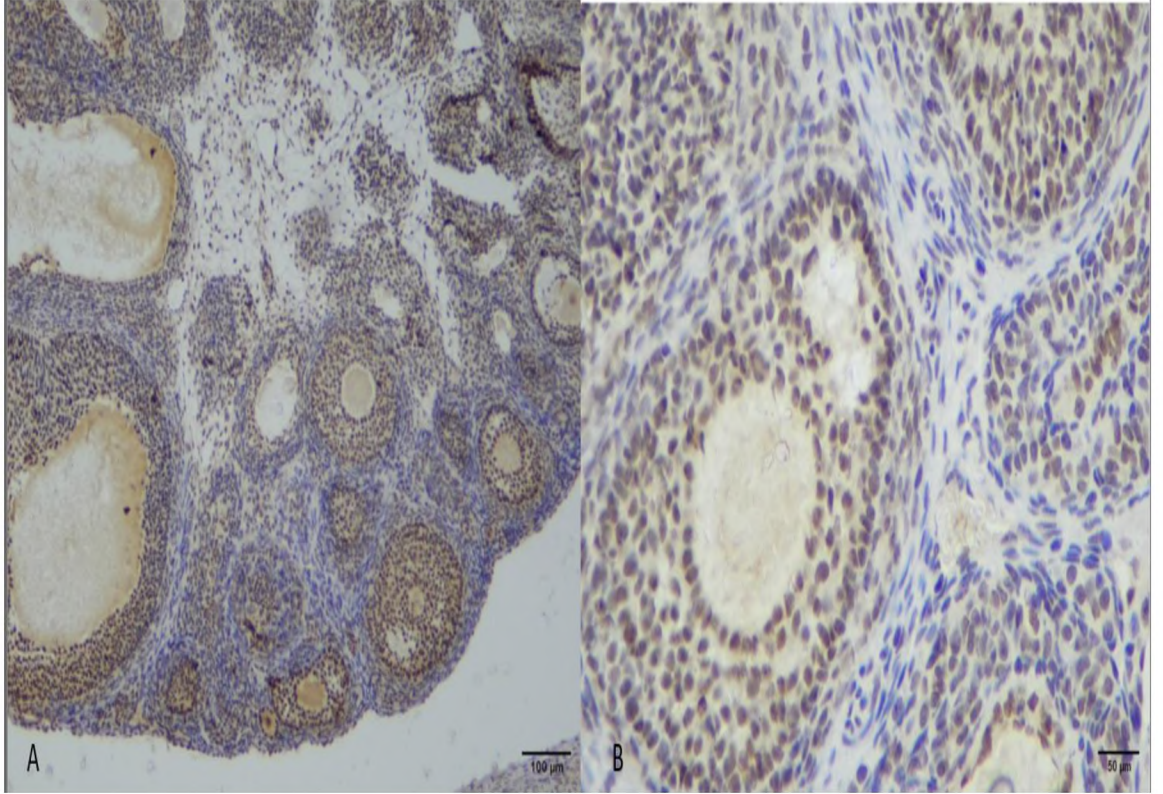
Kontrol grubuna ait PEDF dağılımlarına bakıldığında granuloza hücrelerinde yaygın dağılım gösterdiği görülmüştür. Primordiyal foliküllere ait granuloza hücrelerinde PEDF immünoaktivitesinin kontrol grubunda zayıf-orta pozitif, erken primer foliküllere ait granuloza hücrelerinde ise yer yer orta-kuvvetli pozitif boyanma özelliği gözlemlendi. Geç primer foliküllere ait boyanmalar orta pozitif değerlendirilirken benzer şekilde Sekonder foliküle ait granuloza hücrelerindeki PEDF immünoaktivitesinin kontrol gruplarında orta-kuvvetli pozitif olduğu belirlendi. Graaf foliküllerinde bazı alanlarda orta derecede pozitiflik saptanırken atretik ve kistik foliküllerde zayıf pozitif boyanma gözlemlendi.

Korpus Hemorajikum ve Korpus Luteum saptanmadığından PEDF boyanması değerlendirilmedi.



Resim 32. OHSS grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

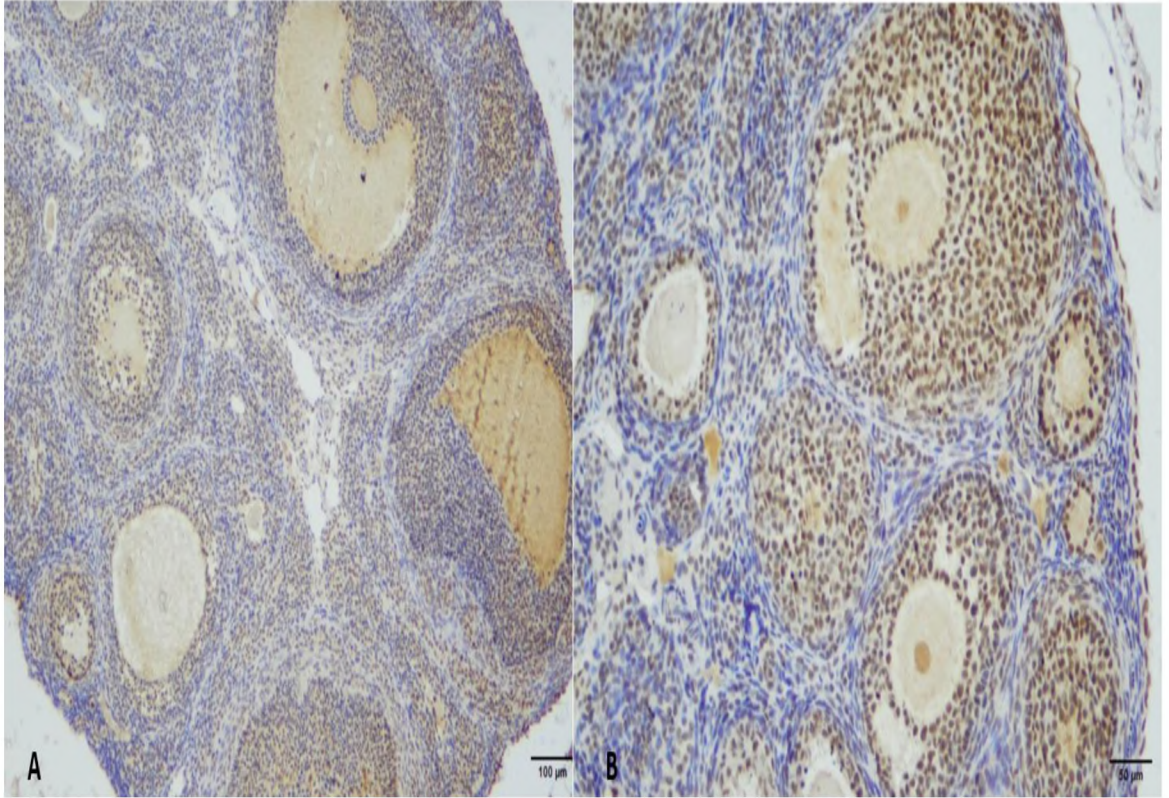
OHSS gruplarında genel yapıya bakıldığında zayıf-negatif boyanma tespit edilmiştir. Özellikle luteal hücrelerde zayıf pozitif, primordiyallerde negatif-zayıf boyamalar izlenmiştir. Çoğu hücrede çekirdeksel boyanma özellikle gelişmekte olan foliküllerde orta şiddette pozitif gözlenmiş, açık kahverengi/koyu bej tonlarında hücre çekirdeklerinin net görülmesini sağlamıştır. Erken primer folikül PEDF boyanmalarının OHSS grubunda negatif olduğu belirlendi. Geç primer foliküllere ait boyamalarda OHSS grubunda yer yer zayıf pozitif olmakla beraber genellikle negatif izlendi. Sekonder foliküllerde ve graaf folikül granuloza hücrelerinde bu boyanma orta yoğunlukta pozitif görülmüştür.



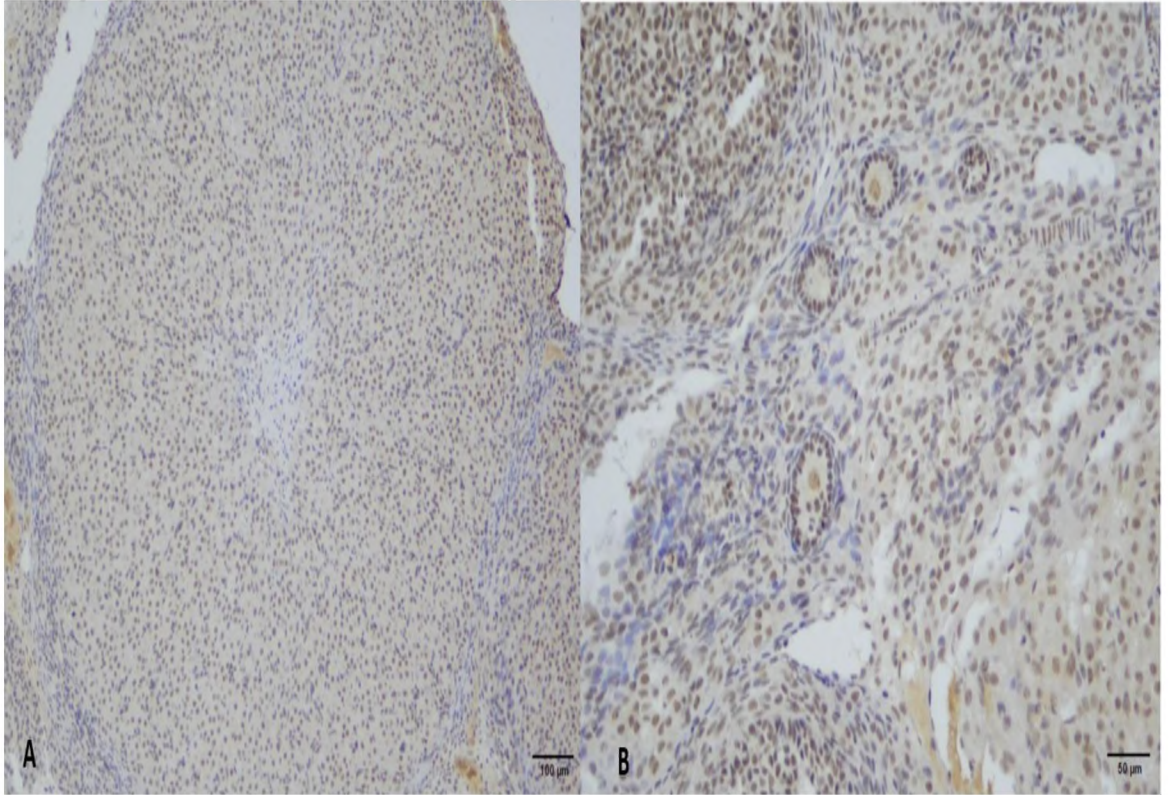
Resim 33. Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

Primordiyal foliküllere ait granüloza hücrelerinde PEDF immünoreaktivitesi Quercetin grubunda kuvvetli pozitif saptanmıştır. Erken primer foliküller düzeyinde bu pozitiflik orta düzeyde devam etmiştir. Benzer şekilde geç primer ve sekonder foliküllerde de orta kuvvette pozitiflik gözlenmiştir. Graff folikül ve kistik foliküllerin bazı alanlarında orta düzeyde bazı alanlarında kuvvetli düzeyde boyanma izlenmiştir.

Cabergolin grubu ile Quercetin grubunda izlenen foliküllere ait boyanma düzeyleri benzer olarak tespit edilmiştir.

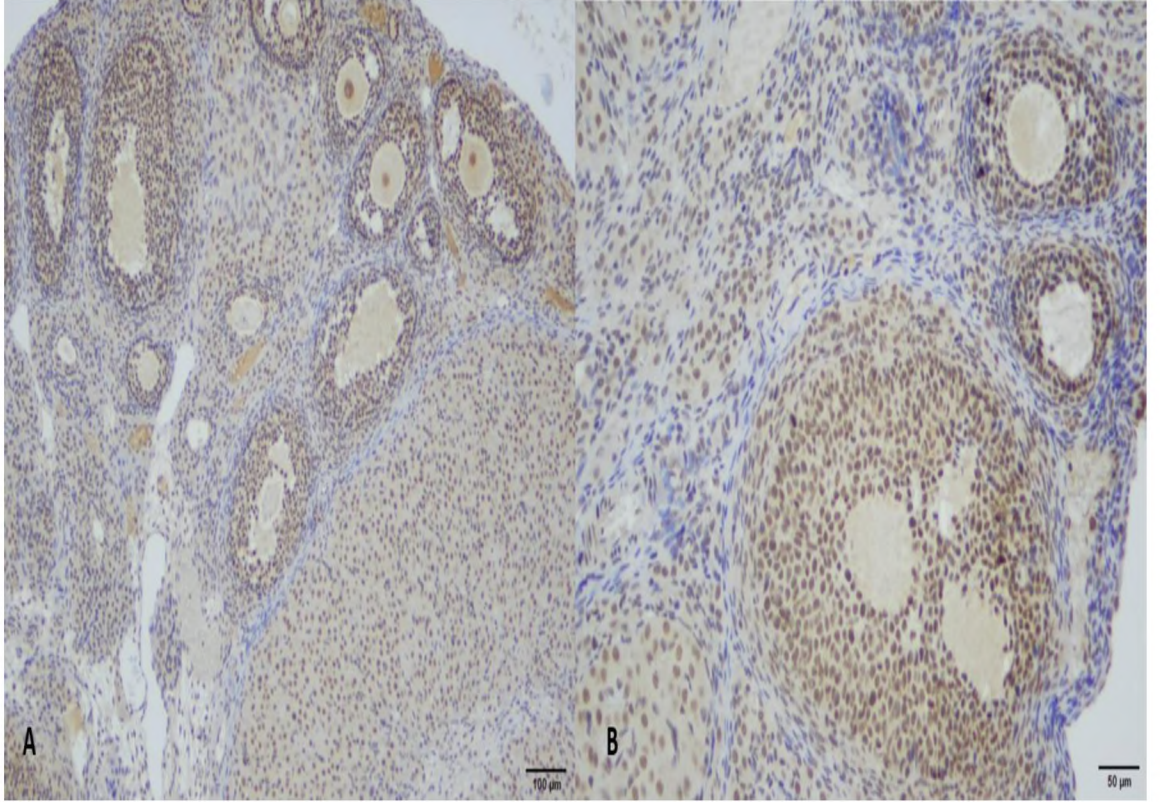


Resim 34. Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)



Resim 35. OHSS+Quercetin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS+Quercetin grubu boyanma niteliği genel olarak OHSS grubundan daha yüksek sinyalizasyonda kontrol grubuna göre ise belirgin düşük izlenmiştir. Primordiyal ve erken primer foliküller orta düzeyde pozitiflik gösterirken gelişmekte olan diğer foliküller, Graaf folikülü orta-düşük düzeyde pozitiflik özelliği sergilemiştir. Korpus luteum ve kistik yapılarda boyanma zayıf olarak gözlenmiştir.



Resim 36. OHSS+Cabergolin grubuna ait ovaryum dokularında PEDF immünohistokimyasal analiz görüntüleri (Ölçek A 100 µm; B 50 µm)

OHSS+Cabergolin grubu primordiyal folikül, erken primer, geç primer ve sekonder foliküllerde orta-kuvvetli düzeyde pozitiflik gösterirken graaf foliküllerde yer yer düşük -orta düzeyde pozitifliğe sahiptir. Genel yapıya bakıldığında OHSS+Quercetin grubuna göre daha belirgin boyanma izlenmiştir. Kistik foliküllerde ve korpus luteuma ait yapılarda bu boyanma özelliği zayıf-orta şiddette görülmüştür.

4.5. Vasküler Permeabilite Değerlendirmesi

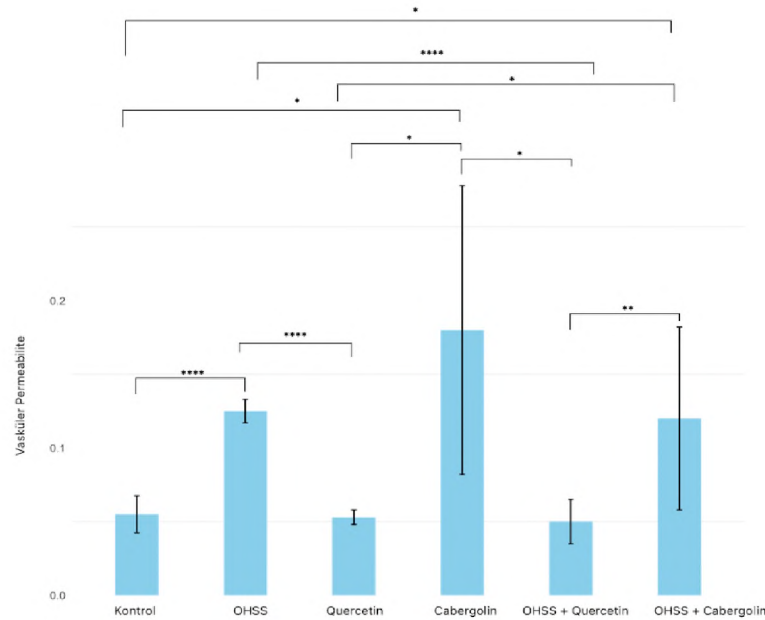
Normallik varsayımını sağlayan ancak varyans homojenliğini sağlamayan vasküler permeabilite değişkeni üzerinde Welch ANOVA testi uygulanmıştır. Test sonucunun anlamlı

çıkması üzerine, farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Games-Howell post hoc testi yapılmış ve sonuçlar aşağıdaki gibidir:

Tablo 13. Grupların vasküler permeabilite sonuçları (medyan $\pm$ IQR)

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P değeri
Vasküler Permeabilite (EB mM/100 GR)	0,05 $\pm$ 0	0,12 $\pm$ 0	0,05 $\pm$ 0	0,16 $\pm$ 0,06	0,05 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,03	p <0,0001

Gruplar arasında vasküler permeabilite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (p<0.0001). Kontrol grubu ve Quercetin grubu için vasküler geçirgenlik düzeyleri 0,05 $\pm$ 0,00 mM/100 GR olarak sabit kalmış, bu da fizyolojik seviyelerde bir damar geçirgenliği olduğunu göstermektedir. OHSS grubu, vasküler geçirgenlik düzeylerinde belirgin bir artış göstermiştir (0,12 $\pm$ 0,00 mM/100 GR). Bu artış, OHSS'ye bağlı olarak vasküler endotelial disfonksiyon ve sıvı geçişinin yükseldiğini göstermektedir. Cabergolin grubu, en yüksek geçirgenlik değerine (0,16 $\pm$ 0,06) sahiptir. OHSS + Quercetin grubu, vasküler geçirgenlik açısından kontrol grubuna oldukça yakın bir değerle (0,05 $\pm$ 0,01) vasküler koruyucu etkisini göstermiştir. OHSS + Cabergolin grubunda ise geçirgenlik 0,12 $\pm$ 0,03 mM/100 GR ile OHSS grubuna benzer düzeyde kalmıştır.



Şekil 15. Grupların vasküler permeabilite grafiğine göre karşılaştırılması

Kontrol grubu, Quercetin ve OHSS+Quercetin gruplarında en düşük geçirgenlik saptanırken, en yüksek vasküler geçirgenlik Cabergolin grubunda bulunmuştur. OHSS grubu yüksek geçirgenlik nedeniyle kontrol grubu ile farklıdır. OHSS grubu ile OHSS+Quercetin grubu azalmış geçirgenlik göstererek anlamlı farklılık oluşturur. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p \leq 0.0001$

Kontrol grubu ile OHSS grubu arasında vasküler permeabilite açısından çok yüksek düzeyde anlamlılık mevcuttur ($p < 0.0001$). Kontrol grubuna göre Cabergolin ($p = 0.036$) ve OHSS+Cabergolin ($p = 0.015$) gruplarındaki geçirgenlik artışı $p < 0.05$ düzeyinde anlamlıdır. OHSS grubundaki yüksek geçirgenlik sebebiyle Quercetin ve OHSS+Quercetin grupları arasında ($p < 0.0001$) çok yüksek düzeyde vasküler geçirgenlik açısından farklılık vardır. Quercetin ile Cabergolin ve OHSS+Cabergolin grupları arasındaki farklılık $p < 0.05$ düzeyinde anlamlıdır. Cabergolin grubunun OHSS+Quercetin grubuna göre daha yüksek geçirgenliği $p = 0.03$ düzeyinde anlamlıdır. OHSS+Quercetin grubundaki düşük geçirgenlik düzeyi OHSS+Cabergolin grubu ile arasındaki $p = 0.009$ düzeyinde yüksek anlamlılık oluşturmuştur.

4.6. Renal Fonksiyon Testlerine Göre Değerlendirme

Ciddi vakalarda şiddetli karın ağrısı ve olası plevral efüzyonla birlikte asit gelişimi, akciğer fonksiyonunun azalmasına ve hipoksiye yol açarken hastalarda hipovolemi, oligüri, kreatinin artışı, karaciğer transaminazlarında artış, lökositoz ve elektrolit anormallikleri görülebilir. Kritik vakalarda akut böbrek yetmezliği gelişebilir.

Tablo 14. Grupların renal fonksiyon testleri sonuçları (medyan $\pm$ IQR).

P değerleri, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir (Üre, Sodyum ve Potasyum için $p < 0.0001$; Kreatin için $p < 0.01$).

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P Değeri
Üre	63 $\pm$ 8	51 $\pm$ 5	42 $\pm$ 1,5	54 $\pm$ 2,5	44 $\pm$ 2,5	53 $\pm$ 5	$p < 0.00001$
Kreatin	0,24 $\pm$ 0,15	0,21 $\pm$ 0	0,22 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,03	0,19 $\pm$ 0,55	$p < 0.01$
Sodyum	137,1 $\pm$ 1,26	131,1 $\pm$ 1,99	136,3 $\pm$ 1,76	135,2 $\pm$ 1,03	135,9 $\pm$ 1,54	133,6 $\pm$ 3,82	$p < 0.0001$
Potasyum	5,55 $\pm$ 0,17	5,7 $\pm$ 0,1	4,87 $\pm$ 0,25	4,96 $\pm$ 0,35	5,92 $\pm$ 0,51	4,88 $\pm$ 0,22	$p < 0.0001$

Serum üre düzeyleri kontrol grubunda ortalama 63 $\pm$ 8 mg/dL iken, OHSS grubunda 51 $\pm$ 5 mg/dL'ye düşmüştür. Quercetin uygulaması hem tek başına (42 $\pm$ 1,5 mg/dL) hem de

OHSS ile birlikte uygulandığında ($44 \pm 2.5\text{mg/dL}$) üre düzeylerini azaltmıştır. Cabergolin grubu ($54 \pm 2,5$) tek başına uygulandığında üre seviyesini kontrol grubuna göre düşürmüştür, OHSS grubuna yakın düzeylerdedir. OHSS+Quercetin grubu ($44 \pm 2,5$) üre seviyesi OHSS grubuna göre düşmüş ve tek başına Quercetin grubuna benzer seviyelerde kalmıştır. OHSS+Cabergolin grubu (53 ± 5) üre düzeyi OHSS grubuna yakın kalmıştır.

Kreatin düzeyine bakıldığında; Kontrol grubu ($0,24 \pm 0,15$), OHSS grubu ($0,21 \pm 0$), Quercetin grubu ($0,22 \pm 0,02$), Cabergolin Grubu ($0,26 \pm 0,03$), OHSS+Quercetin grubu ($0,25 \pm 0,03$), OHSS+Cabergolin grubu ($0,19 \pm 0,55$) OHSS grubuna yakın, hatta hafifçe daha düşük bir ortalama göstermektedir. $p < 0.01$ ile kreatin seviyelerindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıdır.

Sodyum ölçüm sonuçlarında gruplar arası farklılıklar için $p < 0.0001$ bulunmuştur. Kontrol grubuna göre ($137,18 \pm 1,26$) OHSS grubunda ($131,14 \pm 1,99$) sodyum seviyesi belirgin şekilde düşüktür. Quercetin Grubu ($136,31 \pm 1,76$) sodyum seviyesini kontrol grubuna yaklaştırmıştır. Cabergolin ($135,21 \pm 1,03$) tek başına sodyum seviyesini kontrol grubuna yaklaştırmıştır. OHSS ile birlikte Quercetin uygulandığında, sodyum seviyesi ($135,9 \pm 1,54$) OHSS grubuna göre önemli ölçüde artmış ve kontrol seviyelerine oldukça yaklaşmıştır. Bu, Quercetin'in OHSS'nin neden olduğu hiponatremiyi düzeltebileceğini düşündürmektedir. OHSS+Cabergolin grubuna bakıldığında; sodyum seviyesi ($133,68 \pm 3,82$) OHSS grubuna göre artış göstermiş ancak Quercetin kadar kontrol seviyesine yaklaşmamıştır.

Potasyum için $p < 0.0001$ olup, potasyum seviyelerindeki farklılıklar istatistiksel olarak son derece anlamlıdır. Kontrol ($5,55 \pm 0,17$) grubuna göre OHSS grubunda ($5,7 \pm 0,1$) potasyum seviyesi hafif yüksektir. Quercetin tek başına uygulandığında potasyum seviyesini ($4,87 \pm 0,25$) kontrol grubuna göre belirgin şekilde düşürmüştür. Cabergolin uygulamasıda ($4,96 \pm 0,35$) potasyum seviyesini kontrol grubuna göre düşürmüştür. OHSS ile birlikte Quercetin uygulandığında potasyum seviyesi hem kontrol hem de OHSS grubuna göre daha da yükselmiştir ($5,92 \pm 0,51$). OHSS ile birlikte Cabergolin uygulandığında, potasyum seviyesi ($4,88 \pm 0,22$) OHSS grubuna göre belirgin şekilde düşmüş ve tek başına Cabergolin grubuna benzer seviyelerde kalmıştır.

Üre değerleri açısından kontrol grubu ile Quercetin ve OHSS+Quercetin grupları arasında ($p < 0.001$), Quercetin grubuyla Cabergolin ve OHSS+Cabergolin grubu arasında ($p < 0.05$), Cabergolin ile OHSS+Quercetin arasında ($p < 0.05$) ve OHSS+Quercetin ve OHSS+Cabergolin grupları arasında ($p < 0.05$) istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır. OHSS grubunda kontrol grubuna göre düşüş gözlenmiştir. Quercetin ve OHSS+Quercetin gruplarında üre düzeyi daha

da azalmıştır. Gruplar arasında kreatin değerleri açısından anlamlı farklılık yoktur, tüm gruplar benzer aralıkta seyretmiştir. Sadece OHSS grubu ($0,21 \pm 0$) ile Cabergolin Grubu ($0,26 \pm 0,03$) arasında istatistiksel fark mevcuttur ($p < 0,01$). Sodyum düzeyi OHSS grubu, OHSS+Quercetin grubu dışında tüm gruplarla karşılaştırmada anlamlı düşüş göstermektedir ($p < 0,01$). OHSS+Quercetin grubunda potasyum düzeyinin yükseldiği gözlemlenmiştir ($5,92 \text{ mmol/L}$). Kontrol grubu dışındaki diğer tüm gruplar bu parametrede değişkenlik göstermiştir.

4.7. Karaciğer Fonksiyon Testlerine Göre Değerlendirme

Tablo 15. Grupların karaciğer fonksiyon testleri (ALT-AST) sonuçları (medyan $\pm$ IQR)

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P Değeri
ALT	22 $\pm$ 3,5	18 $\pm$ 1	24 $\pm$ 2	30 $\pm$ 3,5	26 $\pm$ 1,93	25 $\pm$ 3	P < 0.0001
AST	116 $\pm$ 10	89 $\pm$ 7,5	104 $\pm$ 2	117 $\pm$ 7	78 $\pm$ 2	89 $\pm$ 12,5	P < 0.0001

Çalışmada farklı gruplar arasında serum ALT düzeylerinde anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Ortalama ALT düzeyleri şu şekilde bulunmuştur: OHSS grubunda ALT düzeyleri ($18,0 \pm 1,0 \text{ U/L}$) kontrol grubuna ($22,0 \pm 3,5 \text{ U/L}$) göre belirgin şekilde düşerken; Cabergolin ($30,0 \pm 3,5 \text{ U/L}$) ve Quercetin ($30,0 \pm 3,5 \text{ U/L}$) uygulanan gruplarda ALT düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. En yüksek ALT seviyesi Cabergolin grubunda, en düşük değer ise OHSS grubunda tespit edilmiştir. OHSS + Quercetin ($26,0 \pm 1,93 \text{ U/L}$) ve OHSS + Cabergolin ($25,0 \pm 3,0 \text{ U/L}$) kombine tedavi gruplarında, ALT seviyeleri kontrol ve tedavi gruplarına kıyasla ortalama bir değerde kalmıştır.

AST enzim düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,0001$). OHSS grubunda ($89 \pm 7,5 \text{ U/L}$) AST düzeylerinde kontrol grubuna ($116 \pm 10 \text{ U/L}$) göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Quercetin grubu $104 \pm 2 \text{ U/L}$ ortalama ile OHSS grubundan yüksek kontrol grubundan düşük bir aralıkta kalmıştır. Cabergolin grubundaki AST seviyeleri ($117 \pm 7 \text{ U/L}$) kontrol grubuna benzer şekilde yüksek bulunmuştur. Kombine tedavi gruplarında, özellikle OHSS + Quercetin grubunda AST düzeyleri ($78 \pm 2 \text{ U/L}$) en düşük seviyede olup Cabergolin ile kombine tedavide ise AST düzeyleri ($89 \pm 12,5 \text{ U/L}$) OHSS grubuna göre artmış ancak kontrol düzeylerinin altında kalmıştır.

4.8. Tnf Alfa ve Estradiol Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tablo 66. Grupların Tnf Alfa ve Estradiol sonuçları (medyan $\pm$ IQR)

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P DEĞERİ
TNF-alfa (Eliza)ng/L	175,5 $\pm$ 39,1	212,6 $\pm$ 21,15	175,6 $\pm$ 20,25	121,9 $\pm$ 19,49	159 $\pm$ 18,92	79,4 $\pm$ 8,06	p < 0.0001
Estradiol (Eliza)ng/L	151,6 $\pm$ 8,65	186,5 $\pm$ 10,9	138,7 $\pm$ 9,59	135,6 $\pm$ 23,25	150 $\pm$ 7,55	308,7 $\pm$ 43	p < 0.0001

OHSS grubunda TNF- α düzeyi (212,6 $\pm$ 21,15 ng/L), kontrol grubuna (175,5 $\pm$ 39,1 ng/L) göre belirgin şekilde artmıştır. Aralarındaki fark anlamlı değildir. Quercetin kullanımı ile TNF- α seviyeleri (175,6 $\pm$ 20,25 ng/L), kontrol düzeyine yakın bir değerde kalmıştır. Cabergolin uygulaması (121,9 $\pm$ 19,49 ng/L), OHSS grubuna göre TNF- α düzeylerini anlamlı şekilde azaltmıştır (p=0,0027). OHSS + Cabergolin (79,4 $\pm$ 8,06 ng/L), tüm gruplar arasında en düşük TNF- α seviyesine sahip olup, kontrol grubu (p=0,0045), OHSS grubu (p=0,0001) ve Quercetin grubu ile (p=0,0145)arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

OHSS grubunda estradiol düzeyi (186,5 $\pm$ 10,9 ng/L), kontrol grubuna (151,6 $\pm$ 8,65 ng/L) göre belirgin olarak yüksek olmakla birlikte istatistik fark yoktur. Quercetin (138,7 $\pm$ 9,59 ng/L) ve Cabergolin (135,6 $\pm$ 23,25 ng/L) uygulamalarında estradiol seviyeleri kontrol grubundan düşük bulunmuştur. OHSS + Quercetin (150 $\pm$ 7,55 ng/L) grubu estradiol seviyesi, kontrol grubuna oldukça yakındır. Ancak OHSS + Cabergolin (308,7 $\pm$ 43 ng/L) grubunda estradiol düzeyi anlamlı biçimde yükselmiştir. OHSS grubu ile Quercetin uygulanan grup arasında (p=0.0457) anlamlı fark vardır. Quercetin grubuna kıyasla OHSS + Cabergolin grubunda estradiol düzeyleri (p=0.0002) anlamlı şekilde daha yüksektir. OHSS+Quercetin grubu estradiol düzeyi (150 $\pm$ 7,55 ng/L) ile kontrol grubuna yakın düzeydedir. OHSS + Quercetin ile OHSS + Cabergolin grubu karşılaştırıldığında, estradiol düzeyleri OHSS+Cabergolin kullanılan grupta (p=0.0012) anlamlı olarak daha yüksektir. Cabergolinin tek başına uygulanması sonucu, OHSS + Cabergolin grubuna kıyasla (p=0.0063) daha düşük estradiol düzeylerine sahiptir.

4.9. TAS, TOS ve OSI Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tablo 17. Grupların TAS, TOS ve OSI sonuçları (medyan $\pm$ IQR)

	KONTROL	OHSS	QUR	CAB	OHSS+QUR	OHSS+CAB	P değeri
TAS Doku Enzimi (mmol/L)	0,35 $\pm$ 0,09	0,38 $\pm$ 0,06	0,38 $\pm$ 0,08	0,39 $\pm$ 0,07	0,38 $\pm$ 0,09	0,34 $\pm$ 0,06	p> 0.05
TOS Doku Enzimi (μ mol/L)	1,5 $\pm$ 0,56	1,49 $\pm$ 0,45	1,88 $\pm$ 0,53	1,78 $\pm$ 0,47	1,5 $\pm$ 0,3	1,68 $\pm$ 0,15	p> 0.05
OSI (μ mol/L)	0,48 $\pm$ 0,33	0,55 $\pm$ 0,08	0,52 $\pm$ 0,2	0,62 $\pm$ 0,1	0,59 $\pm$ 0,29	0,74 $\pm$ 0,16	p> 0.05

Tüm gruplarda TAS değerleri birbirine çok yakın olup anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. En yüksek TOS değeri Quercetin grubunda ($1,88 \pm 0,53 \mu\text{mol/L}$) ardından Cabergolin grubunda ($1,78 \pm 0,47 \mu\text{mol/L}$) gözlenmiştir. OHSS + Quercetin grubunda TOS değeri kontrol grubuna benzerken, OHSS + Cabergolin grubunda TOS bir miktar yüksektir ($1,68 \pm 0,15 \mu\text{mol/L}$). OSI en düşük değer kontrol grubunda ($0,48 \pm 0,33$), en yüksek değer ise OHSS + Cabergolin grubunda ($0,74 \pm 0,16$) saptanmıştır. TAS ve OSI düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. TOS düzeyi için p-değeri anlamlılık sınırına yakın olmakla birlikte klasik sınır olan $p<0.05$ ' in üzerinde kaldığı için anlamlı kabul edilmemiştir.

5. TARTIŞMA

OHSS'nin tam patogenezi kesin olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, FSH ile yapılan suprafizyolojik ovaryum stimülasyonu sonrasında hCG'ye bağlı olarak üretilen proinflamatuvar mediyatörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. OHSS gelişen kadınlarda ovaryumlarda belirgin büyüme ve vasküler permeabilitede artış izlenir. Bu artan geçirgenlik, intravasküler sıvının damar dışı üçüncü boşluklara kaymasına ve intravasküler sıvı kaybına neden olur. OHSS'nin klinik semptomları da bu patofizyolojik mekanizmaların bir yansımasıdır ve hastalığın şiddetine göre değişkenlik gösterebilir (Delvigne ve Rozenberg, 2002; Elchalal ve Schenker, 1997) Artmış vasküler geçirgenlik mediyatörleri olarak; OVRAS, Prostaglandinler, LH ve hCG, Histamin, Sitokinler, VEGF, PEDF başlıca araçlar olarak tespit edilmişlerdir (Nastri ve diğerleri, 2010; Blumenfeld, 2018). VEGF molekülü, OHSS'yi belirleyen artan damar geçirgenliği için kritik öneme sahiptir. Dopamin agonistleri, henüz tam olarak açıklığa kavuşturulmamış mekanizmalar aracılığıyla, anjiyogeneze müdahale etmeden VEGF kaynaklı damar geçirgenliğini seçici olarak inhibe edebilir. Bu etkinin altında, VEGFR-2 fosforilasyonunun azalması yatmaktadır (Gomez ve diğerleri, 2003; Aboulghar ve Mansour, 2003; Gomez ve diğerleri, 2006; Ferrero ve diğerleri, 2014;). Cabergoline ile ilgili antiinflamatuvar etkisi bakımından yapılan az sayıda çalışma da doza bağımlı olarak TNF- α , IL-6, IL-1 α , sICAM-1 düzeylerinin cabergolin tedavisiyle önemli ölçüde etkilendiği bildirilmiştir (Ianas ve diğerleri, 2010).

Quercetin, inflamatuvar yanıtı hafifletici etkilerini; prostaglandinler ve lökotrienler gibi inflamasyon araçlarının sentezinden sorumlu olan COX ve LOX enzimlerinin aktivitesini baskılayarak göstermektedir (Ramya ve diğerleri, 2014; Chen ve diğerleri, 2005; Yuan ve diğerleri, 2020; Settembre-Malaterre ve diğerleri, 2022). Bu enzimlerin inhibisyonu sayesinde quersetin, inflamatuvar mediyatör düzeylerini azaltarak inflamasyon sürecini sınırlar (Azeem ve diğerleri, 2023). COX-2 enzimi, araşidonik asidin prostaglandinler ve diğer eikosanoidlere dönüşümünde kritik bir role sahiptir, sitokinler ve büyüme faktörleri gibi çeşitli uyarıcılarla ekspresyonu artabilir. COX-2 aktivasyonunu takiben prostaglandin sentezinde meydana gelen artışın, VEGF ekspresyonunu arttırmasına ve buna bağlı olarak anjiyogenez sürecinin hızlanmasına neden olduğu ortaya konmuştur (Soares, 2012; Settembre-Malaterre ve diğerleri, 2022). Quersetin'in COX-2 enzime yüksek bağlanma afinitesi göstermesi, onun güçlü bir anti-inflamatuvar potansiyele sahip olabileceğini desteklemektedir. Ayrıca COX-2 inhibisyonu;

inflamasyonun yanı sıra ağrı, ödem ve ateş gibi ilişkili semptomların da azalmasına katkıda bulunabilir.

Bu doğrultuda planlanan çalışmada, deneysel OHSS modeli oluşturulmuş ratlarda bu patofizyolojik süreç üzerinde antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-anjiyogenik etkileri ile Quersetin ve OHSS üzerine etkisi antianjiyogenik olarak daha iyi bilinen cabergolin karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada, Cabergolin ve Quersetin'in ovaryumda, folikül morfolojisi ve histolojisi ile birlikte VEGF, COX-2, PEDF, vasküler permeabilite, TNF-alfa, estradiol düzeyleri ile TAS ve TOS üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Çalışmamızda, literatürde yaygın şekilde kullanılan OHSS hayvan deneyi modeli, PMSG ve hCG uygulanarak oluşturulmuştur ve bu yöntem en yaygın kabul gören protokoldür (Ferrero ve diğerleri, 2014; Ozgur ve diğerleri, 2018; Türkoğlu, 2021). Çalışmamızda OHSS deneysel hayvan modelinin başarıyla oluşturulup oluşturulmadığı; ovaryum morfolojisi, ovaryum hacmi, fallop tüplerinin genişliği gibi kalitatif kriterlerin yanında vasküler permeabilite testi gibi kantitatif ölçümlerle de model olan çalışmalara göre değerlendirilmiştir (Kitajima ve diğerleri, 2004).

Kontrol grubuna ait ratların fallop tüplerinin ince ve ovaryumlarının pürüzsüz bir yüzeye sahip, oldukça küçük olduğu; OHSS oluşturulmuş grupta fallop tüplerinin, kontrol grubuna göre daha geniş ve ovaryumların çok daha büyük, kistik yapıda olduğu gözlemlendi. Bu bulgular OHSS hayvan deneyi modelimizin başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir. OHSS protokolü ile birlikte Quercetin ve Cabergolin uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre fallop tüplerinin daha kalın ve ovaryumların daha büyük olduğu gözlenirken; hiperstimülasyon grubuna göre fallop tüplerinin daha ince ve ovaryumların yine kistik yapıda fakat daha küçük olduğu izlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, gruplar arasında ovaryum ağırlıkları açısından farklılıklar gözlemlenmiştir. Kontrol grubu, tüm gruplar içinde en düşük ortalama ovaryum ağırlığına sahipken, OHSS grubunda bu değer belirgin bir artışla en yüksek seviyeye çıkmıştır. Çalışmamızdaki bulgular, OHSS patofizyolojisinde aşırı vaskülarizasyon ve ödemin ovaryum hacmi ve ağırlığını arttırdığını ortaya koymaktadır. Benzer bulguları destekleyen (Kitajima ve diğerleri, 2004; Kasap ve diğerleri, 2016; Hortu ve diğerleri, 2021) deney hayvan modeli çalışmalarında da ovaryum ağırlığında anlamlı artışlar gözlemlenmiştir. Ovaryum ağırlığı açısından, OHSS+Quercetin grubu ve OHSS+Cabergolin grubunun OHSS grubuna göre istatistiksel farklılığı saptanmamıştır. Anlamlı fark oluşmamasına rağmen sayısal olarak hem Quercetin hemde cabergolin ile olan tedavi gruplarında ovaryum ağırlıklarında azalma

gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda resveratrol, montelukast, meloksikam, melatonin gibi farklı tedavi ajanlarının OHSS'ye bağlı ovaryum büyümesini sınırlama etkilerinin birbirine yakın olduğu ve OHSS gruplarıyla aralarında fark olmadığı belirtilmiştir (Song ve diğerleri, 2023; Kasap ve diğerleri, 2016; Septembre-Malaterre ve diğerleri, 2022; Ianas ve diğerleri, 2010; Yiğit, 2020). Quercetin'in ovaryum ağırlığına etkisini değerlendiren başka bir çalışmada, OHSS grubunda anlamlı bir azalma sağlandığı gözlemlenmiştir (Türkoğlu, 2021). Bu çalışma dışında, bulgularımızı karşılaştırabilecek Quercetin'in doğrudan ovaryum ağırlığı üzerine etkisini değerlendiren başka bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

Çalışmamızda ovaryum çaplarına ilişkin elde edilen veriler, gruplar arasında anlamlı farklılıklar göstermiştir. Quercetin grubu ovaryum çapı en düşük grup olarak bulunmuşken OHSS grubu çap bakımından en yüksek grup olmuştur. Elde ettiğimiz verilere göre; hem OHSS + Quercetin hemde OHSS + Cabergoline ile OHSS grupları arasında ovaryum çaplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Fakat Quercetin kullanılan gruplarda sayısal olarak, çapta küçülme mevcuttur. Quercetin'in OHSS önlenmesinde ovaryum çapı üzerine etkileri literatürde doğrudan incelenmemiştir fakat istatistiksel anlamlı fark bulamasak da çalışmamıza destek olabilecek nitelikte Jahan ve diğerleri (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, Letrozol ile indüklenen PCOS sıçan modelinde quercetin (30 mg/kg) uygulamasının ovaryum çapını ve kist sayısını önemli ölçüde azalttığı, ayrıca sağlıklı folikül yapılarının geri kazanılmasına katkı sağladığı bildirilmiştir. Bolouki ve diğerleri (2020) tarafından quercetin'in diyabetik farelerde folikülogenez üzerine yapılan çalışmasında ovaryum çapını azalttığı ve fonksiyonu üzerinde olumlu bir etki yarattığı ortaya konulmuştur. Çalışmada kullandığımız quercetin'in doza bağlı etkisi olduğunu göz önüne aldığımızda farklı dozajlarda kullanımı deney sonuçlarını değiştirebilir. Bu nedenle quercetin'in OHSS'de ovaryum çapı üzerine etkilerini değerlendirmek üzere ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kabergolin, dopamin reseptör agonisti olarak, literatürde özellikle OHSS açısından ovaryum çapını etkileyen önemli bir bileşik olarak incelenmiştir (Kasap ve diğerleri, 2016; Singh, 2024; Şahin ve diğerleri, 2016; Saylan, 2008). Şahin ve diğerleri (2016)'nin yaptığı OHSS deney modelinde, kabergolin uygulamasının, letrozolün etkilerine benzer şekilde ovaryum çapında önemli bir azalma sağladığı gözlenmiştir. Çalışmamızda cabergolinin OHSS'li ratlarda ovaryumu çapını istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalttığı görülmüş olup literatürdeki çalışmalara benzerlik göstermektedir. Ancak, OHSS riski yüksek kadınlarda yapılan randomize bir çalışmada, kabergolin'in plasebo ile karşılaştırılmasında ovaryum

boyutunda anlamlı bir azalma gözlemlenmemiştir. Bu durum, kabergolinin etkinliğinin bireysel farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır (Singh, 2024).

Çalışmamızda OHSS grubunda primordiyal, erken primer, geç primer, sekonder ve graaf folikül sayılarında belirgin azalma gözlenmiştir. Kistik folikül, atretik folikül ve korpus luteum sayılarında ise belirgin bir artış saptanmıştır. Bu bulgularla birlikte kistik foliküllerin zaman zaman oldukça büyük boyutlara ulaşarak dejenerasyona uğradığı ve rüptüre olarak ovaryum bütünlüğünün bozulduğu benzer OHSS hayvan deneyi çalışmalarında da gösterilmiştir (Türkoğlu, 2021; Delvigne ve Rozenberg, 2003; Yiğit, 2020; Birinci, 2020). Çalışmamızda ayrıca OHSS grubunda artan kistik folikül ile korpus luteum sayısı ve hacmi nedeniyle ovaryum medullasının daraldığı da dikkat çekmiştir. Kistik folikül sayılarının OHSS grubuna göre, OHSS+Quercetin grubunda daha belirgin olmak üzere OHSS+Cabergolin grubunda da azaldığı saptandı ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşılamadı. Çalışmamızda; OHSS grubu, antral folikül sayısı bakımından en düşük ortalama sahipken kistik foliküller ile atretik foliküllerin fazlalığı ve korpus luteum sayısının artmış olarak gözlenmesi, aşırı stimülasyona bağlı olarak foliküllerin kistik veya atretik yapı kazanması ve antral foliküllerin gelişiminin baskılanması ile açıklanabilir. Bulgularımıza benzer şekilde, Taşkın ve diğerleri (2015) bir OHSS sıçan modelinde Tosilizumab, Ranibizumab, Cabergoline ve GnRH-ant.'yi içeren araştırmasında, en yüksek korpus luteum sayısının OHSS kategorisinde tanımlandığını vurgulamışlardır. Bununla birlikte Scotti ve diğerleri (2011) GnRH agonisti kullanarak yaptıkları çalışmada OHSS'li ratlarda, korpus luteum sayısında kayda değer bir artış olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca Özgür ve diğerleri (2018) araştırmalarında kontrollü stimülasyon grubuna göre OHSS'li grup içinde korpus luteum sayısının anlamlı olarak, yaklaşık 40 kat arttığını, resveratrolu tedavi grubunda ise bu rakamın OHSS grubuna göre yarı yarıya düştüğünü belgelemişlerdir. Preantral, antral ve preovulatar folikül sayısındaki bir azalma ile eşzamanlı olarak bulunan bu sonuçlar hormonal uygulamanın erken foliküler gelişimi indüklemekten ovulasyonu indüklediğini düşündürür.

Doğal bir flavonoid olan Quercetin'in, çeşitli çalışmalarda ovaryan foliküllerinin gelişimini ve olgunlaşmasını olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. Etkileri özellikle folikülogenezin arttırılmasında, oosit kalitesinin iyileştirilmesinde ve üreme bozukluklarının hafifletilmesinde dikkat çekicidir. Bolouki ve diğerleri (2020) yaptıkları diyabetik fare modelinde Quercetin'in, ovaryum foliküllerinin büyümesini desteklemesini artan sekonder ve antral folikül hacimleriyle göstererek kanıtlamışlardır. Neisy ve diğerleri (2023) çalışmalarında; PKOS rat modellerinde quercetin uygulaması ile atretik foliküllerin azaldığını, ovaryum folikülleri ve korpus luteum sayısının önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir. Kontrollü

ovaryum hiperstimülasyon protokollerini içeren vakaların %20'sinde luteinize edici hormondaki (LH) erken dalgalanmalar belgelenmiştir. Luteal fazdan önceki bu anormal LH yükselmesi, erken luteinizasyonu ve ardından foliküler atreziyi hızlandırır. Ayrıca, LH'deki bu erken dalgalanmanın GnRH antagonistlerinin uygulanmasıyla hafifletilebileceğini gösteren kanıtlara rağmen, mevcut müdahalelerin yetersiz olduğu ifade edilmiştir (Kummer ve diğerleri, 2013). Quercetin uygulanan gruplarda atretik folikül sayısının artışı, bu bileşiğin optimal etkin dozda uygulanmamış olmasına bağlı olarak değerlendirilebilir. OHSS + Quercetin grubunda, korteks bölgesinde kontrol ve sham gruplarına benzer şekilde farklı gelişim evrelerinde (primordiyal, erken ve geç primer, antral) foliküllere rastlanmıştır. Bu grupta, korpus luteum sayısının OHSS grubuna kıyasla daha az olduğu ve bazı over kesitlerinde hemorajik alanlar içeren korpus hemorajikumlara bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca, OHSS grubunda belirgin şekilde izlenen kistik foliküllerin bu grupta daha az sayıda olduğu tespit edilmiştir. OHSS + Cabergolin grubu ile karşılaştırıldığında, her iki grupta gelişmekte olan folikül sayılarının benzer olduğu; ancak OHSS + Quercetin grubunda sekonder ve graaf foliküllerinin sayısının Cabergolin grubuna kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu bulgularla uyumlu şekilde, OHSS + Cabergolin grubunda kistik folikül sayısının daha fazla olduğu izlenmiştir. Ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmamıştır. Bu nedenle, Quercetin ve Cabergolin'in over folikül gelişimi üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilebilmesi için farklı dizaynlara sahip OHSS hayvan modeli çalışmalarına ihtiyaç vardır.

OHSS modellerinde VEGF immünohistokimyasal bulguları, hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasını önemli ölçüde desteklemektedir. VEGF, OHSS'nin ayırt edici özelliği olan ve vasküler geçirgenlik artışına sebep olan ve potansiyel komplikasyonlara yol açan önemli bir araçtır (Elchalal ve Schenker, 1997; Krasnow ve diğerleri, 1996; Binder ve diğerleri, 2007; Rizk ve diğerleri, 1997). VEGF ekspresyonu ovaryum stimülasyonu sırasında artar, hCG uygulamasından sonra zirveye ulaşır ve artmış vasküler geçirgenlik ile doğrudan ilişkilidir. İmmünohistokimyasal analiz, granülosa-lutein ve endotel hücrelerinde VEGF ve reseptörünü (VEGFR-2) ortaya çıkarır ve bu da OHSS ile ilişkili patofizyolojik değişiklikler ile doğrudan bağlantılıdır (Soares, 2012; Gomez ve diğerleri, 2006).

VEGF yolunu dopamin agonistleri aracılığıyla hedeflemek, VEGFR-2 fosforilasyonunu inhibe ederek OHSS insidansını azaltmada umut verici olmuştur. VEGF aşırı ekspresyonunu azaltmak için ovaryan stimülasyon protokollerinin ayarlanması, OHSS'nin ciddi belirtilerini önleyebilir (Carizza ve diğerleri, 2008; Tang ve diğerleri, 2012; Kalampokas ve diğerleri, 2013;

Amir ve diğerleri, 2015). VEGF, OHSS'de kritik bir rol oynarken, sendromun patofizyolojisinin karmaşıklığı, hormonal etkiler ve bireysel hasta tepkileri gibi diğer faktörlerin de sendromun gelişimine ve ciddiyetine önemli ölçüde katkıda bulunduğunu göstermektedir. İmmünohistokimyasal çalışmalar, VEGF'nin granüloza hücrelerinde, teka hücrelerinde ve stromal hücrelerde ifade edildiğini belirlemiştir (Özgür ve diğerleri, 2018; Türkoğlu, 2021; Yiğit, 2020; Birinci, 2020). Çalışmamızdaki VEGF immünohistokimyasal analizlerinden elde edilen bulgular, tüm deneysel grupların ovaryumlarında VEGF varlığını göstermiştir. Bununla birlikte, sonuçlarımız diğer çalışmalarla benzer şekilde Kontrol ve OHSS deney grupları arasında anlamlı fark olduğunu ortaya koymuştur (Türkoğlu, 2021; Şahin ve diğerleri, 2016; Saylan, 2008). Gelişmekte olan foliküllerin yanı sıra, korpus luteum, atretik foliküller ve kistik foliküllerde oldukça yüksek düzeyde VEGF immünoreaktivitesi de gözlenmiştir.

OHSS + Quercetin grubunda korpus luteum alanlarında periferde yoğun, merkezinde ise düşük seviyelerde boyanma gözlemlenmiştir. Santini ve diğerleri (2009) çalışmalarında, kuersetinin anjiyogenez ve foliküler gelişim için çok önemli olan VEGF çıkışını inhibe edebileceğini ve böylece ovaryum fizyolojisini potansiyel olarak değiştirebileceğini göstermektedirler. Çalışmamızda OHSS grubu ile OHSS+Quercetin ve OHSS+Cabergolin grupları arasında VEGF skorlaması açısından herhangi bir istatistiksel fark saptanmamıştır. Kasap ve diğerleri (2016)'nin çalışmalarındaki sonuçlarla benzer şekilde, quersetinin tek başına uygulandığındaki VEGF reaktivitesi OHSS durumunda daha belirgin hale gelmiştir. Elde edilen bulgular, Quercetin'in OHSS'de VEGF inhibisyonunda sınırlı etki göstermesinin, ya uygulanan dozun subterapötik düzeyde kalmasından ya da ilacın esas farmakodinamik etkisinin inflamasyonu baskılamaya odaklı olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Hortu ve diğerlerinin (2021) gerçekleştirdiği çalışmada, Cabergolin tedavisinin ovaryum dokusunda VEGF ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda, Cabergolin ile tedavi edilen OHSS grubunda, Quercetin grubuna göre VEGF immünreaktivitesinde daha düşük düzeyler gözlenmiş; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

COX-2 immünreaktivitesinin, OHSS tanılı hastalarda artış gösterdiği literatürde ifade edilmektedir. Cılgın (2019) tarafından yürütülen çalışmada ise, selekoksib gibi COX-2 inhibitörlerinin, Cabergolin ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş ve bu ajanların VEGF ile IL-2 düzeylerini düşürerek OHSS'ye bağlı inflamatuvar yanıtı ve semptomları azaltabileceği ileri sürülmüştür. COX-2, inflamatuvar süreçler ve tümör gelişiminde önemli bir rol oynayan temel enzimlerden biridir; Quercetin bu enzim üzerinde güçlü inhibitör etkiler sergileyerek hem

inflamasyonu hem de tümöral ilerlemeyi baskılayıcı potansiyel göstermektedir (Hertog ve Hollman,1996; Ramyaa ve diğerleri, 2014; Azeem ve diğerleri, 2023; Quintana ve diğerleri, 2008). Araştırmalar, kuersetinin çeşitli mekanizmalar yoluyla COX-2 ekspresyonunu azalttığını ve enflamasyon, malignite durumlarında potansiyel bir terapötik ajan haline getirdiğini göstermektedir (Lakhanpal ve Rai, 2007; Formica ve Regelson, 1995; Kelly, 2011; Chen ve diğerleri, 2005). Quercetin, NF- κ B ve CREB2 gibi transkripsiyon faktörlerinin COX-2 promotörüne bağlanmasını engelleyerek ve koaktivatör p300'ün histon asetiltransferaz aktivitesini bloke ederek COX-2 mRNA ve protein seviyelerini baskılar (Ramyaa ve diğerleri, 2014). Deneysel fare modellerinde, Quercetin'in COX-2 ekspresyonunu azaltması yoluyla HIF-1 α ve VEGF sinyalizasyonunun baskılandığı; bu mekanizma üzerinden anjiyogenezin belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir (J. Wang ve diğerleri, 2018; H. Wang ve diğerleri, 2017). Kasap ve diğerleri (2016) tarafından yapılan çalışmada, resveratrol tedavisi uygulanan grupta COX-2 immünreaktivitesine ait H-skorunun, OHSS grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı rapor edilmiştir. Turan ve diğerleri (2015) tarafından yapılan çalışmada, COX-2 immünreaktivitesinin hem OHSS grubunda hem de myo-inositol ve metformin tedavi gruplarında arttığı; tedavi gruplarının OHSS grubundan anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği, ancak kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı belirlenmiştir. Araştırmamızda, OHSS grubunda COX-2 immünreaktivitesine ait H-skor değerlerinin kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğu gözlemlenmiş olsada, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Elde edilen veriler, OHSS'nin inflamasyon ve hücrel stres yanıtlarını artırmak suretiyle COX-2 ekspresyonunu ve aktivitesini indükleyebileceğini düşündürmektedir. Özellikle OHSS grubunda COX-2 immünreaktivitesinin en yüksek düzeyde tespit edilmesi, inflamatuvar süreçlerin OHSS patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını göstermekte ve bu hastalığın tedavisinde antiinflamatuvar yaklaşımların gerekliliğine işaret etmektedir. Ancak bu bulguya rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olması, çeşitli faktörlerden kaynaklanıyor olabilir. Öncelikle, COX-2 aktivite düzeyleri bireyler arası biyolojik farklılıklar nedeniyle değişkenlik gösterebilir. Ayrıca, COX-2 immünreaktivitesindeki artışın lokalizasyonu da gruplar arasında farklılık arz etmektedir; OHSS grubunda artış, özellikle gelişmiş antrumu olan foliküller ve korpus luteum yapılarında belirgin pozitiflikle gözlenirken, kontrol ve sham gruplarında ise ovaryum korteksi ve stromasında yaygın ancak düşük yoğunluklu bir boyanma paterni izlenmiştir. Bu durum, fizyolojik süreçte düşük düzeyde de olsa inflamasyon belirteçlerinin gözlenmesinin olası olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda COX-2 immünboyama bulguları doğrultusunda, OHSS'nin inflamasyonla ilişkili patofizyolojik süreçlerinin daha ayrıntılı ve kapsamlı şekilde

araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılığa ulaşamaması, örneklem büyüklüğünün sınırlı olmasından kaynaklanabileceği gibi, COX-2 ekspresyonundaki bireysel varyasyonlara da bağlı olabilir. Bu nedenle, gelecekte yapılacak çalışmalarda daha geniş örneklem gruplarının kullanılması, COX-2'nin OHSS patofizyolojisindeki rolünü daha net ortaya koymak açısından önemli olacaktır.

PEDF, anjiyogenez ve inflamatuvar yanıtları modüle etme kapasitesi sayesinde OHSS'nin tedavisinde ve yönetiminde kritik bir rol oynamaktadır. Anti-anjiyojenik bir ajan olarak PEDF, OHSS'nin patogenezinde merkezi bir role sahip olan VEGF'nin etkilerine karşı dengeleyici bir etki gösterir. PEDF ve VEGF arasındaki denge, vasküler geçirgenlik ve inflamasyonun düzeyini belirlemede önemli bir parametredir. PEDF seviyelerindeki azalma, artmış inflamatuvar sitokin düzeyleri ve vasküler permeabilite ile ilişkilendirilmiş olup, bu durum OHSS'nin şiddetini artırabilir ve klinik yönetimini zorlaştırabilir (Chuderland ve diğerleri, 2013; Miller ve diğerleri, 2016; Şahin ve diğerleri, 2016; Birinci, 2020). Chuderland ve diğerleri (2013) ile Miller ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmalarda PEDF'nin, VEGF'yi kodlayan mRNA seviyesini azaltarak anjiyogenezi inhibe edip, vasküler geçirgenliği ve OHSS şiddetini azalttığını göstermişlerdir. Rekombinant formlar yoluyla PEDF seviyelerinin artırılması, vasküler permeabiliteyi ve asiti azaltarak OHSS semptomlarını hafifletebilir. Miller ve diğerlerinin (2016) yapmış olduğu çalışmada, fare modelinde, PEDF uygulamasının IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar belirteçleri azaltarak OHSS'ye karşı koruyucu rolü olduğu sonucuna varılmıştır. PEDF ile Quercetin arasındaki etkileşim, inflamatuvar ve anjiyojenik sinyal yollarını modüle etme potansiyeli ile OHSS patofizyolojisi üzerinde belirgin bir etki oluşturabilir. Nitekim, Turan ve diğerlerinin (2015) gerçekleştirdiği çalışmada da kontrol ve OHSS grupları arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir; bu da söz konusu biyolojik yolların OHSS'deki rolünü desteklemektedir. Önceki çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak, çalışmamızda elde edilen bulgular PEDF H-skoru değerlerinin kontrol grubuna kıyasla OHSS grubunda anlamlı düzeyde düşük olduğunu göstermektedir. Bu durum, OHSS patofizyolojisinde VEGF ve PEDF düzeylerinin birbirine zıt yönlerde değişim gösterdiği literatür bilgisiyle örtüşmektedir.

Cabergolin'in PEDF üzerindeki doğrudan etkisi, sağlanan makalelerde açıkça belirtilmese de dopamin reseptörlerini ve nörotrofik faktörleri modüle etmedeki rolü PEDF üzerinde potansiyel bir dolaylı etki gösterdiğini düşündürmektedir (Crawford ve diğerleri, 2013; Chuderland ve diğerleri, 2013; Miller ve diğerleri, 2016). Hem OHSS+Quercetin grubu hemde OHSS+Cabergolin grubunda OHSS'nin yol açtığı PEDF azalışı önemli ölçüde iyileşmiştir. Quercetin uygulanan grup ile aralarında anlamlı bir fark olmasa da Cabergolin uygulanan

grupta, OHSS grubuna göre daha yüksek bir PEDF H-Skoru gözlemlenmiştir. Bu etki Quercetin'in asıl ana etki mekanizmasının VEGF üzerinden olmadığını dolayısıyla anjiogenez üzerine dolaylı etkileri olduğunu doğrulayabilir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular doğrultusunda, OHSS'nin temel patofizyolojik mekanizmasında artan vasküler geçirgenliğin önemli bir rol oynadığı gözlenmiştir. Bu artışın özellikle luteinize granüloza hücrelerinden salınan VEGF düzeylerindeki yükselme ile ilişkili olduğu ve bunun da hCG uygulamasıyla daha da tetiklendiği bilinmektedir (Nastri ve diğerleri, 2010; Golan ve diğerleri, 1989; Elchalal ve Schenker, 1997; Krasnow ve diğerleri, 1996; Gómez ve diğerleri, 2003). VEGF'nin vasküler permeabilite üzerindeki etkisi literatürde iyi bilinmektedir. Çalışmada, kontrol grubu ile OHSS grubu arasında vasküler permeabilite açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. OHSS grubunda belirgin şekilde artış gösteren vasküler geçirgenlik düzeyleri, Quercetin ve OHSS+Quercetin uygulanan gruplarda belirgin biçimde azalmıştır. Bu bulgu, Quercetin'in vasküler permeabilite üzerindeki düzenleyici etkisini ortaya koymaktadır. Nitekim Santini ve arkadaşlarının (249) çalışmasındada, Quercetin'in VEGF üretimini baskılayarak anjiyogenez sürecini inhibe edebileceği gösterilmiştir. Bu durum, Quercetin'in, OHSS'nin patofizyolojisinde merkezi bir rol oynayan artmış vasküler geçirgenliği sınırlamada potansiyel bir terapötik ajan olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, çalışmamızda OHSS+Quercetin grubunda vasküler permeabilite düzeylerinin düşük olduğu belirlenmiş ve bu grup ile OHSS+Cabergolin grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir. Öte yandan, yalnızca Quercetin uygulanan deney grubunun vasküler permeabilite düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Sonuç olarak, vasküler permeabilite ile VEGF düzeyleri arasında ortaya çıkan bu farklılıklar, Quercetin'in vasküler geçirgenlik üzerindeki etkisinin yalnızca VEGF inhibisyonuna bağlı olmayabileceğini, farklı moleküler yollar aracılığıyla da bu etkiyi gösterebileceğini düşündürmektedir.

Kabergolin ve Quercetin çeşitli çalışmalarda araştırılmış ve TNF-alfa düzeyleri üzerindeki etkileri vurgulanmıştır. Cabergolin'in TNF- α düzeylerini azaltıcı etkisi, öncelikle dopamin D2 reseptör agonist özelliğine bağlıdır. Bu modülasyonun dopamin reseptörleri üzerinden etki ederek proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltıp OHSS şiddetini azaltabildiği gösterilmiştir (Kalampokas ve diğerleri, 2013). VEGF düzeylerindeki azalma, vasküler permeabilitenin normalleşmesine katkıda bulunur. Bu durum, endotel geçirgenliğine bağlı inflamatuvar hücre migrasyonunu sınırlandırarak TNF- α ekspresyonunu dolaylı olarak azaltabilir. Nitekim Soares ve arkadaşları (2011) ile Oka ve arkadaşlarının (2016)

çalışmalarında da gösterildiği üzere, Cabergolin'in hem dopaminerjik yollar hem de VEGF modülasyonu aracılığıyla anti-inflamatuar yanıtları destekleyebileceği öne sürülmektedir. Benzer şekilde, Quercetin'in TNF- α üretimini baskıladığı bilinmektedir. Bu özellik, inflamatuvar sürecin kontrol altına alınmasında rol oynayarak teorik olarak OHSS'li bireylerde tedaviye yönelik potansiyel faydalar sağlayabilir (Korneeva ve diğerleri, 2007). Ancak OHSS de TNF alfa'yı azaltıcı etkilerine dair çalışmalar sınırlıdır. Çalışmamızda OHSS grubu ile kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır. OHSS grubunda artış gösteren TNF- α düzeyinin, OHSS+Cabergolin grubunda en düşük seviyede saptanmasına rağmen, OHSS+Quercetin grubuyla OHSS+Cabergolin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması, Quercetin'in de Cabergolin'e benzer düzeyde inflamasyonu baskılayıcı etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, Quercetin'in antiinflamatuvar potansiyelini destekleyen önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Estradiol, ovaryan fonksiyonun, folikül gelişiminin ve hormonal dengenin önemli bir göstergesidir. OHSS olgularında serum estradiol düzeyleri genellikle oldukça yüksektir ve bu değer klinikte bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Tang ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda kontrol grubu ile OHSS grubu arasında beklenen düzeyde anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durum, OHSS'nin hafif, orta ve şiddetli formları arasında geniş bir klinik bulgu yelpazesine sahip olması ve dolayısıyla grubun homojen olmamasıyla açıklanabilir. Bulgular, OHSS patofizyolojisinde bireysel yanıt farklılıklarının dikkate alınması gerektiğini göstermektedir. Çalışmamızda, OHSS grubunda ve özellikle OHSS + Cabergolin kombinasyonunda serum estradiol düzeylerinde belirgin bir artış saptanmıştır. Bu durum, ovaryan foliküllerin hiperstimulasyonu ile estradiol üretiminin artmasına bağlı olarak literatürde de bildirilen bir bulgudur (Tang ve diğerleri, 2012; Kitajima ve diğerleri, 2004). Farklı bilimsel çalışmalar, Cabergolin'in OHSS insidansını azaltmadaki etkinliğine ilişkin çeşitli sonuçlar bildirmiştir. Bununla birlikte, genel görüş, Cabergolin uygulamasının serum estradiol düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı yönündedir. Singh (2024) tarafından yapılan bir çalışmada, tedavinin 0. gününden 8. gününe kadar uygulanan kabergolin ve plasebo grupları arasında serum estradiol düzeylerinde önemli bir fark bulunmamıştır. Benzer şekilde, Amir ve diğerleri (2015) Cabergolin uygulamasının estradiol düzeyleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını bildirmiştir. Bu bulgu, Cabergolin'in ART uygulanan hastalarda serum estradiol konsantrasyonlarını etkilemediğini göstermektedir. Carizza ve diğerleri (2008) tarafından yürütülen çalışmada, Cabergolin'in erken evre OHSS riskini anlamlı düzeyde azalttığı; ancak

ileri seviye OHSS üzerinde belirgin bir etkisinin bulunmadığı ve estradiol düzeylerinde değişikliğe yol açmadığı bildirilmiştir (28).

Buna karşılık Quercetin in tek başına ya da OHSS modeliyle birlikte kullanılması durumunda, estradiol düzeylerinin kontrol grubuna yakın değerlerde seyretmesi, bu flavonoidin hormonal homeostaz üzerindeki düzenleyici potansiyelini göstermektedir. Quercetin androstenedion ve testosteronun östrojenlere aromatzasyonundan sorumlu olan aromataz enzimine bağlanmak için steroidlerle rekabet eder. Bu rekabet enzimin aktivitesini değiştirerek östrojen sentezini azaltır (Kellis ve Vickery, 1984). Nitekim Quercetin'in aromataz inhibitörü gibi davranarak östrojen biyosentezini sınırlayabileceği ve over dokusunda sitokin düzeylerini modüle edebileceği önceki in vitro ve in vivo çalışmalarda da rapor edilmiştir (Singh, 2024). Ayrıca Quercetin' in antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerinin over mikrosirkulasyonu üzerinde olumlu etki yaratarak hormonal dengenin korunmasına katkı sağladığı düşünülmektedir. Kasap ve diğerlerinin (2016) OHSS sıçan modelinde yaptıkları çalışmada, Resveratrol grubunda E2 düzeylerinin hem OHSS hem de Cabergolin grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı rapor edilmiştir. OHSS modelinde Quercetin etkisini değerlendiren bir başka çalışma da yine benzer şekilde, Quercetin'in tedavi gruplarında, OHSS grubuna göre estradiol düzeyini düşürüp kontrol grubuna yaklaştırdığı bulunmuştur (Türkoğlu, 2021).

OHSS, ekstrasvasküler alana önemli miktarda sıvı geçişlerine neden olarak hipovolemi ve hemokonsantrasyona yol açabilir. Bu durum, böbrek fonksiyon bozukluğuna işaret eden kreatinin düzeylerinde yükselme ve oligüriye neden olabilir (Pereira ve diğerleri, 2017). Kasaven ve arkadaşlarının (2018) yaptığı çalışmada, "Ağır vakalarda, OHSS hipovolemi, hemokonsantrasyon ve artmış vasküler permeabilitenin kombinasyonu sonucu akut böbrek yetmezliğine neden olabilir" ifadesine yer verilmiştir. Bu durum, özellikle önceden böbrek hastalığı bulunan veya tek böbreğe sahip bireyler açısından önemli bir risk faktörü oluşturmaktadır. Stimülasyon protokollerinin optimize edilmesi ve yüksek riskli hastaların izlenmesi, şiddetli OHSS ve böbrek komplikasyonlarını önleyebilir (Kasaven ve diğerleri, 2018). Yang ve diğerlerinin (2018) yaptığı çalışmada Quercetin tedavisini, böbrek fonksiyonunun temel göstergeleri olan kan üre azotu ve serum kreatinin düzeylerinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. Etki mekanizmasına yönelik bir başka çalışmada Liu ve diğerleri (2019) tarafından, Quercetin'in, böbrek hasarı ve fibrozunda rol oynayan mTOR ve β -katenin gibi sinyal yollarını baskılayarak fibroblast aktivasyonunu ve böbrek fibrozunu inhibe ettiği, ayrıca böbrek tübüler hücrelerinde epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) azaltarak böbrek fonksiyon bozukluğuna karşı ek koruma sağladığı belirtilmiştir. Çalışmamızda renal

fonksiyonların değerlendirilmesine yönelik analiz edilen üre, kreatinin, sodyum ve potasyum düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu bulgu, OHSS'nin sınıflandırmasına bağlı olarak böbrek fonksiyon bozukluklarının genellikle yalnızca şiddetli ve kritik vakalarda ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilebilir. Dolayısıyla, çalışmaya dahil edilen bireylerde renal parametrelerin normal aralıkta seyretmesi, erken ve orta düzey OHSS olgularında renal etkilenimin sınırlı olabileceğini düşündürmektedir.

Şiddetli OHSS, ALT ve AST gibi karaciğer enzimlerinde belirgin artışlara yol açabilir, buda hepatosellüler hasarı gösterir (Wakim ve Fox, 1996). OHSS, karaciğer fonksiyonlarını önemli ölçüde etkileyerek karaciğer fonksiyon testlerinde yükselmeye ve potansiyel karaciğer hasarına yol açabilir. Pekçok vakada, OHSS ile ilişkili karaciğer fonksiyon anormallikleri geçicidir ve OHSS'nin ortadan kalkması ile değerler normal sınırlar içerisinde yerini alır. Ancak, ağır vakalarda uzun süreli hastane yatışı ve özel bakım gerekebilir (Obrzut ve diğerleri, 2005). Çalışmamızda ALT ve AST düzeyleri incelendiğinde; OHSS grubuna göre OHSS+Quercetin ve OHSS+Cabergolin grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu durum, OHSS'nin klinik şiddetine bağlı olarak karaciğer fonksiyon bozukluklarının genellikle yalnızca ileri ve kritik evrelerde belirgin hale gelmesiyle ilişkilendirilebilir. Dolayısıyla, deneysel modelde kullanılan hayvanlarda karaciğer enzim düzeylerinin fizyolojik sınırlar içerisinde kalması, erken ve orta düzey OHSS olgularında hepatik etkilenimin minimal düzeyde seyrettiğini düşündürür.

Çalışmamızda TAS-TOS-OSI değerleri incelenerek oksidatif stres indeksi baz alınıp karşılaştırmalar yapılmıştır. Kontrol grubunda normal fizyolojik aralıkta değerlerle antioksidan-oksidan dengesi korunmuş iken OHSS grubunda OSI de artmıştır. Si ve diğerlerinin (2023) yapmış olduğu çalışmada Cabergolin'in ROS seviyelerini düşürerek prematüre ovaryan yetmezliği'nin ilerlemesini geciktirebildiği ve böylece oosit kalitesini ve miktarını koruyabildiği açıklanmıştır (278). Quercetin, OHSS modeliyle kombine edildiğinde oksidatif stresi sınırlı da olsa baskılamış görünmektedir, OSI düşük tespit edilmiştir. Özellikle OHSS + Cabergolin grubunda OSI'nin en yüksek değerlerde seyretmesi, bu kombinasyonun oksidatif stres baskılamada yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Deney grupları arasında TAS, TOS, OSI değerleri açısından anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, deneysel OHSS modeli oluşturulan sıçanlarda Quercetin ve Cabergolin'in; ovaryum ağırlığı ve çapı, over morfolojisi, VEGF, PEDF ve COX-2 immünohistokimyasal boyanma oranları, vasküler permeabilite düzeyleri, böbrek ve karaciğer enzimleri ile elektrolit düzeyleri ve ovaryumun oksidatif stres indeksi üzerindeki etkilerini çok yönlü olarak değerlendiren ilk çalışmadır.

Quercetin'in, kistik ve atretik folikül sayısını azaltarak gelişmekte olan foliküllerin sayısını artırdığı ve böylece daha fazla sayıda sağlıklı korpus luteum oluşumunu indüklediği belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan Quercetin'in doz bağımlı bir etki profiline sahip olduğu göz önünde bulundurulduğunda, farklı dozajların uygulanmasının elde edilen deneysel bulgular üzerinde anlamlı değişikliklere yol açabileceği öngörülmektedir. Özellikle daha yüksek doz Quercetin kullanımı, Cabergolin ile kombinasyon tedavileri veya ovulasyon indüksiyonu öncesinde profilaktik uygulama gibi alternatif yaklaşımlar, inflamatuvar ve vasküler parametreler üzerinde daha belirgin terapötik etkiler ortaya çıkarabilir. Bu bağlamda, gelecekte gerçekleştirilecek çalışmalarda söz konusu uygulama protokollerinin sistematik olarak değerlendirilmesi, Quercetin'in OHSS tedavisindeki terapötik potansiyelinin daha kapsamlı bir şekilde ortaya konmasına katkı sağlayacaktır. Literatürde, quercetin'in OHSS modelinde kullanıldığı yalnızca tek bir çalışma bulunmaktadır; bu nedenle diğer tedavi modaliteleriyle doğrudan karşılaştırmalı veriler mevcut değildir. Bu boşluk, quercetin'in OHSS bağlamında ovaryum ağırlığı ve çapı, ovaryum morfolojisi/histopatolojisi ile TNF- α ve östradiol düzeyleri üzerindeki etkilerini sistematik biçimde ortaya koyacak, yeterli örneklem büyüklüğüne sahip, iyi tasarlanmış (örneğin, randomize ve doz-cevap ilişkisini irdeleyen) yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Quercetin uygulamalarının, OHSS'de artan vasküler permeabiliteyi baskıladığı gözlemlenmiştir. Öte yandan, Cabergolin'in OHSS ile birlikte uygulandığı gruplarda vasküler permeabiliteyi azaltıcı etkisi, Quercetin uygulanan gruba kıyasla daha düşük düzeyde kalmıştır. Bu bulgular doğrultusunda, Quercetin'in vasküler geçirgenlik üzerindeki düzenleyici etkisinin Cabergolin'e kıyasla daha güçlü olduğu ve OHSS tedavisinde bu açıdan daha etkili bir ajan olabileceği düşünülmektedir.

Bulgularımız, Quercetin ve Cabergolin uygulamalarının her ikisinin de deneysel OHSS modelinde VEGF ve COX-2 ekspresyon seviyelerini azalttığını ancak bu ekspresyonları tamamen baskılayamadığını göstermektedir. Bu durum, OHSS'ye bağlı fizyopatolojik mekanizmaların, uygulanan ajanların antiinflamatuvar ve anti-anjiyojenik etkilerine rağmen daha baskın olduğunu düşündürmektedir. Özellikle COX-2 üzerine yapılan çalışmalar çoğunlukla onkolojik modellerde yoğunlaşırken, OHSS gibi üreme sistemine özgü patolojilerde COX-2'nin rolüne dair literatür oldukça sınırlıdır. Bu nedenle, COX-2'nin OHSS patogenezindeki yerinin daha detaylı araştırılması, yeni terapötik hedeflerin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada, ovaryum granüloza hücrelerinde immünohistokimyasal yöntemlerle saptanan VEGF, COX-2 ve PEDF ekspresyonlarının, kantitatif RT-PCR (qRT-PCR) analizleriyle desteklenmesi; ayrıca doku homojenatları ve serum örneklerinde bu faktörlerin düzeylerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi, elde edilen bulguların moleküler düzeyde daha güçlü biçimde doğrulanmasına olanak sağlayabilir ve çalışmanın bilimsel geçerliliğini anlamlı ölçüde artırabilir. Gelecek çalışmalarda bu tedavilerin OHSS'nin patogenezindeki etkilerini daha detaylı bir şekilde incelemek, tedavi stratejilerinin etkinliğini artırmak adına önemli olacaktır.

Quercetin'in PEDF aracılığıyla OHSS üzerindeki etkilerini doğrudan inceleyen bir çalışma bulunmamakla birlikte, mevcut literatür, quercetin'in ovaryal fonksiyonları iyileştirme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Rekombinant PEDF destekli tedavi yaklaşımlarının, OHSS'ye ait klinik belirtileri hafifletmede ve PEDF düzeylerini fizyolojik sınırlara yaklaştırmada etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu doğrultuda, PEDF seviyelerinin izlenmesi hem tedavi stratejilerinin belirlenmesinde yol gösterici olabilir hem de şiddetli OHSS riski taşıyan hastalar için kişiselleştirilmiş müdahale seçeneklerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Ancak bu bulguların klinik uygulamalara aktarılabilmesi için daha fazla sayıda, iyi tasarlanmış randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

OHSS riski taşıyan kadınlar için, bu riski azaltmaya veya sendromun gelişimini önlemeye yönelik yeni terapötik yaklaşımların araştırılması devam etmektedir. Bu çalışma, dopamin agonistlerine alternatif bir ajan olarak Quercetin'in kullanılabilirliğini ortaya koymakta; ancak etkinliğinin doz ve uygulama zamanlamasına bağlı olarak değişebileceği göz önüne alındığında, bu parametreleri optimize etmeye yönelik farklı dizaynlarda ek çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abbara, A., Clarke, S. A., ve Dhillon, W. S. (2018). Novel Concepts for Inducing Final Oocyte Maturation in In Vitro Fertilization Treatment. *Endocrine reviews*, 39(5), 593–628.
- Abbara, A., Patel, A., Hunjan, T., Clarke, S. A., Chia, G., Eng, P. C., Phylactou, M., Kelsey, T. W.,...Dhillon, W. S. (2019). FSH Requirements for Follicle Growth During Controlled Ovarian Stimulation. *Frontiers in endocrinology*, 10, 579.
- Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., ve Büsselberg, D. (2018). Flavonoids in Cancer and Apoptosis. *Cancers*, 11(1), 28.
- Aboulghar, M. A. ve Mansour, R. T. (2003). Ovarian hyperstimulation syndrome: classifications and critical analysis of preventive measures. *Human reproduction update*, 9(3), 275–289.
- Al-Inany, H. G., Youssef, M. A., Aboulghar, M., Broekmans, F., Sterrenburg, M., Smit, J., ve Abou-Setta, A. M. (2011). GnRH antagonists are safer than agonists: an update of a Cochrane review. *Human reproduction update*, 17(4), 435.
- Alvarez, C., Martí-Bonmatí, L., Novella-Maestre, E., Sanz, R., Gómez, R., Fernández-Sánchez, M., Simón, C., ve Pellicer, A. (2007). Dopamine agonist cabergoline reduces hemoconcentration and ascites in hyperstimulated women undergoing assisted reproduction. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 92(8), 2931–2937.
- Ambildhuke, K., Pajai, S., Chimegave, A., Mundhada, R., ve Kabra, P. (2022). A Review of Tubal Factors Affecting Fertility and its Management. *Cureus*, 14(11), e30990.
- Amir, H., Yaniv, D., Hasson, J., Amit, A., Gordon, D., ve Azem, F. (2015). Cabergoline for reducing ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproductive technology treatment cycles. A prospective randomized controlled trial. *The Journal of reproductive medicine*, 60(1-2), 48–54.
- Ata, B. ve Tulandi, T. (2009). Pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome and strategies for its prevention and treatment. *Expert Rev Obstet Gynecol*. 4:299–311,
- Audebert, A., Pouly, J. L., Bonifacie, B., ve Yazbeck, C. (2014). Laparoscopic surgery for distal tubal occlusions: lessons learned from a historical series of 434 cases. *Fertility and sterility*, 102(4), 1203–1208.

- Azeem, M., Hanif, M., Mahmood, K., Ameer, N., Chughtai, F. R. S., ve Abid, U. (2023). An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: a review. *Polymer bulletin (Berlin, Germany)*, 80(1), 241–262.
- Balasch, J., Carmona, F., Llach, J., Arroyo, V., Jové, I., ve Vanrell, J. A. (1990). Acute prerenal failure and liver dysfunction in a patient with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Human reproduction (Oxford, England)*, 5(3), 348–351.
- Barlier, A., ve Jaquet, P. (2006). Quinagolide--a valuable treatment option for hyperprolactinaemia. *European journal of endocrinology*, 154(2), 187–195.
- Basu, S., Nagy, J. A., Pal, S., Vasile, E., Eckelhoefer, I. A., Bliss, V. S., Manseau, E. J., Dasgupta, P. S., Dvorak, H. F., ve Mukhopadhyay, D. (2001). The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nature medicine*, 7(5), 569–574. <https://doi.org/10.1038/87895>
- Baumgarten, M., Polanski, L., Campbell, B., ve Raine-Fenning, N. (2013). Do dopamine agonists prevent or reduce the severity of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing assisted reproduction? A systematic review and meta-analysis. *Human fertility (Cambridge, England)*, 16(3), 168–174.
- Beierwaltes W. H. (2010). The role of calcium in the regulation of renin secretion. *American journal of physiology. Renal physiology*, 298(1), F1–F11.
- Berkholtz, C. B., Shea, L. D., ve Woodruff, T. K. (2006). Extracellular matrix functions in follicle maturation. *Seminars in reproductive medicine*, 24(4), 262–269.
- Binder, H., Dittrich, R., Einhaus, F., Krieg, J., Müller, A., Strauss, R., Beckmann, M. W., ve Cupisti, S. (2007). Update on ovarian hyperstimulation syndrome: Part 1--Incidence and pathogenesis. *International journal of fertility and women's medicine*, 52(1), 11–26.
- Birinci H. (2020). Deneysel OHSS Modelinde Kisspeptin-54 Uygulamasının Granüloza Hücrelerindeki Vegf ve Pedf Seviyelerine Etkisi. Doktora Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.
- Bjersing, L., ve Cajander, S. (1975). Ovulation and the role of the ovarian surface epithelium. *Experientia*, 31(5), 605–608. <https://doi.org/10.1007/BF01932485>
- Blumenfeld, Z. (2018). The Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *Vitamins and hormones*, 107, 423–451.

- Bolouki, A., Zal, F., ve Bordbar, H. (2020). Ameliorative effects of quercetin on folliculogenesis in diabetic mice: a stereological study. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 36(10), 864–868.
- Boivin, J., Bunting, L., Collins, J. A., ve Nygren, K. G. (2007). International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human reproduction (Oxford, England)*, 22(6), 1506–1512.
- Bosch, E. ve Ezcurra, D. (2011). Individualised controlled ovarian stimulation (iCOS): maximising success rates for assisted reproductive technology patients. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, 9, 82. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-82>
- Briley, S. M., Jasti, S., McCracken, J. M., Hornick, J. E., Fegley, B., Pritchard, M. T., ve Duncan, F. E. (2016). Reproductive age-associated fibrosis in the stroma of the mammalian ovary. *Reproduction (Cambridge, England)*, 152(3), 245–260. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0129>
- Broekmans, F. J., Kwee, J., Hendriks, D. J., Mol, B. W., ve Lambalk, C. B. (2006). A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human reproduction update*, 12(6), 685–718
- Burchardt, M., Burchardt, T., Chen, M. W., Shabsigh, A., de la Taille, A., Buttyan, R., ve Shabsigh, R. (1999). Expression of messenger ribonucleic acid splice variants for vascular endothelial growth factor in the penis of adult rats and humans. *Biology of reproduction*, 60(2), 398–404.
- Busso, C., Fernández-Sánchez, M., García-Velasco, J. A., Landeras, J., Ballesteros, A., Muñoz, E., González, S., Simón, C., Arce, J. C., ve Pellicer, A. (2010). The non-ergot derived dopamine agonist quinagolide in prevention of early ovarian hyperstimulation syndrome in IVF patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Human reproduction (Oxford, England)*, 25(4), 995–1004. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq005>
- Cao, Y., Zhuang, M. F., Yang, Y., Xie, S. W., Cui, J. G., Cao, L., Zhang, T. T., ve Zhu, Y. (2014). Preliminary study of quercetin affecting the hypothalamic-pituitary-gonadal axis on rat endometriosis model. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2014, 781684. <https://doi.org/10.1155/2014/781684>

- Carlson, B.M. (2008). *Human Embryology and Developmental Biology*. Fourth Edition. Elsevier Health Sciences
- Carr, B. R., MacDonald, P. C., ve Simpson, E. R. (1982). The role of lipoproteins in the regulation of progesterone secretion by the human corpus luteum. *Fertility and sterility*, 38(3), 303–311. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)46511-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)46511-8)
- Carizza, C., Abdelmassih, V., Abdelmassih, S., Ravizzini, P., Salgueiro, L., Salgueiro, P. T., Jine, L. T., Nagy, P., ve Abdelmassih, R. (2008). Cabergoline reduces the early onset of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized study. *Reproductive biomedicine online*, 17(6), 751–755.
- Cenksoy, C., Cenksoy, P. O., Erdem, O., Sancak, B., ve Gursoy, R. (2014). A potential novel strategy, inhibition of vasopressin-induced VEGF secretion by relcovaptan, for decreasing the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome in the hyperstimulated rat model. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 174, 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.12.001>
- Chavarro, J. E., Rich-Edwards, J. W., Rosner, B. A., ve Willett, W. C. (2009). A prospective study of dietary carbohydrate quantity and quality in relation to risk of ovulatory infertility. *European journal of clinical nutrition*, 63(1), 78–86.
- Chavarro, J. E., Rich-Edwards, J. W., Rosner, B. A., ve Willett, W. C. (2007). Diet and lifestyle in the prevention of ovulatory disorder infertility. *Obstetrics and gynecology*, 110(5), 1050–1058.
- Chen, X., Yin, O. Q., Zuo, Z., ve Chow, M. S. (2005). Pharmacokinetics and modeling of quercetin and metabolites. *Pharmaceutical research*, 22(6), 892–901. <https://doi.org/10.1007/s11095-005-4584-1>
- Chistyakova, G. N., Remizova, I. I., Gazieva, I. A., ve Chermyaninova, O. V. (2014). Immunological and hemostasiological disorders in women with ovarian hyperstimulation syndrome. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 30 Suppl 1, 39–42.
- Choe, J ve Shanks, A.L. In Vitro Fertilization. [Updated 2023 Sep 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562266/>

- Chuderland, D., Ben-Ami, I., Kaplan-Kraicer, R., Grossman, H., Ron-El, R., ve Shalgi, R. (2013). The role of pigment epithelium-derived factor in the pathophysiology and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome in mice. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 98(2), E258–E266.
- Clement, P.B. (2002). *Anatomy and histology of the ovary*. Kurman R. J (editor). Blaustein' s Pathology of the Female Genital Tract, (5nd ed.). Springer New York
- Colao, A., ve Savastano, S. (2011). Medical treatment of prolactinomas. *Nature reviews. Endocrinology*, 7(5), 267–278. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.37>
- Costello, M. F., Misso, M. L., Balen, A., Boyle, J., Devoto, L., Garad, R. M., Hart, R., Johnson, L., Jordan, C., Legro, R. S., Norman, R. J., Teede, H. J.,.....International PCOS Network (2019). Evidence summaries and recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome: assessment and treatment of infertility. *Human reproduction open*, 2019(1), hoy021. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoy021>
- Crawford, S. E., Fitchew, P., Veliceasa, D., ve Volpert, O. V. (2013). The many facets of PEDF in drug discovery and disease: a diamond in the rough or split personality disorder?. *Expert opinion on drug discovery*, 8(7), 769–792.
- Çelik, Ö. (2011). *Yardımcı üreme teknikleri*. Adana: Nobel Kitabevi.
- Çetin, C., Göktolga, Ü., ve Çetin, T. (2017). Her Yönüyle Ovarian Hiperstimülasyon Sendromu. *Türk Üreme Tıbbı ve Cerrahisi Dergisi*.1 (1), 59-65
- Çılgin H. (2019). Can a cyclooxygenase inhibitor be an option for treatment of ovarian hyperstimulation syndrome?. *Drug design, development and therapy*, 13, 1099–1105.
- Danial, N. N., ve Korsmeyer, S. J. (2004). Cell death: critical control points. *Cell*, 116(2), 205–219.
- de la Fuente, J., Santiago, J., Román, A., Dumitrache, C., ve Casasanto, D. (2014). When you think about it, your past is in front of you: how culture shapes spatial conceptions of time. *Psychological science*, 25(9), 1682–1690. <https://doi.org/10.1177/0956797614534695>
- Delibasi, T., Erdogan, M. F., Serinsöz, E., Kaygusuz, G., Erdogan, G., ve Sertçelik, A. (2007). Ovarian hilus-cell hyperplasia and high serum testosterone in a patient with postmenopausal virilization. *Endocrine practice: official journal of the American College*

of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists, 13(5), 472–475.

Delvigne, A., ve Rozenberg, S. (2002). Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Human reproduction update*, 8(6), 559–577.

Dees, W. L., ve Skelley, C. W. (1990). Effects of ethanol during the onset of female puberty. *Neuroendocrinology*, 51(1), 64–69.

Delvigne, A., ve Rozenberg, S. (2003). Review of clinical course and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *Human reproduction update*, 9(1), 77–96.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmg005>

Devoto, L., Kohen, P., Muñoz, A., ve Strauss, J. F. (2009). Human corpus luteum physiology and the luteal-phase dysfunction associated with ovarian stimulation. *Reproductive biomedicine online*, 18 Suppl 2, 19–24.

Devroey, P., ve Adriaensen, P. (2011). OHSS Free Clinic. *Facts, views & vision in ObGyn*, 3(1), 43–45.

Dudek, R. W. (2014). *BRS Embryology* (Six edition). Wolters Kluwer Health.

Elchalal, U., ve Schenker, J. G. (1997). The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome--views and ideas. *Human reproduction (Oxford, England)*, 12(6), 1129–1137.

El-Faissal, Y. (2014). Approaches to complete prevention of OHSS. *Middle East Fertility Society Journal*.19:13-5.

Erickson, G. F. (1997). Defining apoptosis: players and systems. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 4(5), 219–228.

Erickson, G.F. (1995). *The ovary: basic principles and concepts*. In: Felig P, Baxter JD, Broadus AE, Frohman LA, eds. *Endocrinology and metabolism*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill.

Eşrefoğlu, M. (2022). *Genel ve Özel Histoloji*. Ankara: Pelikan Yayınevi

Fauser, B. C. (2019). Towards the global coverage of a unified registry of IVF outcomes. *Reproductive biomedicine online*, 38(2), 133–137.

Fernandez, L. A., Tarlatzis, B. C., Rzasz, P. J., Caride, V. J., Laufer, N., Negro-Vilar, A. F., DeCherney, A. H., ve Naftolin, F. (1985). Renin-like activity in ovarian follicular

fluid. *Fertility and sterility*, 44(2), 219–223. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)48740-6](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)48740-6)

Ferrara, N., Houck, K. A., Jakeman, L. B., Winer, J., ve Leung, D. W. (1991). The vascular endothelial growth factor family of polypeptides. *Journal of cellular biochemistry*, 47(3), 211–218.

Ferrara, N., ve Davis-Smyth, T. (1997). The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine reviews*, 18(1), 4–25.

Ferrero, H., García-Pascual, C. M., Gómez, R., Delgado-Rosas, F., Cauli, O., Simón, C., Gaytán, F., ve Pellicer, A. (2014). Dopamine receptor 2 activation inhibits ovarian vascular endothelial growth factor secretion in vitro: implications for treatment of ovarian hyperstimulation syndrome with dopamine receptor 2 agonists. *Fertility and sterility*, 101(5), 1411–1418.

Fiedler, K., ve Ezcurra, D. (2012). Predicting and preventing ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): the need for individualized not standardized treatment. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 10, 32.

Formica, J. V., ve Regelson, W. (1995). Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 33(12), 1061–1080. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)00077-1](https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00077-1)

Fritz, M.A., ve Speroff, L. (2007). *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite*. Güneş Tıp Kitapevleri.

Fritz, M. A. ve Speroff, L. (2011). *Clinical gynecologic endocrinology and infertility (8 th edition)*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 1439.

Fuxe, K., Andersson, K., Eneroth, P., Härfstrand, A., ve Agnati, L. F. (1989). Neuroendocrine actions of nicotine and of exposure to cigarette smoke: medical implications. *Psychoneuroendocrinology*, 14(1-2), 19–41. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(89\)90054-1](https://doi.org/10.1016/0306-4530(89)90054-1)

Gartner, L. P., ve Hiatt, J. L. (2014). *Color atlas and text of histology* (6nd ed.) Lippincott Williams & Wilkins.

- Gaytán, M., Bellido, C., Morales, C., Sánchez-Criado, J. E., ve Gaytán, F. (2006). Effects of selective inhibition of cyclooxygenase and lipooxygenase pathways in follicle rupture and ovulation in the rat. *Reproduction (Cambridge, England)*, 132(4), 571–577.
- Gearhart, J., ve Coutifaris, C. (2011). In vitro fertilization, the Nobel Prize, and human embryonic stem cells. *Cell stem cell*, 8(1), 12–15.
- Ghahiri, A., Mogharehabet, N., Movahedi, M., ve Hosseini, N. (2015). Evaluation of intravenous hydroxylethyl starch, intravenous albumin 20%, and oral cabergoline for prevention of ovarian hyperstimulation syndrome in patients undergoing ovulation induction. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 20(7), 692–696.
- Gille, H., Kowalski, J., Li, B., LeCouter, J., Moffat, B., Zioncheck, T. F., Pelletier, N., ve Ferrara, N. (2001). Analysis of biological effects and signaling properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). A reassessment using novel receptor-specific vascular endothelial growth factor mutants. *The Journal of biological chemistry*, 276(5), 3222–3230.
- Glujovsky, D., Farquhar, C., Quinteiro Retamar, A. M., Alvarez Sedo, C. R., ve Blake, D. (2016). Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *The Cochrane database of systematic reviews*, (6), CD002118.
- Golan, A., Ron-el, R., Herman, A., Soffer, Y., Weinraub, Z., ve Caspi, E. (1989). Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstetrical & gynecological survey*, 44(6), 430–440.
- Gómez, R., Simón, C., Remohí, J., ve Pellicer, A. (2003). Administration of moderate and high doses of gonadotropins to female rats increases ovarian vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor-2 expression that is associated to vascular hyperpermeability. *Biology of reproduction*, 68(6), 2164–2171. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.010801>
- Gomez, R., Gonzalez-Izquierdo, M., Zimmermann, R. C., Novella-Maestre, E., Alonso-Muriel, I., Sanchez-Criado, J., Remohí, J., Simon, C., ve Pellicer, A. (2006). Low-dose dopamine agonist administration blocks vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated vascular hyperpermeability without altering VEGF receptor 2-dependent luteal angiogenesis in a rat ovarian hyperstimulation model. *Endocrinology*, 147(11), 5400–5411.

- Gougeon, A. (1996). Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocrine reviews*, 17(2), 121–155. <https://doi.org/10.1210/edrv-17-2-121>
- Groome, N. P., Illingworth, P. J., O'Brien, M., Cooke, I., Ganesan, T. S., Baird, D. T., ve McNeilly, A. S. (1994). Detection of dimeric inhibin throughout the human menstrual cycle by two-site enzyme immunoassay. *Clinical endocrinology*, 40(6), 717–723. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1994.tb02504.x>.
- Hall, J.E. (2015). Guyton and Hall: Textbook of medical physiology. 13th edition. Elsevier. Philadelphia.
- Hallas-Potts, A., Dawson, J.C., ve Herrington, C.S. (2019). Ovarian cancer cell lines derived from non-serous carcinomas migrate and invade more aggressively than those derived from high-grade serous carcinomas. *Scientific reports*, 9(1): p. 1-10.
- Hartanti, M. D., Hummitzsch, K., Bonner, W. M., Bastian, N. A., Irving-Rodgers, H. F., ve Rodgers, R. J. (2020). Formation of the Bovine Ovarian Surface Epithelium during Fetal Development. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 68(2), 113–126.
- Hashemzaei, M., Delarami Far, A., Yari, A., Heravi, R. E., Tabrizian, K., Taghdisi, S. M., Sadegh, S. E., Tsatsakis, A. M.,Rezaee, R. (2017). Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo. *Oncology reports*, 38(2), 819–828.
- Hendriks, D. J., Mol, B. W., Bancsi, L. F., Te Velde, E. R., ve Broekmans, F. J. (2005). Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertility and sterility*, 83(2), 291–301
- Herr, D., Bekes, I., ve Wulff, C. (2013). Local Renin-Angiotensin system in the reproductive system. *Frontiers in endocrinology*, 4, 150.
- Hertog, M. G., ve Hollman, P. C. (1996). Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *European journal of clinical nutrition*, 50(2), 63–71.
- Hortu, I., Karadadas, E., Ozceltik, G., Tavmergen, E., Tavmergen Goker, E. N., Yigitturk, G., ve Erbas, O. (2021). Oxytocin and cabergoline alleviate ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) by suppressing vascular endothelial growth factor (VEGF) in an experimental model. *Archives of gynecology and obstetrics*, 303(4), 1099–1108.

- Howles, C. M., Alam, V., Tredway, D., Homburg, R., ve Warne, D. W. (2010). Factors related to successful ovulation induction in patients with WHO group II anovulatory infertility. *Reproductive biomedicine online*, 20(2), 182–190.
- Hsueh, A. J., Billig, H., ve Tsafiriri, A. (1994). Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. *Endocrine reviews*, 15(6), 707–724. <https://doi.org/10.1210/edrv-15-6-707>
- Humaidan, P., Nelson, S. M., Devroey, P., Coddington, C. C., Schwartz, L. B., Gordon, K., Frattarelli, J. L., Tarlatzis, B. C., Fatemi, H. M., Lutjen, P., ve Stegmann, B. J. (2016). Ovarian hyperstimulation syndrome: review and new classification criteria for reporting in clinical trials. *Human reproduction (Oxford, England)*, 31(9), 1997–2004.
- Hummitzsch, K., Irving-Rodgers, H. F., Hatzirodos, N., Bonner, W., Sabatier, L., Reinhardt, D. P., Sado, Y., Ninomiya, Y., Wilhelm, D., ve Rodgers, R. J. (2013). A new model of development of the mammalian ovary and follicles. *PloS one*, 8(2), e55578.
- Hummitzsch, K., Anderson, R. A., Wilhelm, D., Wu, J., Telfer, E. E., Russell, D. L., Robertson, S. A., ve Rodgers, R. J. (2015). Stem cells, progenitor cells, and lineage decisions in the ovary. *Endocrine reviews*, 36(1), 65–91
- Ianas, O., Manda, D., Popa, O. M., Capatina, C., Radian, S., ve Davila, C. (2010). Cabergoline Effect On Secretion Of Sıcam-1 And Cytokines In Human Pituitary Adenoma Cell Culture. *Acta Endocrinologica*, VI (4), 443-454
- Jacobson, T. Z., Duffy, J. M., Barlow, D., Farquhar, C., Koninckx, P. R., ve Olive, D. (2010). Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *The Cochrane database of systematic reviews*, (1), CD001398.
- Jahan, S., Abid, A., Khalid, S., Afsar, T., Qurat-Ul-Ain, Shaheen, G., Almajwal, A., ve Razak, S. (2018). Therapeutic potentials of Quercetin in management of polycystic ovarian syndrome using Letrozole induced rat model: a histological and a biochemical study. *Journal of ovarian research*, 11(1), 26.
- Jahromi, B.N., MD, Parsanezhad, M. E., MD, Shomali, Z., MD, Bakhshai, P., MD, Alborzi, M., MD, Moin Vaziri, N., MD PhD, ve Anvar, Z., PhD (2018). Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management. *Iranian journal of medical sciences*, 43(3), 248–260.

- Jahromi, B.N., Zolghadri, J., Rahmani, E., Alipour, S., Anvar, Z., Zarei, A., ve Keramati, P. (2019). Effect of low-dose aspirin on the development of ovarian hyperstimulation syndrome and outcomes of assisted reproductive techniques in the women with PCOS, a randomized double-blinded clinical trial. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*, 58(2), 255–260.
- Jayaprakasan, K., Chan, Y., Islam, R., Haoula, Z., Hopkisson, J., Coomarasamy, A., ve Raine-Fenning, N. (2012). Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. *Fertility and sterility*, 98(3), 657–663.
- Jiang, H., Horiuchi, Y., Hironao, K. Y., Kitakaze, T., Yamashita, Y., ve Ashida, H. (2020). Prevention effect of quercetin and its glycosides on obesity and hyperglycemia through activating AMPK α in high-fat diet-fed ICR mice. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 67(1), 74–83.
- Johnson, N. P., Mak, W., ve Sowter, M. C. (2004). Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *The Cochrane database of systematic reviews*, (3), CD002125.
- Kalampokas, T., Creatsas, G., ve Kalampokas, E. (2013). Cabergoline as treatment of ovarian hyperstimulation syndrome: a review. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 29(2), 98–100.
- Kallen, C. B., ve Arici, A. (2003). Immune testing in fertility practice: truth or deception?. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 15(3), 225–231.
- Kang, J. T., Moon, J. H., Choi, J. Y., Park, S. J., Kim, S. J., Saadeldin, I. M., ve Lee, B. C. (2016). Effect of Antioxidant Flavonoids (Quercetin and Taxifolin) on In vitro Maturation of Porcine Oocytes. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(3), 352–358.
- Kasap, E., Turan, G. A., Eskicioğlu, F., Cengiz, H., Gur, E. B., Sivrikoz, O. N., Genc, M., ve Yılmaz, O. (2016). Comparison between resveratrol and cabergoline in preventing ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 32(8), 634–640.
- Kasaven, L. S., Goumenou, A., ve Adegoke, K. (2018). Multiorgan failure associated with severe ovarian hyperstimulation syndrome due to inadequate protocol optimisation: a rare

- but avoidable complication. *BMJ case reports*, 2018, bcr2017223418. <https://doi.org/10.1136/bcr-2017-223418>
- Kellis, J. T., Jr, ve Vickery, L. E. (1984). Inhibition of human estrogen synthetase (aromatase) by flavones. *Science (New York, N.Y.)*, 225(4666), 1032–1034. <https://doi.org/10.1126/science.6474163>
- Kelly G. S. (2011). Quercetin. Monograph. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*, 16(2), 172–194.
- Khan-Dawood, F. S., Yang, J., ve Dawood, M. Y. (1996). Expression of gap junction protein connexin-43 in the human and baboon (*Papio anubis*) corpus luteum. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 81(2), 835–842.
- Kierszenbaum, A., ve Tres, L. (2020). *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology* (6nd ed.). Elsevier
- Kinnear, H. M., Tomaszewski, C. E., Chang, A. L., Moravek, M. B., Xu, M., Padmanabhan, V., ve Shikanov, A. (2020). The ovarian stroma as a new frontier. *Reproduction (Cambridge, England)*, 160(3), R25–R39.
- Kirkendoll, S.D., ve Bacha D. (2023). Histology, Corpus Albicans. StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545270>
- Kitajima, Y., Endo, T., Manase, K., Nishikawa, A., Shibuya, M., ve Kudo, R. (2004). Gonadotropin-releasing hormone agonist administration reduced vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptors, and vascular permeability of the ovaries of hyperstimulated rats. *Fertility and sterility*, 81 Suppl 1, 842–849.
- Kolibianakis, E. M., Collins, J., Tarlatzis, B. C., Devroey, P., Diedrich, K., ve Griesinger, G. (2006). Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update*, 12(6), 651–671.
- Korneeva, I. E., Veriaeva, N. A., Gel'fand, B. R., ve Churadze, B. T. (2007). Ovarian overstimulation syndrome: problem of intensive care. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 6, 59–63. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18326263/>
- Krasnow, J. S., Berga, S. L., Guzick, D. S., Zeleznik, A. J., ve Yeo, K. T. (1996). Vascular permeability factor and vascular endothelial growth factor in ovarian hyperstimulation syndrome: a preliminary report. *Fertility and sterility*, 65(3), 552–555.

- Krzastek, S. C., Sharma, D., Abdullah, N., Sultan, M., Machen, G. L., Wenzel, J. L., Ells, A., Chen, X., Kavoussi, M., Costabile, R. A., Smith, R. P., ve Kavoussi, P. K. (2019). Long-Term Safety and Efficacy of Clomiphene Citrate for the Treatment of Hypogonadism. *The Journal of urology*, 202(5), 1029–1035. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000000396>
- Kulkarni, A. D., Jamieson, D. J., Jones, H. W., Jr, Kissin, D. M., Gallo, M. F., Macaluso, M., ve Adashi, E. Y. (2013). Fertility treatments and multiple births in the United States. *The New England journal of medicine*, 369(23), 2218–2225.
- Kummer, N. E., Feinn, R. S., Griffin, D. W., Nulsen, J. C., Benadiva, C. A., ve Engmann, L. L. (2013). Predicting successful induction of oocyte maturation after gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) trigger. *Human reproduction (Oxford, England)*, 28(1), 152–159.
- Kwik, M. ve Maxwell, E. (2016). Pathophysiology, treatment and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 28(4), 236–241.
- Lakhanpal, P., ve Rai, D. K. (2007). Quercetin: A versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), 22–37
- Lamazou, F., Legouez, A., Letouzey, V., Grynberg, M., Deffieux, X., Trichot, C., Fernandez, H., ve Frydman, R. (2011). Le syndrome d'hyperstimulation ovarienne : physiopathologie, facteurs de risque, prévention et prise en charge [Ovarian hyperstimulation syndrome: pathophysiology, risk factors, prevention, diagnosis and treatment]. *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction*, 40(7), 593–611.
- Lanzendorf S. E. (2006). Developmental potential of in vitro- and in vivo-matured human oocytes collected from stimulated and unstimulated ovaries. *Fertility and sterility*, 85(4), 836–841.
- Lee, T. H., Liu, C. H., Huang, C. C., Wu, Y. L., Shih, Y. T., Ho, H. N., Yang, Y. S., ve Lee, M. S. (2008). Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Human reproduction (Oxford, England)*, 23(1), 160–167.
- Li, H., Xiao, L., He, H., Zeng, H., Liu, J., Jiang, C., Mei, G., Yu, J., Chen, H., Yao, P., ve Tang, Y. (2021). Quercetin Attenuates Atherosclerotic Inflammation by Inhibiting Galectin-3-NLRP3 Signaling Pathway. *Molecular nutrition & food research*, 65(15), e2000746.

- Li, L., Dong, J., Yan, L., Yong, J., Liu, X., Hu, Y., Fan, X., Wu, X., Guo, H., ... Qiao, J. (2017). Single-Cell RNA-Seq Analysis Maps Development of Human Germline Cells and Gonadal Niche Interactions. *Cell stem cell*, 20(6), 858–873.e4.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.03.007>
- Li, W., Wang, Y., Tang, Y., Lu, H., Qi, Y., Li, G., He, H., Lu, F., Yang, Y., ve Sun, H. (2021). Quercetin Alleviates Osteoarthritis Progression in Rats by Suppressing Inflammation and Apoptosis via Inhibition of IRAK1/NLRP3 Signaling. *Journal of inflammation research*, 14, 3393–3403. <https://doi.org/10.2147/JIR.S3119>
- Lim, K. S., Chae, S. J., Choo, C. W., Ku, Y. H., Lee, H. J., Hur, C. Y., Lim, J. H., ve Lee, W. D. (2013). In vitro maturation: Clinical applications. *Clinical and experimental reproductive medicine*, 40(4), 143–147. <https://doi.org/10.5653/cerm.2013.40.4.143>
- Lindheim, S. R., Glenn, T. L., Smith, M. C., ve Gagneux, P. (2018). Ovulation Induction for the General Gynecologist. *Journal of obstetrics and gynaecology of India*, 68(4), 242–252.
- Liu, X., Sun, N., Mo, N., Lu, S., Song, E., Ren, C., ve Li, Z., (2019). Quercetin inhibits kidney fibrosis and the epithelial to mesenchymal transition of the renal tubular system involving suppression of the Sonic Hedgehog signaling pathway. *Food & function*, 10 (6), 3782–3797. <https://doi.org/10.1039/c9fo00373h>
- Luo, X., Bao, X., Weng, X., Bai, X., Feng, Y., Huang, J., Liu, S., Jia, H., ve Yu, B. (2022). The protective effect of quercetin on macrophage pyroptosis via TLR2/Myd88/NF-κB and ROS/AMPK pathway. *Life sciences*, 291, 120064.
- Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S., ve Stevens, G. A. (2012). National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS medicine*, 9(12), e1001356.
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>
- Mathur, R. S., Akande, A. V., Keay, S. D., Hunt, L. P., ve Jenkins, J. M. (2000). Distinction between early and late ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and sterility*, 73(5), 901–907.
- Mazzilli, F., Rossi, T., Marchesini, M., Ronconi, C., ve Dondero, F. (1994). Superoxide anion in human semen related to seminal parameters and clinical aspects. *Fertility and sterility*, 62(4), 862–868.

- McArthur, M. E., Irving-Rodgers, H. F., Byers, S., ve Rodgers, R. J. (2000). Identification and immunolocalization of decorin, versican, perlecan, nidogen, and chondroitin sulfate proteoglycans in bovine small-antral ovarian follicles. *Biology of reproduction*, 63(3), 913–924. <https://doi.org/10.1095/biolreprod63.3.913>
- McGovern, P. G., Myers, E. R., Silva, S., Coutifaris, C., Carson, S. A., Legro, R. S., Schlaff, W. D., Carr, B. R., Diamond, M. P., ve NICHD National Cooperative Reproductive Medicine Network (2004). Absence of secretory endometrium after false-positive home urine luteinizing hormone testing. *Fertility and sterility*, 82(5), 1273–1277.
- McIntush, E. W., ve Smith, M. F. (1998). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in ovarian function. *Reviews of reproduction*, 3(1), 23–30
- Mescher, A.L. (2018). *Junqueira's basic histology: text and atlas*. McGraw Hill Medical.
- Miller, I., Chuderland, D., Grossman, H., Ron-El, R., Ben-Ami, I., ve Shalgi, R. (2016). The Dual Role of PEDF in the Pathogenesis of OHSS: Negating Both Angiogenic and Inflammatory Pathways. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 101(12), 4699–4709.
- Mills, S. E. (2012). *Histology for Pathologists*. Fourth Edition. Wolters Kluwer Health.
- Mol, B. W., Swart, P., Bossuyt, P. M., ve van der Veen, F. (1997). Is hysterosalpingography an important tool in predicting fertility outcome?. *Fertility and sterility*, 67(4), 663–669. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(97\)81363-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(97)81363-5)
- Moore, K. L., Persaud, T. N., ve Torchia M. G. (2016). *Before we are born: essentials of embryology and birth defects*. London: Elsevier Health Sciences.
- Mosher, W. D., ve Pratt, W. F. (1991). Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertility and sterility*, 56(2), 192–193
- Motta, P. M., Makabe, S., ve Nottola, S. A. (1997). The ultrastructure of human reproduction. I. The natural history of the female germ cell: origin, migration and differentiation inside the developing ovary. *Human reproduction update*, 3(3), 281–295
- Mrvová, N., Škandík, M., Kuniaková, M., ve Račková, L. (2015). Modulation of BV-2 microglia functions by novel quercetin pivaloyl ester. *Neurochemistry international*, 90, 246–254.

- Munro, M. G. (2019). Uterine polyps, adenomyosis, leiomyomas, and endometrial receptivity. *Fertility and sterility*, 111(4), 629–640.
- Nakamura, Y., Smith, M., ve Krishna, A., Terranova, P. F. (1987). Increased number of mast cells in the dominant follicle of the cow: relationships among luteal, stromal, and hilar regions. *Biology of reproduction*, 37(3), 546–549. <https://doi.org/10.1095/biolreprod37.3.546>
- Nagano, H., Tomida, C., Yamagishi, N., ve Teshima-Kondo, S. (2019). VEGFR-1 Regulates EGF-R to Promote Proliferation in Colon Cancer Cells. *International journal of molecular sciences*, 20(22), 5608.
- Nagata, C., Kabuto, M., ve Shimizu, H. (1998). Association of coffee, green tea, and caffeine intakes with serum concentrations of estradiol and sex hormone-binding globulin in premenopausal Japanese women. *Nutrition and cancer*, 30(1), 21–24.
- Nastri, C. O., Ferriani, R. A., Rocha, I. A., ve Martins, W. P. (2010). Ovarian hyperstimulation syndrome: pathophysiology and prevention. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 27(2-3), 121–128.
- Navot, D., Bergh, P. A., ve Laufer, N. (1992). Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertility and sterility*, 58(2), 249–261.
- Nel-Themaat, L., ve Nagy, Z. P. (2011). A review of the promises and pitfalls of oocyte and embryo metabolomics. *Placenta*, 32 Suppl 3, S257–S263.
- Nelson, S. M. (2017). Prevention and management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Thrombosis research*, 151 Suppl 1, S61–S64.
- Neisy, A., Koohpeyma, F., Jafari Khorchani, M., Karimi, F., ve Zal, F. (2023). Quercetin modulates ovarian autophagy-related molecules and stereological parameters in a rat model of PCOS. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 13(1), 9–16. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.367686>
- Obrzut, B., Kuczyński, W., Grygoruk, C., Putowski, L., Kluz, S., ve Skret, A. (2005). Liver dysfunction in severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 21(1), 45–49. <https://doi.org/10.1080/09513590500099511>

- Oei, S. G., Helmerhorst, F. M., Bloemenkamp, K. W., Hollants, F. A., Meerpoel, D. E., ve Keirse, M. J. (1998). Effectiveness of the postcoital test: randomised controlled trial. *BMJ (Clinical research ed.)*, 317(7157), 502–505.
- Okamura, H., Takenaka, A., Yajima, Y., ve Nishimura, T. (1980). Ovulatory changes in the wall at the apex of the human Graafian follicle. *Journal of reproduction and fertility*, 58(1), 153–155
- Oktaý, K., Cil, A. P., ve Bang, H. (2006). Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertility and sterility*, 86(1), 70–80.
- Olooto, W.E., Amballi, A.A., ve Banjo, T.A. (2012). A review of Female Infertility; important etiologiçal factors and management. *J Microbiol Biotech Res.*; 2(3), 379-385.
- Ozgur, S., Oktem, M., Altinkaya, S. O., Oktem, E. O., Cenksoy, C., Erdem, O., Elbeg, S., Helvacı, A., Erdem, A., ve Erdem, M. (2018). The effects of resveratrol on ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*, 57(3), 383–388.
- Painter, R. C., Roseboom, T. J., ve de Rooij, S. R. (2012). Long-term effects of prenatal stress and glucocorticoid exposure. *Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews*, 96(4), 315–324.
- Palomba S. (2015). Aromatase inhibitors for ovulation induction. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 100(5), 1742–1747.
- Palumbo, A., Ávila, J., ve Naftolin, F. (2016). The Ovarian Renin-Angiotensin System (OVRAS): A Major Factor in Ovarian Function and Disease. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 23(12), 1644–1655.
- Pascal-Vigneron, V., Weryha, G., Bosc, M., ve Leclere, J. (1995). Aménorrhée hyperprolactinémique: traitement par cabergoline versus bromocriptine. Résultats de l'étude nationale, multicentrique, randomisée, en double insu [Hyperprolactinemic amenorrhea: treatment with cabergoline versus bromocriptine. Results of a national multicenter randomized double-blind study]. *Presse medicale (Paris, France : 1983)*, 24(16), 753–757.
- Parvaresh, A., Razavi, R., Rafie, N., Ghiasvand, R., Pourmasoumi, M., ve Miraghajani, M. (2016). Quercetin and ovarian cancer: An evaluation based on a systematic

review. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 21, 34.

Pellicer, N., Galliano, D., ve Pellicer, A. (2019). Ovarian hyperstimulation syndrome The Ovary. Elsevier. 345-362.

Pelinck, M. J., Vogel, N. E., Arts, E. G., Simons, A. H., Heineman, M. J., ve Hoek, A. (2007). Cumulative pregnancy rates after a maximum of nine cycles of modified natural cycle IVF and analysis of patient drop-out: a cohort study. *Human reproduction (Oxford, England)*, 22(9), 2463–2470.

Pereira, N., Lekovich, J. P., Kligman, I., ve Rosenwaks, Z. (2017). Severe ovarian hyperstimulation syndrome after combined GnRH-agonist and low-dose human chorionic gonadotropin trigger in a patient with a single kidney. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 33(8), 593–597.

Peterson, J., ve Dwyer, J. (1998). Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18, 1995-2018

Picton, H. M. (2001). Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology*, 55(6), 1193–1210.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine (2015). Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertility and sterility*, 103(6), e44–e50

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: ASRM@asrm.org, & Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology (2017). Guidance on the limits to the number of embryos to transfer: a committee opinion. *Fertility and sterility*, 107(4), 901–903. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.02.107>

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org (2020). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and sterility*, 113(3), 533–535. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.11.025>

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org, & Practice Committee of the American Society for Reproductive

- Medicine (2021). Fertility evaluation of infertile women: a committee opinion. *Fertility and sterility*, 116(5), 1255–1265. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.08.038>
- Prescott, S. M. ve Fitzpatrick, F. A. (2000). Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. *Biochimica et biophysica acta*, 1470(2), M69–M78.
- Quintana, R., Kopcow, L., Marconi, G., Young, E., Yovanovich, C., ve Paz, D. A. (2008). Inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) by meloxicam decreases the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model. *Fertility and sterility*, 90(4 Suppl), 1511–1516.
- Ramyaa, P., Krishnaswamy, R., ve Padma, V. V. (2014). Quercetin modulates OTA-induced oxidative stress and redox signalling in HepG2 cells-up regulation of Nrf2 expression and down regulation of NF-κB and COX-2. *Biochimica et biophysica acta*, 1840 (1), 681–692.
- Reeves G. (1971). Specific stroma in the cortex and medulla of the ovary. Cell types and vascular supply in relation to follicular apparatus and ovulation. *Obstetrics and gynecology*, 37(6), 832–844. (<https://doi.org/10.1097/00006254-197203000-00016>)
- Revel, A., Barak, V., Lavy, Y., Anteby, E., Abramov, Y., Schenker, J. J., Amit, A., ... Hurwitz, A. (1996). Characterization of intraperitoneal cytokines and nitrites in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and sterility*, 66(1), 66–71.
- Richards, J. S. (1994). Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocrine reviews*, 15(6), 725–751. <https://doi.org/10.1210/edrv-15-6-725>
- Richards, J. S., Ren, Y. A., Candelaria, N., Adams, J. E., ve Rajkovic, A. (2018). Ovarian Follicular Theca Cell Recruitment, Differentiation, and Impact on Fertility: 2017 Update. *Endocrine reviews*, 39(1), 1–20.
- Rizk, B., Aboulghar, M., Smitz, J., ve Ron-El, R. (1997). The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Human reproduction update*, 3(3), 255–266. <https://doi.org/10.1093/humupd/3.3.255>
- Roque, M., Lattes, K., Serra, S., Solà, I., Geber, S., Carreras, R., ve Checa, M. A. (2013). Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility*, 99(1), 156–162.

- Ross, M. H., ve Pawlina, W. (2016). *Histology: a text and atlas with correlated cell and molecular biology*. Lippincott Williams & Wilkins
- Ryley, N. G., Forman, R., Barlow, D., Fleming, K. A., ve Trowell, J. M. (1990). Liver abnormality in ovarian hyperstimulation syndrome. *Human reproduction (Oxford, England)*, 5(8), 938–943.
- Sadler, T.W. (2005). *Medikal Embriyoloji*. 9 Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık
- Santini, S. E., Basini, G., Bussolati, S., ve Grasselli, F. (2009). The phytoestrogen quercetin impairs steroidogenesis and angiogenesis in swine granulosa cells in vitro. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2009, 419891. <https://doi.org/10.1155/2009/419891>
- Saylan A. (2008). Ovarian Hiperstimulasyon Sendromunun Önlenmesinde Rat Modelinde Cabergolin ve Meloksikamın Etkinliklerinin Karşılaştırılması.Uzmanlık Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar.
- Schoenwolf, G. C., Bleyl, S.B., Brauer, P. R., ve Francis-West, P.H. 2013. *Larsen's Human Embryology*. Fourth Edition. Churchill Livingstone
- Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Ross, L.M., ve Lamperti, E.D. (2009). *Prometheus Anatomi Atlası: Baş, Boyun ve İç Organlar*. Çeviri Editörü: M. Yıldırım 1. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.
- Scott, R. T., Jr, ve Hodgen, G. D. (1990). The ovarian follicle: life cycle of a pelvic clock. *Clinical obstetrics and gynecology*, 33(3), 551–562.
- Scotti, L., Irusta, G., Abramovich, D., Tesone, M., ve Parborell, F. (2011). Administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist affects corpus luteum vascular stability and development and induces luteal apoptosis in a rat model of ovarian hyperstimulation syndrome. *Molecular and cellular endocrinology*, 335(2), 116–125.
- Scully, R. E., ve Cohen, R. B. (1964). Oxidative-enzyme activity in normal and pathologic human ovaries. *Obstetrics and Gynecology*. 24, 667–681.
- Seidman J.D., Cho K.R., Ronnett, B.M., ve Kurman, R.J. (2011). *Surface epithelial tumors of the ovary*. In *Blaustein's pathology of the female genital tract*. Springer
- Seow, K. M., Lin, Y. H., Bai, C. H., Chen, H. J., Hsieh, B. C., Huang, L. W., Tzeng, C. R., ve Hwang, J. L. (2013). Clinical outcome according to timing of cabergoline initiation for

prevention of OHSS: a randomized controlled trial. *Reproductive biomedicine online*, 26(6), 562–568.

- Septembre-Malaterre, A., Boumendjel, A., Seteyen, A. S., Boina, C., Gasque, P., Guiraud, P., ve Sélambarom, J. (2022). Focus on the high therapeutic potentials of quercetin and its derivatives. *Phytomedicine plus: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 2(1), 100220. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100220>
- Seyedoshohadaei, F., Zandvakily, F., ve Shahgeibi, S. (2012). Comparison of the effectiveness of clomiphene citrate, tamoxifen and letrozole in ovulation induction in infertility due to isolated unovulation. *Iranian journal of reproductive medicine*, 10(6), 531–536.
- Shah, K. N., ve Patel, S. S. (2016). Phosphatidylinositol 3-kinase inhibition: A new potential target for the treatment of polycystic ovarian syndrome. *Pharmaceutical biology*, 54(6), 975–983.
- Shalaby, F., Rossant, J., Yamaguchi, T. P., Gertsenstein, M., Wu, X. F., Breitman, M. L., ve Schuh, A. C. (1995). Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature*, 376(6535), 62–66.
- Sharara, F. I., Scott, R. T., Jr, ve Seifer, D. B. (1998). The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *American journal of obstetrics and gynecology*, 179(3 Pt 1), 804–812. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(98\)70087-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(98)70087-0)
- Sharma, R., Biedenharn, K. R., Fedor, J. M., ve Agarwal, A. (2013). Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 11, 66. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-66>
- Sharma, M., ve Balasundaram, P. Ovulation Induction Techniques. [Updated 2023 Jun 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK574564/>
- Shi, S. L., Peng, Z. F., Yao, G. D., Jin, H. X., Song, W. Y., Yang, H. Y., Xue, R. Y., ve Sun, Y. P. (2015). Expression of CD11c+HLA-DR+dendritic cells and related cytokines in the follicular fluid might be related to pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(11), 15133–15137.

- Shirasuna, K., Nitta, A., Sineenard, J., Shimizu, T., Bollwein, H., ve Miyamoto, A. (2012). Vascular and immune regulation of corpus luteum development, maintenance, and regression in the cow. *Domestic animal endocrinology*, 43(2), 198–211.
- Shrestha, D., La, X., ve Feng, H. L. (2015). Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. *Annals of translational medicine*, 3(10), 137.
- Simon, A. M., Goodenough, D. A., Li, E., ve Paul, D. L. (1997). Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature*, 385(6616), 525–529.
- Sipe, C. S., Davis, W. A., Maifeld, M., ve Van Voorhis, B. J. (2006). A prospective randomized trial comparing anastrozole and clomiphene citrate in an ovulation induction protocol using gonadotropins. *Fertility and sterility*, 86(6), 1676–1681.
- Singh S. (2024). Review on Natural Agents as Aromatase Inhibitors: Management of Breast Cancer. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, 27(18), 2623–2638. <https://doi.org/10.2174/0113862073269599231009115338>.
- Soares S. R. (2012). Etiology of OHSS and use of dopamine agonists. *Fertility and sterility*, 97(3), 517–522.
- Soares, S. R., Barbosa dos Reis, M. M., ve Camargos, A. F. (2000). Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertility and sterility*, 73(2), 406–411.
- Song, S., Ha, A. W., ve Kim, W. (2023). Quercetin inhibits body weight gain and adipogenesis via matrix metalloproteinases in mice fed a high-fat diet. *Nutrition research and practice*, 17(3), 438–450.
- Spitzer, D., Wogatzky, J., Murtinger, M., Zech, M. H., Haidbauer, R., ve Zech, N. H. (2011). Dopamine agonist bromocriptine for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and sterility*, 95(8), 2742–4.e1.
- Starc, A., Trampuš, M., Pavan Jukić, D., Rotim, C., Jukić, T., ve Polona Mivšek, A. (2019). Infertility and sexual dysfunctions: a systematic literature review. *Acta clinica Croatica*, 58(3), 508–515. <https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.03.15>
- Sternberg, S.S. (1997). *Histology for pathologists*. Philadelphia (PA); New York (N.Y.): Lippincott-Raven.

- Strauss, J.F. ve FitzGerald, G.A. (2019). Chapter 4—steroid hormones and other lipid molecules involved in human reproduction. In: Strauss JF, Barbieri RL, eds. *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology (Eighth Edition)*. Philadelphia: Elsevier; 75-114.e117
- Suttie, A. E., Leininger, J. R., ve Bradley, A. E. (Eds.). (2018). *Boorman's pathology of the rat reference and atlas* (Second edition.). Academic Press.
- Sutton-McDowall, M. L., Gilchrist, R. B., ve Thompson, J. G. (2010). The pivotal role of glucose metabolism in determining oocyte developmental competence. *Reproduction (Cambridge, England)*, 139(4), 685–695.
- Şahin, N., Apaydın, N., Töz, E., Sivriköz, O. N., Genç, M., Turan, G. A., Cengiz, H., ve Eskicioğlu, F. (2016). Comparison of the effects of letrozole and cabergoline on vascular permeability, ovarian diameter, ovarian tissue VEGF levels, and blood PEDF levels, in a rat model of ovarian hyperstimulation syndrome. *Archives of gynecology and obstetrics*, 293(5), 1101–1106.
- Taguchi, K., Tano, I., Kaneko, N., Matsumoto, T., ve Kobayashi, T. (2020). Plant polyphenols Morin and Quercetin rescue nitric oxide production in diabetic mouse aorta through distinct pathways. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 129, 110463.
- Taheripanah, R., Vasef, M., Zamaniyan, M., ve Taheripanah, A. (2018). Comparison of Cabergoline and Quinagolide in Prevention of Severe Ovarian Hyperstimulation Syndrome among Patients Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection. *International journal of fertility & sterility*, 12(1), 1–5. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2018.5259>
- Tang, H., Hunter, T., Hu, Y., Zhai, S. D., Sheng, X., ve Hart, R. J. (2012). Cabergoline for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *The Cochrane database of systematic reviews*, (2), CD008605.
- Tang, H., Mourad, S. M., Wang, A., Zhai, S. D., ve Hart, R. J. (2021). Dopamine agonists for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *The Cochrane database of systematic reviews*, 4(4), CD008605.
- Tang, H., Yan, Y., Wang, T., Zhang, T., Shi, W., Fan, R., Yao, Y., ve Zhai, S. (2015). Effect of follicle-stimulating hormone receptor Asn680Ser polymorphism on the outcomes of controlled ovarian hyperstimulation: an updated meta-analysis of 16 cohort

studies. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 32(12), 1801–1810.
<https://doi.org/10.1007/s10815-015-0600-5>

Taskin, M. I., Topcu, O., Yay, A., Erken, G., Balcioglu, E., Adali, E., ve Hismiogullari, A. A. (2015). Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model: comparison of the efficacy of tocilizumab with that of ranibizumab, cabergoline, and a gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 31(12), 949–954
<https://doi.org/10.3109/09513590.2015.1077218>

Temel, S., van Voorst, S. F., Jack, B. W., Denktas, S., ve Steegers, E. A. (2014). Evidence-based preconceptional lifestyle interventions. *Epidemiologic reviews*, 36, 19–30.

The European Recombinant Human LH Study Group. (1998). Recombinant human luteinizing hormone (LH) to support recombinant human follicle-stimulating hormone (FSH)-induced follicular development in LH- and FSH-deficient anovulatory women: a dose-finding study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 83(5), 1507–1514.
<https://doi.org/10.1210/jcem.83.5.4770>

Theocharis, A. D., Skandalis, S. S., Gialeli, C., ve Karamanos, N. K. (2016). Extracellular matrix structure. *Advanced drug delivery reviews*, 97, 4–27

Thurston, L., Abbara, A., ve Dhillon, W. S. (2019). Investigation and management of subfertility. *Journal of clinical pathology*, 72(9), 579–587.

Tiwari A, Balasundaram P. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Jun 5, 2023. Public Health Considerations Regarding Obesity.

Tso, L. O., Costello, M. F., Albuquerque, L. E., Andriolo, R. B., ve Freitas, V. (2009). Metformin treatment before and during IVF or ICSI in women with polycystic ovary syndrome. *The Cochrane database of systematic reviews*, (2), CD006105.

Turan, G. A., Eskicioglu, F., Sivriköz, O. N., Cengiz, H., Adakan, S., Gur, E. B., Tatar, S., Sahin, N., ve Yilmaz, O. (2015). Myo-inositol is a promising treatment for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): an animal study. *Archives of gynecology and obstetrics*, 292(5), 1163–1171.

Tyser, R. C. V., Mahammadov, E., Nakanoh, S., Vallier, L., Scialdone, A., ve Srinivas, S. (2021). Single-cell transcriptomic characterization of a gastrulating human embryo. *Nature*, 600 (7888), 285–289

- Türkoğlu İ.(2021).Deneyisel Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu Modelinde Yapısal ve Vasküler Değişiklikler Üzerine Kuersetinin Etkisinin İncelenmesi.Doktora Tezi,Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Ankara.
- Unanyan, A., Pivazyan, L., Krylova, E., Eskin, A., Zakaryan, A., Sarkisova, A., ve Ishchenko, A. (2022). Effectiveness of inositol, metformin and their combination in women with PCOS undergoing assisted reproduction: systematic review and meta-analysis. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 38(12), 1035–1046.
- Valle, R. F. (1995). Tubal cannulation. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 22(3), 519–540
- Vane, J. R., ve Botting, R. M. (2003). The mechanism of action of aspirin. *Thrombosis research*, 110(5-6), 255–258. [https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(03\)00379-7](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(03)00379-7)
- Várnagy, A., Bódis, J., Mánfai, Z., Wilhelm, F., Busznyák, C., ve Koppán, M. (2010). Low-dose aspirin therapy to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and sterility*, 93(7), 2281–2284.
- Voronina, E., ve Wessel, G. M. (2003). The regulation of oocyte maturation. *Current topics in developmental biology*, 58, 53–110.
- Wakim, A. N., ve Fox, S. D. (1996). Elevated liver function tests in a case of moderate ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reproduction*, 11(3), 588–589. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/11.3.588>
- Walls, M. L., ve Hart, R. J. (2018). In vitro maturation. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 53, 60–72.
- Wang, H., Jo, Y. J., Oh, J. S., ve Kim, N. H. (2017). Quercetin delays postovulatory aging of mouse oocytes by regulating SIRT expression and MPF activity. *Oncotarget*, 8(24), 38631–38641.
- Wang, J., Qian, X., Gao, Q., Lv, C., Xu, J., Jin, H., ve Zhu, H. (2018). Quercetin increases the antioxidant capacity of the ovary in menopausal rats and in ovarian granulosa cell culture in vitro. *Journal of ovarian research*, 11(1), 51.
- Wassarman P. M. (2008). Zona pellucida glycoproteins. *The Journal of biological chemistry*, 283(36), 24285–24289. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800027200>

- Wathen, N. C., Perry, L., Lilford, R. J., ve Chard, T. (1984). Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range. *British medical journal (Clinical research ed.)*, 288(6410), 7-9.
- Watson, J. M., Sensintaffar, J. L., Berek, J. S., ve Martínez-Maza, O. (1990). Constitutive production of interleukin 6 by ovarian cancer cell lines and by primary ovarian tumor cultures. *Cancer research*, 50(21), 6959–6965.
- Wei, Y., Zhang, T., Wang, Y. P., Schatten, H., ve Sun, Q. Y. (2015). Polar bodies in assisted reproductive technology: current progress and future perspectives. *Biology of reproduction*, 92(1), 19 <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.125575>
- Weiss, N. S., Nahuis, M. J., Bordewijk, E., Oosterhuis, J. E., Smeenk, J. M., Hoek, A., Broekmans, F. J., Fleischer, K., ... van Wely, M. (2018). Gonadotrophins versus clomifene citrate with or without intrauterine insemination in women with normogonadotropic anovulation and clomifene failure (M-OVIN): a randomised, two-by-two factorial trial. *Lancet (London, England)*, 391(10122), 758–765. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)333081](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)333081)
- Xing, W., Lin, H., Li, Y., Yang, D., Wang, W., ve Zhang, Q. (2015). Is the GnRH Antagonist Protocol Effective at Preventing OHSS for Potentially High Responders Undergoing IVF/ICSI?. *PloS one*, 10(10), e0140286.
- Xu, G., Li, B., Wang, T., Wan, J., Zhang, Y., Huang, J., ve Shen, Y. (2018). Enhancing the anti-ovarian cancer activity of quercetin using a self-assembling micelle and thermosensitive hydrogel drug delivery system. *RSC advances*, 8(38), 21229–21242.
- Yang, H., Song, Y., Liang, Y. N., ve Li, R. (2018). Quercetin Treatment Improves Renal Function and Protects the Kidney in a Rat Model of Adenine-Induced Chronic Kidney Disease. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 24, 4760–4766.
- Yıldırım, M. (2013). *Resimli Sistemik Anatomi* (Birinci Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Yiğit F. (2020). Deneysel Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu Modelinde Melatoninin Yapısal ve Vasküler Değişiklikler Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.

- Ying, J., Feng, J., Hu, J., Wang, S., Han, P., Huang, Y., Zhao, W., ve Qian, J. (2019). Can ovaries be preserved after an ovarian arteriovenous disconnection? One case report and a review of surgical treatment using Da Vinci robots for aggressive ovarian fibromatosis. *Journal of ovarian research*, 12(1), 52.
- Yoshida, H., Takakura, N., Kataoka, H., Kunisada, T., Okamura, H., ve Nishikawa, S. I. (1997). Stepwise requirement of c-kit tyrosine kinase in mouse ovarian follicle development. *Developmental biology*, 184(1), 122–137.
- <https://doi.org/10.1006/dbio.1997.8503>
- Yoshimura, Y., Karube, M., Oda, T., Koyama, N., Shiokawa, S., Akiba, M., Yoshinaga, A., ve Nakamura, Y. (1993). Locally produced angiotensin II induces ovulation by stimulating prostaglandin production in in vitro perfused rabbit ovaries. *Endocrinology*, 133(4), 1609–1616.
- Young, J. M., ve McNeilly, A. S. (2010). Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction (Cambridge, England)*, 140(4), 489–504.
<https://doi.org/10.1530/REP-10-0094>
- Youssef, M. A., Abou-Setta, A. M., ve Lam, W. S. (2016). Recombinant versus urinary human chorionic gonadotrophin for final oocyte maturation triggering in IVF and ICSI cycles. *The Cochrane database of systematic reviews*, 4(4), CD003719.
- Youssef, M. A., ve Mourad, S. (2016). Volume expanders for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2016(8), CD001302.
- Youssef, M. A., Van der Veen, F., Al-Inany, H. G., Mochtar, M. H., Griesinger, G., Nagi Mohesen, M., Aboulfoutouh, I., ve van Wely, M. (2014). Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2014(10), CD008046.
- Yuan, K., Zhu, Q., Lu, Q., Jiang, H., Zhu, M., Li, X., Huang, G., ve Xu, A. (2020). Quercetin alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting neutrophil inflammatory activities. *The Journal of nutritional biochemistry*, 84, 108454.
- Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., Dyer, S., Racowsky, C., de Mouzon, J., Sokol, R., Rienzi, L., Sunde, A., Schmidt, L., Cooke, I. D., Simpson, J. L., ve van der Poel, S. (2017).

- The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertility and sterility*, 108(3), 393–406.
- Zhang, J., Li, H., Wang, W., ve Li, H. (2022). Assessing the anti-inflammatory effects of quercetin using network pharmacology and *in vitro* experiments. *Experimental and therapeutic medicine*, 23(4), 301. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11230>
- Zhang, X., Wang, X., Wang, H. J., Yang, Q., ve Qie, M. R. (2009). *Sichuan da xue xue bao. Yi xue ban* = *Journal of Sichuan University. Medical science edition*, 40(2), 228–244.
- Zhang, J. J., Merhi, Z., Yang, M., Bodri, D., Chavez-Badiola, A., Repping, S., ve van Wely, M. (2016). Minimal stimulation IVF vs conventional IVF: a randomized controlled trial. *American journal of obstetrics and gynecology*, 214(1), 96.e1–96.e968.
- Zheng, S., Chen, Y., Ma, M., ve Li, M. (2022). Mechanism of quercetin on the improvement of ovulation disorder and regulation of ovarian CNP/NPR2 in PCOS model rats. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*, 121(6), 1081–1092. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2021.08.015>
- Zhou, J., Peng, X., ve Mei, S. (2019). Autophagy in Ovarian Follicular Development and Atresia. *International journal of biological sciences*, 15(4), 726–737. <https://doi.org/10.7150/ijbs.30369>
- Zivi, E., Simon, A., ve Laufer, N. (2010). Ovarian hyperstimulation syndrome: definition, incidence, and classification. *Seminars in reproductive medicine*, 28(6), 441–447.
- Zolti, M., Ben-Rafael, Z., Meirom, R., Shemesh, M., Bider, D., Mashiach, S., ve Apte, R. N. (1991). Cytokine involvement in oocytes and early embryos. *Fertility and sterility*, 56(2), 265–272. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)54483-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)54483-5)
- Zoungas, S., Chalmers, J., Neal, B., Billot, L., Li, Q., Hirakawa, Y., Arima, H., Monaghan, Matthews, D. R., ... ADVANCE-ON Collaborative Group (2014). Follow-up of blood-pressure lowering and glucose control in type 2 diabetes. *The New England journal of medicine*, 371(15), 1392–1406.

EKLER

EK-1 Mudem-Hadyek Etik Kurul



MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (MUDEM-HADYEK) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	Proje Yürütücüsü
07/02/2023	07/23	Prof. Dr. Recep KUTLUBAY

" Deneyisel Ovaryan Hiperstimulasyon Sendromu (OHSS) Modelinde Quercetin ve Cabergolin'in Etkilerinin Overlerde Yapısal ve Biyokimyasal Düzeyde Karşılaştırılması " başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna "Oybirliği" ile karar verilmiştir.

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Artay YAĞCI	
Başkan V.	Prof. Dr. Aziz BÜLBÜL	
Üye	Prof. Dr. Fatmagül YUR	- KATILMADI -
Üye	Doç. Dr. Nesrin Filiz BAŞARAN	
Üye	Doç. Dr. İlker AKARKEN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Nurettin ÇANAKOĞLU	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Egemen KAYA	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Serhat SEZGİN	
Üye	Arş. Gör. Doğan Can HANEY	
Üye	İhsan AŞÇIOĞLU	- KATILMADI -
Üye	Volkan YILDIZ	

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Deneysel Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS) Modelinde Quercetin ve Cabergolin’in Etkilerinin Overlerde Yapısal ve Biyokimyasal Düzeyde Karşılaştırılması” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Okşan UYAR GAZEZOĞLU

31/ 07 / 2025



ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : GAZEZOĞLU Okşan
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Muğla/ 31.10.1976
Telefon : 0 505 2257455
E-posta : droksan2@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2025
Y. Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2019
Y. Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi	2000

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2002-2004	Özel Yücelen Hastanesi	Hemodiyaliz Hekimi
2004-2005	Muğla SSK Hastanesi	Doktor
2005-2006	Menteşe Devlet Hastanesi	Doktor
2006-Halen	Muğla Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Hemodiyaliz Hekimi

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Huddam, B., Koca, E., Genek, D. G., Gazezoğlu, O. U., et al. (2016). Son Dönem Böbrek Yetmezliği Olan Diyabetik Hastada Repaglinid Bağlı Hipoglisemi Olgusu. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi, 3(2), 13-14.

Genek, D. G., Huddam, B., Karakuş, V., Yıldırım, B., et al. (2016). Glucocorticoid Induced Hypokalemic Periodic Paralysis in Subclinical Hyperthyroidism: Case Report / Glukokortikoid Kullanımına Bağlı Hipokalemik Periyodik Paralizi Gelişen Sublinik Hipertiroidizm Olgusu. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi, 3(3), 32-34.

Huddam, B., Gazezoğlu, O.U. (2017). Dekstrokardi Mi? Dekstropozisyon Mu? Vaka Sunumu. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi, 4(3), 21-22.

Uyar Gazezoğlu, O., Öztürk, F., Elbe, H., İlhan Çelik, Ö. (2019). İnsan Midesindeki Enteroendokrin Hücrelerin Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi, 6(3), 135-141.

Gibyeli Genek D., Alp A., Uyar Gazezoğlu O., Huddam B. Vascular access route venture of the chronic hemodialysis patient: A prospective cohort study. Vascular. 2024;33(2):325-334.