

99799

T.C  
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM  
ANABİLİM DALI

GONADOTROPİNLERLE OVARIAN HİPERSTİMÜLASYON OLUŞTURULAN  
RATLARDA, SENDROMU ÖNLEMEDE GONADOTROPİN RELEASİNG HORMON  
ANALOGUNUN ( BUSERELİN ) YERİ VE BU HORMONLARIN RATLARIN  
VAGİNAL SMİR VE HİPOFİZ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI.

Dr. AYŞE KAFKASLI

UZMANLIK TEZİ

.. ESKİŞEHİR - 1989

Andoim Kafkasli

## İ Ç İ N D E K İ L E R

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
YÖNTEM VE GEREÇLER.....	28
BULGULAR.....	34
SONUÇLAR.....	63
TARTIŞMA.....	66
ÖZET.....	86
KAYNAKLAR.....	88

## GİRİŞ

Kadıında infertilite nedenlerinin %15-25'ini over fonksiyon bozuklukları oluşturmaktadır(1,2,3). İnfertilite tedavisine yönelik ovulasyon indüksiyonu 1950'lerden beri yapılmaktadır(4). İlk önceleri indüksiyon sadece anovulatuvar kadınlarda uygulanırken, son zamanlarda; oligomenore, luteal faz defekti ve hatta invitro fertilizasyon programına alınan normal ovulasyonlu kadınlara da yapılmaya başlanmıştır(5,6,7).

Bu amaçla en çok kullanılan ilaçlar;Klomifen sitrat, Human Menapozal Gonadotropi(HMG), Human Chorionik Gonadotropin(HCG), Gonadotropin Releasing Hormon(GnRh)'dur(1-5,8).

GnRh diğerlerinden farklı olarak verilmiş şekline göre hem stimülatör hem de inhibitör etkiye sahiptir(2,6,7,9-13). Bu nedenle, özellikle hipotalamik kaynaklı ovulasyon bozukluklarında, ovulasyon indüksiyonu amacıyla kullanıldığı gibi, hormonal aktivitenin baskılanmak istendiği durumlarda, inhibitör etkisinden yararlanılabilmektedir(2,14). Her iki etki insanlarda ve yapılan hayvan çalışmalarında gösterilmiştir(3,4,7,9,10,12,13,15-20).

Ovulasyon indüksiyonunun yaygın olarak kullanılması, gebelik oranında artışın yanısıra tedaviye bağlı komplikasyonları da beraberinde getirmiştir. En sık rastlanan komplikasyonlardan ovarian hiperstimülasyon, en ciddi seyirli olanıdır(4,5,8,12).

Etyopatogenezi tam aydınlatılamamıştır. Bu konuda çalışmalar devam etmektedir. Sendromu önlemek için ovulasyon indüksiyonunun USG ile follikülometri ve idrar-serum östrojen seviyelerinin periyodik ölçümü ile takibi önerilmektedir. (21-24).

Planlanan çalışmada hayvan modelinde GnRh'nun inhibe edici etkisinden yararlanılarak ovarian hiperstimülasyon sendromunu önleme ve tedavisindeki etkinliği araştırılmıştır.

Denek olarak immatür dişi ratların seçilmesindeki neden; bakım, beslenme ve ilaç verimindeki uygunlukla birlikte, tedavi protokolünün etkinliğini ve morfolojik, histolojik, sitolojik değişikliklerle incelenmesindeki kolaylıktır.

Çalışmada aşağıdaki konuların açıklanması hedef alınmıştır.

1.28-30 günlük immatür dişi ratlarda HMG+HCG ile ovarian hiperstimülasyon geliştirilebilir mi?

2.Ovarian hiperstimülasyon sendromu geliştirilen immatür dişi ratlarda GnRh analogu sendromun önlenmesinde etkin midir?

3.İmmatür dişi ratların vaginal smearleri

a)HMG+HCG

b)HMG+HCG+GnRh analogu

c)GnRh analogundan nasıl etkilenmektedir?

4.İmmatür dişi ratların endometriyumlarının ışık mikroskopu düzeyindeki histopatolojik değerlendirilmesinde;

a)HMG+HCG

b)HMG+HCG+GnRh analogu

c)GnRh analogu veriminden sonra değişiklikler saptanmakta mıdır?

5.İmmatür dişi sıçanların hipofizlerinin elektron mikroskopi ile ultrastrüktürel yapılarında;

a)HMG+HCG

b)HMG+HCG+GnRh

c)GnRh uygulama sonrasında etkilenme gözlenmekte midir?

## GENEL BİLGİLER

Ovarian hiperstimulasyon sendromunun tanımı:

Ovulasyon induksiyonu sırasında ortaya çıkıp; geniş klinik belirti, bulgu ve laboratuvar değişiklikler spektrumu ile sonlanan iatrogenik bir sendromdur. Olguda sadece overlerde büyüme, kilo alımı gelişebileceği gibi, tabloya batında ascite, plevral effuzyon, elektrolit denge bozukluğu, hemokonsantrasyon, oligüri de eklenebilir(2,14,22-29).

Ovarian hiperstimulasyon sendromu(OHSS) ; sıklıkla Human Menapozal Gonadotropin(HMG), Human Korionik Gonadotropin (HCG) ile yapılan ovulasyon induksiyonları sırasında görülürse de, klomifen sitrat(CC) ve Gonadotropin Releasing Hormon(GnRh)'un kullanıldığı olgularda da gelişebilmektedir (1,13,30-33).

Tarihçe:

1958 yılında Gemzell, Diczfalusy ve Tillinger'in human pituiter FSH ve HCG'yi amenoreik kadınlarda, ovulasyon indüksiyonu amacıyla kullanmaya başlamalarıyla birlikte tedavinin komplikasyonları ortaya çıkmıştır. 1961 yılına kadar gebe kısrak serumuyla ovulasyon indüksiyonu denenilen olguların artışında hiperstimulasyon gelişmiş, bunların 2'si intraabdominal kanama, 1'i tromboemboli sonucu kaybedilmiştir(24-27,33).

1961'de Greenblatt'ın klomifen sitratla, 1962'de Lunenfeld'in HMG ile ilk kez gebelik bildirmeleri, bu ajanların daha yaygın kullanılmasına neden olmuştur. Son yıllarda anovulasyon ve amenore dışında, luteal faz defektleri, oligomenore, servikal mukus bozukluğu, invitro fertilizasyon için multiple ovulasyon oluşturmanın ovulasyon induksiyonu endikasyonları arasına girmesi, tedavi sırasında gelişen komplikasyonlara yönelik araştırmaları artırmıştır. En ciddi komplikasyon olan OHSS'na yönelik çalışmalar hızlanmış ve bu konuda insanlardaki uygulama ve hayvan modellerinden veriler toplanmaya başlanmıştır(23-35).

#### İnsidans:

Ovulasyon induksiyonunda farklı kliniklerin farklı uygulamaları ve izleme yöntemleri OHSS insidansını etkilemektedir. OHSS görülme insidansı %0-23'tür. Klinik olarak %8-23 hafif, %6-7 orta ve %2-0 oranında şiddetli OHSS'u görülmektedir(4,5,24,29).

En sık; gonadotropinlerle yapılan ovulasyon induksiyonu sırasında OHSS ortaya çıkmaktadır. GnRh OHSS gelişimi açısından gonadotropinlere oranla daha güvenilir olmakla birlikte, GnRh uygulaması sırasında da hiperstimulasyon geliştiği bildirilmiştir(4,36).

Ovulasyon induksiyonunun; USG ile follikulometri ve serum, idrar östrogen düzeyleri ile izlenmesi OHSS riskini azaltır. Ancak gebelik oluşması için yeterli over ce-

vabı oluşturacak doz ile OHSS geliştirebilecek ilaç dozu birbirine çok yakındır. Bu nedenle gebelik elde edebilmek için hafif OHSS gelişme riskinin göze alınması gerektiğini iddia edenler vardır(28,32,33,37,38).

OHSS ve gelişmesi açısından endogen östrodiol( $E_2$ ) ve LH seviyesi yüksek olan PCOS'lu genç, oligomenoreik anovulatuvar infertilitesi olan ve HCG uygulaması sırasında overlerinde çok sayıda follikulu bulunan hastalar yüksek riskli hasta gruplarıdır(35,38). Anovulatuvar hastalar dışında İVF-ET programına alınan normal ovulatuvar sikluslu hastalar aynı riski taşımaktadırlar(28).

#### Etyoloji:

OHSS ovulasyon induksiyonu sırasında gelişen iatrojenik bir sendromdur. Spontan ovulatuvar sikluslarda hiç rastlanmamıştır. Etyolojisi henüz kesinlikle anlaşılamamakla birlikte, yapılan çalışmalarda bazı ipuçları elde edilmiştir(23,25,27,28,35,39).

OHSS sıklıkla HMG ile ovulasyon induksiyonu yapılan hastalarda ve hayvan deneylerinde görülmektedir. Ancak CC ve GnRh'nun tek başlarına veya gonadotropinlerle kombine uygulanmaları sırasında da aynı sendrom gelişebilmektedir.

OHSS gelişiminde dikkati çekici nokta tablonun HCG enjeksiyonunu takiben daha sık ortaya çıkmasıdır. HCG enjeksiyonu sırasında plazma östrodiol( $E_2$ ) seviyesi 1500pg/ml, idrar östrogen seviyesi 180mikrogr/24 saatin üzerinde olanlarda sendromun görülme oranı artmaktadır. Artan östrojenin, insan uteru-



sunda, su emilimi, elektrolit değişikliği, hiperemi, vazodilatasyona neden olduğu, Cecil, Hannum ve Bitman tarafından gösterilmiştir(25).

Tavşan ve ratlarda yapılan deneylerde artan östrogen seviyesine paralel olarak uterus ve overlerde kapiller permeabilite artışı saptanmıştır. Ancak bu etkinin dişi tavşanlara yüksek doz östrogen enjeksiyonu ile oluşturulamaması, OHSS gelişiminden direkt östrogenlerin sorumlu tutulmasını önlemektedir. Erkek tavşan ve ratlara yüksek doz HMG vermekle, OHSS geliştirilmezken, önceden overleri extraperitonealize edilen tavşanlarda bile sendromun görölmesi, overlerden, kapiller permeabiliteyi arttıran ve sıvının peritoneal kaviteye geçişini sağlayan bir metabolitin sekrete edilişi sonucunu ortaya çıkarmaktadır(25, 26,35).

OHSS gelişimi ve sendromun şiddeti HMG dozu ile bağlantılıdır. İnsanlarda HMG dozu yanısıra hastanın HMG'ne verdiği cevap önemliyken, hayvanlarda sadece doz etkili faktördür. Sendromun gelişebilmesi için HCG enjeksiyonu gereklidir, ancak bu etki HCG dozundan bağımsızdır(26,27,35,38).

#### Patogenez:

OHSS'da ana klinik bulgu, overlerdeki multiple follikul kistlerine bağlı büyüme, laboratuvar olarak ta artmış plazma  $E_2$  idrar 17 B östriol seviyeleridir. Patogenezin açıklanması bu 2 önemli bulguya dayanmaktadır. OHSS gelişen insanlarda yapılan incelemeler ve tavşan,rat modellerindeki deneylerde artan plazma  $E_2$ 'nun over ve uterusu kapiller permeabiliteyi arttırdığı sap-

tanmıştır(23,25,26). Overleri extraperitonealize edilen dişi tavşanlarda sendromun görülmesi, erkek tavşan ve ratlarda yüksek doz HMG'ye rağmen tablonun oluşmaması over kaynaklı bir maddenin etken olduğunu vurgulamaktadır(26). Bunun yanı sıra, normal yada normalin hemen üzerindeki plazma östradiol seviyelerinde de OHSS görülen alanlar bildirilmiştir(32,35).

Cecil, Hannum ve Bitman östradiol enjeksiyonundan sonra doza bağlı olarak albuminin extravasküler alana kaybının arttığını göstermişlerdir(11).

OHSS'nun gelişmesinde, hiperstimüle overde massive östrogen yapımından hareketle, klomifen sitrat gibi östrogen antagonistlerinin sendromun tedavisinde kullanılabileceği ileri sürülmüş, ancak dışarıdan verilen yüksek doz östrogenin deney hayvanlarında benzer sendrom oluşturamaması bu hipotezi geçersiz kılmıştır. Androgen ve progesteronda E.antagonistidirler. Ancak, bu sendromda plazmada yüksek seviyede bulunmaları etkilerini şüpheli kılmaktadır(22,33). Östrogenlerin yanısıra prostoglandinler, OHSS de görülen vasküler permeabilite değişikliklerini oluşturan önemli mediatörlerdir. Bu nedenle, prostoglandin sentetaz inhibitörleri tavşanlarda OHSS tedavisinde kullanılmış, Pride ve arkadaşları prostoglandin sentetaz inhibitörleri ile asit oluşunun baskılandığını bildirirken, Sheila ve ark. aynı sonucu alamamışlardır(23,40). Prostoglandin sentetaz inhibitörlerinden indomethacin'in yüksek konsantrasyonları;prostoglandinlerden bağımsız olarak siklik adenezine monofosfataza bağlı protein kinazı inhibe ederek steroid hormon üretimini et-

kilemekte, ancak bu mekanizma ile OHSS'nun klinik tablosunu önleyememektedir(23).

Wurtman; luteinizan hormonun over perfuzyonunu arttırdığını, overlerde hiperemi ve ağırlık artışına neden olduğunu göstermiştir. Histamin, overlerde benzer değişiklikler oluşturmaktadır. Bu nedenle antihistaminikler(klor profen pridamin maleat ve klor fenoksamin hidroklorid) HMG ile OHSS oluşturulan tavşan ve farelere verildiğinde, OHSS'nun bulguları olan overlerde büyüme, kistik follikül formasyonu, plevral ve peritoneal sıvı toplanması görülmemiştir(22,24).

OHSS'da üçüncü boşluğa hızlı mayi akışının nedeni açıklanamamıştır. Artan plazma  $E_2$  seviyesinin kapiller alanda permeabiliteyi arttırması ve albuminin ekstravazasyonuna neden olması asit oluşumunda öne sürülen hipotezlerdir. Samanth ve Black peritoneal serbest mayinin overlerin yüzey alanı, kitle ve hacmi ile yakın ilişkisi olduğunu bulmuşlardır(2,14,25,41). Ancak, Shila ve ark. HMG ile OHSS oluşturdukları tavşanlarda, asit formasyonu ile over ağırlığı arasında sabit bir ilişki saptayamamışlardır. İnsanlarda; overlerin 12cm. den büyük çapa ulaştığı şiddetli ovarian genişlemede klinik olarak asit görülme oranı %36'dır.

İnsanlarda, OHSS folliküler ve luteal hiperstimulasyonla birlikte iken, tavşan ve farelerde folliküler hiperstimulasyon ciddi luteal hiperstimulasyon olmaksızın gelişmektedir(23,24).

Polishuk ve Schenker; asit oluşumunda uterusun varlığının ve yüksek doz östrojen - progesteron veriminin etkili olmadığını

belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar tarafından HMG ile OHSS geliştirilen dişi tavşanlarda asit oluşumu; stimule edilen overlerden kapiller permeabiliteyi arttıran bir madde salgılanması veya genişleyen overlerdeki lenfatik, venöz dolaşımdaki staza bağlı iki hipotezle açıklanmıştır. Kapiller permeabilitede artış overlerin yanısıra periton, omentum, plevrada da gözlenebilmektedir(27).

Asit mayinin cinsi açık değildir. Newwirth, Türksoy, Wendewiele; OHSS'lu hastaya yaptıkları laparotomide asit mayini incelemişler ve protein içeriğinin eksuda yapısında olduğunu saptamışlardır. Sıvıdaki fazla protein miktarı, serumdaki düşük albumin seviyesini açıklayabilmektedir(25).

Intravasküler alandan protein ve sıvı kaybı sonucu hipovolemi ve hemokonsantrasyon gelişir. Klinik olarak hipotansiyon, santral venöz basınçta düşme, taşikardi saptanır. Hipovolemi ciddi ise renal perfüzyon düşer, artan tuz ve su reabsorbsiyonuna sekonder olarak proksimal tüpte oligüri ve üriner Na'da düşme olur. Düşük üriner Na, distal tüpte  $H^+$  ve  $K^+$ 'un Na ile değişimini önleyerek  $H^+$  ve  $K^+$  birikimine ve hiperkalemi asidozun gelişimine yol açar. Düşük üriner akımla, üre geri Emilimi artar, kanda üre nitrogeni yükselir. Kreatinin proximal tübten emilmediğinden üre nitrogenine oranla daha hafif artış gösterir. Na ve suyun hızla üçüncü boşluğa geçmesi, hastada sıvı retansiyonu, hiperkalemi ve azotemiye rağmen hipovolemi gelişmesine neden olur. Abdominal kitle asit ve hipovolemi renin üretimini arttırır, bu da aldosteron artışına neden olur(2,14,22,24,25).

İnsanlarda hemotokrit, hemokonsantrasyona bağılı olarak %50'ye kadar ulaşabilir, ancak hayvanlarda hemokonsantrasyonla ilgili bulgu bildirilmemiştir(24).

Klinik Tablo:

Hayvan modellerinde OHSS sınıflaması yapılmamıştır. İnsanlarda OHSS Rabau ve ark. yaptığı sınıflama kabul edilmektedir(22).

Tanı:

Hayvanlarda OHSS tanısı; klinik olarak vücut ağırlığı, over ve/veya over+uterus ağırlığında artma, asit ve hidrotorax oluşumu, laboratuvar olarak; yüksek  $E_2$  düzeyi, histolojik olarak; overlerde, stromal ödem, kistik veya kanamalı follikuler, multiple corpus luteum varlığı ile konabilir(22-24,40).

İnsanlarda; OHSS tanısı 3 günde 2-3kg. kilo alımı, serum-idrar östrogen seviyesinde yükselme, USG ile 1 overde 4' den fazla dominant follikül saptanması ile konur(24).

Gonadotropin Releasing Hormon:

GnRh; hipotalamusta, nucleus arcuatus ve preoptik alandaki peptiderjik nöronların gövdesinde sentezlenip, hipofizer portal venöz sistem aracılığı ile hipofiz ön lobdaki gonadotropik hormon reseptörlerine bağlanarak, gonadotropin(FSH,LH) salgılanmasına neden olan dekaeptittir. Hipotalamus dışında, pankreas ve placentada da bulunabilir(11,14,15).

İlk kez 1971 yılında Schally ve ark.tarafından kimyasal yapısı açıklanıp, sentezlenmiştir(15).

GnRh'nun sekresyon mekanizması tam olarak anlaşıl-  
mamıştır. Normal menstruel sikluslu kadınlarda 60-120 bir  
pulsatil olarak salgılanır. Salgılanma amplitut ve frekans,  
katekolaminler, nöropeptitler, steroid hormonlar, psikolo-  
jik faktörler tarafından etkilenmektedir. Hipotalamusta sen-  
tezlenip portal venöz yolla hipofiz ön lobuna gelen GnRh,  
gonadotrop hücre reseptörlerine bağlanarak, cAMP ve Ca ara-  
cılığı ile gonadotropuları;

1-Gonadotropinlerin sentezi ve depolanması

2-Depo gonadotropinlerin, salgıya hazır gonadotropin-  
ler haline gelmesi,

3-Gonadotropinlerin hemen salgılanması şeklinde etki-  
lemektedir.

Bu etkilere bağlı olarak I.V tek doz GnRh'na cevap 30'  
içinde LH piki, 90' sonra bu pikin düşmesi ve 4 st sonra 2.bir  
pik şeklindedir(2,14,15,20).

Endogen GnRh'nu ölçmek, sentezlemek ve tedavide kullan-  
mak, salgılanan hormonun çok az bir kısmının perifere geçmesi  
ve yarı ömrünün 2-4' gibi kısa olması nedeniyle zordur.Bu zor-  
luklar gözönüne alınarak aynı özelliklere sahip ancak; biolojik  
aktiviteleri yaklaşık 100 misli arttırılmış, plazma yarılama  
ömürleri uzatılmış, GnRh reseptörlerine bağlanma kapasiteleri  
yükseltilmiş analogları sentezlemiştir(1-5,11,15).

GnRh Etkisi:

GnRh analoglarının sentezinden sonra uygulama süresi  
ve dozuna bağlı olarak farklı 2 etkisi saptanmıştır.

1-Hormonun fizyolojik dozlarda endogen GnRh benzer şekilde pulsatil verilmesi gonadotrop hücrelerden FSH-LH sentez ve sekresyonunu stimule eder, hipofizin GnRh karşı duyarlılığını arttırır(UP REGULASYON).

2-Uzun süreli farmakolojik dozlarda verilmesi gonadotroplardaki GnRh reseptörlerini duyarsızlaştırarak, gonadotropinlerin sentez ve sekresyonunu azaltır(DOWN REGULASYON).

GnRh Analogları:

1-Antagonist Analogları

2-Agonist Analogları

Antagonist Analogları:

GnRh reseptörlerini bloke ederek, FSH-LH salgısını önleyip ovulasyon inhibisyonu oluşturacak uzun süre etkili nonsteroid bir kontraseptif ilaç elde edebilmek amacıyla ilk kez antagonist analogları sentezlenmiştir. Ancak histamin deşarjı gibi istenmeyen etkileri klinikte yaygın kullanımlarını önlemektedir.

Agonist Analoglar:

Veriliş doz ve süresine göre farklı etkileri nedeniyle klinikte pituiter gonadal fonksiyonun aktivasyonu, inhibisyonu ve kontraseptif amaçlarla kullanılmamaktadır.

GnRh Analoglarının Veriliş Şekilleri:

GİS'te hızla proteolizi nedeniyle oral kullanılamazlar. Vaginal-rektal yolla kullanımları araştırma safhasındadır. Halen klinikte I.V subcutan uygulanabilen solusyonları, trans-nasal uygulanabilen spreylere kullanılmaktadır. Aralıklı S.C

ve I.V uygulama için otomatik infuzyon pompaları vardır(2,9, 10-14).

İnsanlarda GnRh Analogları ile Yapılan Uygulamalar  
ve Alınan Sonuçlar:

Pituiter-Gonadal Fonksiyonlarda Aktivasyon Amacıyla  
Kullanım:

-Bilateral veya unilateral kriptorşidizimli erkek çocuklarda 4 hafta süre ile intranasal günde 3-6 kez 200mikrogr GnRh verilmesi %38-55 oranında testikuler descent sağlamıştır (42-45).

-İdiopatik hypogonadotropik hypogonadlı GnRh testi (+) erkeklerde 10ng/kg/2st ara ile S.C uygulama sonrası 4 gün içinde FSH,LH seviyesi yükselmiştir. Ancak daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kongenital veya edinilmiş GnRh yetersizliği olan fizik, psişik, nutrusyonel strese bağlı GnRh salgısı suprese edilmiş amenoreik infertil kadınlarda, uygun doz ve aralıkla exogen GnRh verilmesi yeterli ovulatuar fonksiyonları ve fertilitayı sağlamaktadır. Ayrıca (-) feed back mekanizmalarının intakt olduğu PCOH hiperprolaktinemi, LFD, C.mukus yetersizliği, IVF için multiple follikul gelişimi istenen hastalarda GnRh ovulasyon induksiyonu amacıyla OHSS açısından daha güvenilir olarak kullanılmaktadır.

Hipotalamik-hipogonadotropik hastalarda iyi sonuçlar alınmasına karşılık polikistik overli ve hiperandrojenik hastalarda sonuçlar pek iyi değildir(1,2,3,13,15,46).

Hipotalamik hipogonadizimli kadınlarda GnRh IV ve S.C



pulsatil verilmesi sonucu %100-85 oranında ovulasyon %74-30 gebelik elde edilmiştir(10,11,15,18,46-49).

PCOH'lı hastalarda gonadotropinlerle ovulasyon induksiyonunun OHSS gibi bir risk taşıması nedeniyle, bu grup hastalarda tedavide GnRh kullanılmaya başlanmış, kısa sürede plazma östradiol , testesteron, androsterediol ve LH seviyelerinde düşüş saptanmış. Farklı araştırmacıların bildirdikleri sonuçlara göre GnRh %83-50 arasında ovulasyon, %10-20 gebelik sağlanmıştır(1,4,48,50).

GnRh+gonadotropinler ovulasyon induksiyonunda kullanılan tedavi protokollerindedir. Bu kombinasyonlarda başarıları sonuçlar bildirilmiştir(46,51-55)

Pituiter Gonadal Fonksiyonlarda İnhibisyon Amacıyla Kullanım:

Exogen GnRh'nun gonadotropinleri bir sonraki exogen GnRh veya endogen GnRh'na karşı spesifik reseptör sayısını ve ikincil haberci fonksiyonunu azaltmasına bağlı duyarsızlaştırma etkisinden yararlanılarak klinikte kullanılmaktadır.

Bu amaçla endometriosis, myoma uteri, postmenapozal sendrom, hormon-bağımlı tümörlerin tedavisinde kullanılıyor- sa da, ana hedef kontrasepsiyonu sağlamaktadır(11,12,19,20, 46,56,57). Kadınlarda, follikuler fazda, günlük düşük doz (200-400Mikrogr/gün intranasal) GnRh uygulaması follikuler maturasyonu engellemeksizin, preovulatuvar östrodiol pikini önleyerek ovulasyonu inhibe etmekte, tedavinin kesilmesinden sonraki ilk siklusta etki ortadan kalkmaktadır(11,12,20,58)

Kontraseptif etki oluşumunda GnRh'ın direk gonadal

etki ve kontra gestasyonel aktivitesi insanlarda gösterilememiştir(46).

GnRh ile ovulasyon inhibisyonu yapılan kadınlarda, endometriuma uzun süreli östrogen etkisinin hiperplaziye neden olup olmayacağı araştırılmış, ancak endometrium örneklerinde yapılan ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar, endometriumun inaktif veya zayıf proliferatif faz özelliğini taşıdığını göstermektedir(59). GnRh'a siklusun 15-21.günü progesteron eklenmesi düzenli kanamayı sağlamaktadır(58).

#### GnRh Analoglarının Yan Etkileri:

GnRh analogları karaciğerde metabolize edilmekte, yaklaşık %5'i değişmeden idrarla atılmaktadır. Emilimi, idrarla atılan miktarla monitorize edilebilir.

Kateter veya perfuzyon pompası ile uzun süreli I.V,S.C kullanım sırasında, kanama, emboli, enfeksiyon, yüzeysel flebit gibi yan etkiler gelişebilmektedir. GnRh uygulaması ile OHSS görülme oranı %7'dir. Spontan abortus %20 olguda saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda uzun süreli kullanım sonrası; karaciğer, böbrek, pankreas, kardiovasküler fonksiyonlara, kan biokimyası, kan koagülasyon ve tam kan tablosuna etkileri gösterilememiştir (11,36,46,60). Bu organların insan ve hayvan modellerinde histolojik özelliklerini bildiren yayına literatür taraması sırasında rastlanılmamıştır.

#### GnRh ve Analogları ile Yapılan Hayvan Deneyleri ve Sonuçları:

GnRh ve analogları; tavşan ve ratlar başta olmak üzere birçok hayvanda, transnasal, IV, S.C yollarla deneysel amaçlar-

la kullanılmıştır(11,17,20,23,40,42,45).

GnRh'a en iyi cevap hipofizektomize, östrojen-progesteron uygulanmış immatür dişi ratlarda alınmakta, cevap ani LH salgılanması şeklinde olmaktadır. Minimal efektif GnRh dozu 1ng/rat olarak bildirilmektedir(11,47). Sandow ve ark. aynı grup ratlarda 3ng/gün I.V GnRh vererek normal matür ratlardakine benzer 4 günlük ovulatuvar siklus sağladıklarını bildirmişlerdir. Erkek ratlarda 20-80ng GnRh'nun 2-4 st. süreli infuzyonu FSH, LH, testesteron salgısını arttırmakla birlikte, prepubertal dönemdekilerde spermatogenezi başlatabilmektedir(11).

Günlük GnRh uygulamasına rağmen gonadotropin salgısını etkilemeyen minimal GnRh dozuna fizyolojik doz, GnRh dozunda artışa paralel olarak gonadotropin sekresyonunu inhibe eden doza suprafizyolojik doz denmektedir. Fizyolojik dozla suprafizyolojik doz arasındaki oran yapılan deney koşullarına bağlı olarak 10-50 katı kadar değişebilmektedir. GnRh'nun inhibisyon etkisi matür dişi ratlarda ovulasyon önlenmesi, siklusun diostrius fazında durdurulması şeklindeyken, immatür dişi ratlarda; vagenin açılmasında gecikme, overler ve uterusu ağırlık artışının önlenmesi, follikul matürasyonunun inhibe edilmesi gibi pubertal değişikliklerin supresyonu ile birlikte dir. Ancak bu etkiler ilacın kesilmesinden sonra geri döner(11,57).

Fizyolojik dozlarda verilen GnRh ile yapılan çalışmalarda günde 2-4 mikrogr GnRh dozu tavşanlarda ovulasyon indüksiyonuna neden olmaktadır. Ratlarda bu doz 3ng'dir(11).

GnRh'nun suprafizyolojik dozlarda verilimi ile ortaya çıkan inhibitör etkisini araştırmak amacıyla birçok hayvan deneyi yapılmıştır.

Hsueh ve ark. hipofizektomize immatür dişi ratları, kontrol, sadece FSH verilen, FSH+GnRh analogu verilenler olmak üzere 3 gruba ayırmışlar, FSH verilenlerde granuloza hücrelerinde kontrol grubuna göre 66 katına ulaşan LH/HCG reseptörlerinde artış, overin histolojik incelemesinde çok sayıda olgunlaşmış rat follikülü, stromada luteinizasyon, over ve vücut ağırlığında artış saptarken, FSH+GnRh analogu verilenlerde; FSH verilenlerle karşılaştırıldığında LH-HCG reseptörlerinde %82 oranında azalma, az sayıda antral follikül, stromada belirgin luteinizasyon, östrojen üretiminde %40, progesteron üretiminde %20 oranında düşüş gözlemişlerdir. FSH+GnRh uygulanan grupta vücut ve over ağırlığı daha düşüktür. Bu bulgular; GnRh'nun antipituiter etkisi yanısıra overlerin granuloza hücrelerindeki kendi reseptörleri aracılığı ile antigonadal etkisinin bulunduğunu kanıtlamaktadır. Stromada artmış luteinizasyon GnRh'na rağmen FSH etkisiyle gelişen prematür luteinizasyon şeklinde açıklanmaktadır. Ayrıca aynı deneyde GnRh granuloz hücrelerinde, prostoglandin  $E_2$  ve choleratoxinin neden olduğu  $E_2$  üretimini inhibe ettiği invitro çalışma ile gösterilmiştir(63).

Öte yandan Mayar ve ark.; immatür dişi ratlarda GnRh analogunun direk overler üzerine mi yoksa hipofiz üzerinden mi etkili olduğunu anlamak amacıyla bir gruba HCG, bir gruba HCG+GnRh analogu, diğer gruba ise GnRh enjekte ettikten sonra, over hipofiz, uterus, adrenallerde hormonun doku serum oranını ince-

lemişler, HCG+GnRh ve GnRh verilen gruplarda doku serum oranlarını düşük, HCG verilen grupta yüksek bulmuşlardır. GnRh'nun tek veya HCG ile birlikte uygulanması sonucunda over ve hipofiz tarafından yarışma yolu ile dokuya alındığı sonucuna varmışlardır. Bu çalışmada hipofizektomili deneklerde de aynı bulguların gözlenmesi, hipofizin yanısıra overlerinde GnRh reseptörleri içerdiğini göstermektedir(64).

Johnson ve ark.; immatür ve matür dişi ratlara günde 2 doz GnRh vererek puberte ve üreme fonkisoynları üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda immatür ratlarda GnRh verilmesi ile vaginal açılma zamanının geciktiğini, over-uterus ağırlığının azaldığını, matür ratlarda uterus ve overlerde benzer etkinin yanısıra overin histolojik incelemesinde folliküller atrezi, korpus luteumda atrofi saptamışlardır. Bu bulgular diğer yazarların bulguları ile uyumludur(65).

Rippel ve Johnson; immatür dişi ratlarda, HCG'nin overleri exogen FSH'na karşı duyarlı hale getirdiğini, tedaviye GnRh eklenmesiyle FSH'nun HCG stimülasyonu sonucu oluşturduğu over ve uterustaki ağırlık artışını önlediğini göstermişlerdir (66).

Kledzik; normal 4-5 günlük siklusu olan ratlara diöstrus sabahı GnRh uygulaması ile overlerde proöstrus döneminde maksimum seviyeye ulaşan FSH-LH reseptör sayısının önemli derecede azaldığını, 8-200ng/gün GnRh dozu ile FSH reseptörlerindeki azalmanın %25-40 oranında olduğunu saptamışlardır. Daha yüksek dozlarda bu inhibitör etki artmamıştır. Ayrıca, overlerdeki LH reseptörlerindeki azalmayla birlikte uterusun ıslak ağırlığında

belirgin düşüş, plazma progesteron düzeyinin beklenenin altında saptanması ilgi çekicidir(62).

Rivier; normal sikluslu ratlarda gebeliğin başında GnRh verilmesiyle, normal gebelik süresi uzarken blastokistlerin implantasyonundan sonra verilmesi sonucu blastokistlerin resorbe olduğunu bildirmiştir(17).

Aynı şekilde GnRh'nun gonadal ve hipofizer seviyede inhibitör etkisi erkek ratlarda, koçlarda ve köpeklerde Sharpe, Aurlair, Froser tarafından saptanmıştır(67-69).

GnRh'nun overler ve hipofiz üzerine direk inhibitör etkiden yola çıkarak Pride ve ark. tavşanlarda HMG ile oluşturdukları OHSS tedavisinde danazol ve prostoglandinlerin yanısıra GnRh denemişler ancak başarılı olamamışlardır(22).

GnRh'nun hipofiz düzeyinde inhibitör etkisi, plazma LH, FSH düzeyleriyle izlenmiştir. Ancak hipofizdeki gonadotropoların ultrastruktürel yapıları açıklıkla belirtilmiştir. Bu hücreler elektron mikroskopta; yuvarlak şekilli sitoplazmik granülleri ufak, sitoplazma içinde homojen dağılım gösteren, nükleusları lobüle bazofilik karakterlidirler(70). Gonadotropoların inhibitör veya stimülatör etkiye bağlı olarak sekretuar aktiviteleri değişir. Stimülatör etkiyle sitoplazma içinde granül sayısı artar. Endoplazmik retikülüm sisternalarında genişleme görülür, golgi cisimcikleri sayıca artar. İnhibitör etki sonucu salgının birikmesine bağlı sitoplazma içinde veziküller genişlemeler görülür(71-74).

**Ratların Üreme Sistemlerinin Anatomi ve Fizyolojisi:**

Ratlar, kemirgenler sınıfından olup, memeli hayvanlardır.

Beslenmesinin kolaylığı, anatomik yapısının uzunluğu nedeniyle deney hayvanı olarak sıklıkla kullanılırlar. 35.güne kadar immatür, 35 günden sonramatür olarak değerlendirilirler. İmmatür dönemde ağırlıkları 40-60gr. iken, matür dönemde 200-250gr'a kadar ulaşır. Over ağırlıkları immatür dönemde 15mg., uterus ağırlıkları 25mg. kadardır. Uterusları bikornus şeklindedir, çift serviksleri, tek vagenle sonlanır. Her iki uterus ucunda birer adet çevresi kapsülle sarılı overleri bulunur(Şekil 1). Bu kapsül ile oviductları arasında ince porlarla ovum geçişi sağlanır. İmmatür dönemde kapalı olan vagen, östrogen etkisiyle ortalama 38. günde açılır. Dişi ratların genital organlarında insanlardakine benzer hipofiz ve overlerden kaynaklanan siklik değişiklikler olur. Değişikliklerin olduğu periodlara insanlardaki menstrüel siklusun karşılığı olarak östrus siklusu denir. Bu sikluslar sırasında doğumda var olan binlerce oositte sadece bir kaçını kullanılır, geriye kalanlar atreziye uğrarlar. Reprodüktif fonksiyonlar üzerine endokrin sistemin yanısıra ışık hızı, beslenme gibi çevresel faktörlerde stimülatör veya inhibitör yönde etkili olabilirler. Sürekli aydınlık ortamda bulunan ratlarda polikistik over gelişirken, beslenmenin yetersiz olması, infertiliteye neden olabilmektedir.

Reprodüktif sistemdeki siklik değişiklikler ön hipofiz ve overlerden salgılanan hormonlarla regüle edilir. Hipotalamustan salgılanan GnRh etkisi ile LH piki sağlanır. Ovulatuvar dönemde LH yanısıra salgılanan FSH follikül gelişimini sağlar. LH pikini takiben ovulasyon olur, ovulasyon koit olmaksızın spontan gelişir. Oosit overden dışarı atılır, follikül korpus

luteum haline gelir. Progesteron salgılamaya başlar. Progesteron salgılanması aynı dönemde artan prolaktin ile stimüle edilir. İki hafta süren bu döneme pseudopregnancy denir. Ratlarda pseudopregnancy otomatik değildir. Koitus veya östrogen tedavisi, cerrahi veya kimyasal yolla nöroendokrin kontrolün bozulması gibi deneysel amaçlarla indüklenmesi gerekir.

Ovulasyon, preoptik veya hipotalamik harabiyet, sürekli aydınlık ortamda tutulma, neonatal dönemde androgen verilmesiyle önlenabilir. Herhangi bir nedenle östrus sikluslu ratlarda ovulasyonun önlenmesinden sonra, tekrar ovulasyon koitusla stimüle edilebilir.

Ratlarda normal bir siklus 4-5 günde tamamlanır. Siklus kabaca 4 faza ayrılabilir. Vagen epiteli siklusun her fazına özgü değişiklikler gösterebilir. Bu değişiklikler günlük vaginal smirlerle siklusun izlenmesine olanak sağlar(Şekil 6). Bu fazlar şunlardır:

1-Östrus:9-15 saat sürer. Rat bu dönemde oldukça hareketlidir. FSH etkisiyle folliküller gelişir. Vagen epitelinin superfisiyal tabakası squamöz ve kornifiye özellik kazanır. Vagen lumenine dökülen epitel hücreleri arasında tek tük lökositler vardır. Ovulasyon bu dönemde olur(Şekil 2).

2-Metöstrus:Ovulasyondan sonraki dönemdir. 10-14 saat sürer. Smirde bol lökosit, birkaç kornifiye hücre vardır(Şekil 3).

3-Diöstrus:60-70 saat sürer. Değişik tipte epitel hücreleri boldur. Mukus ve lökosit bu hücrelerle birlikte dir(Şekil 4).

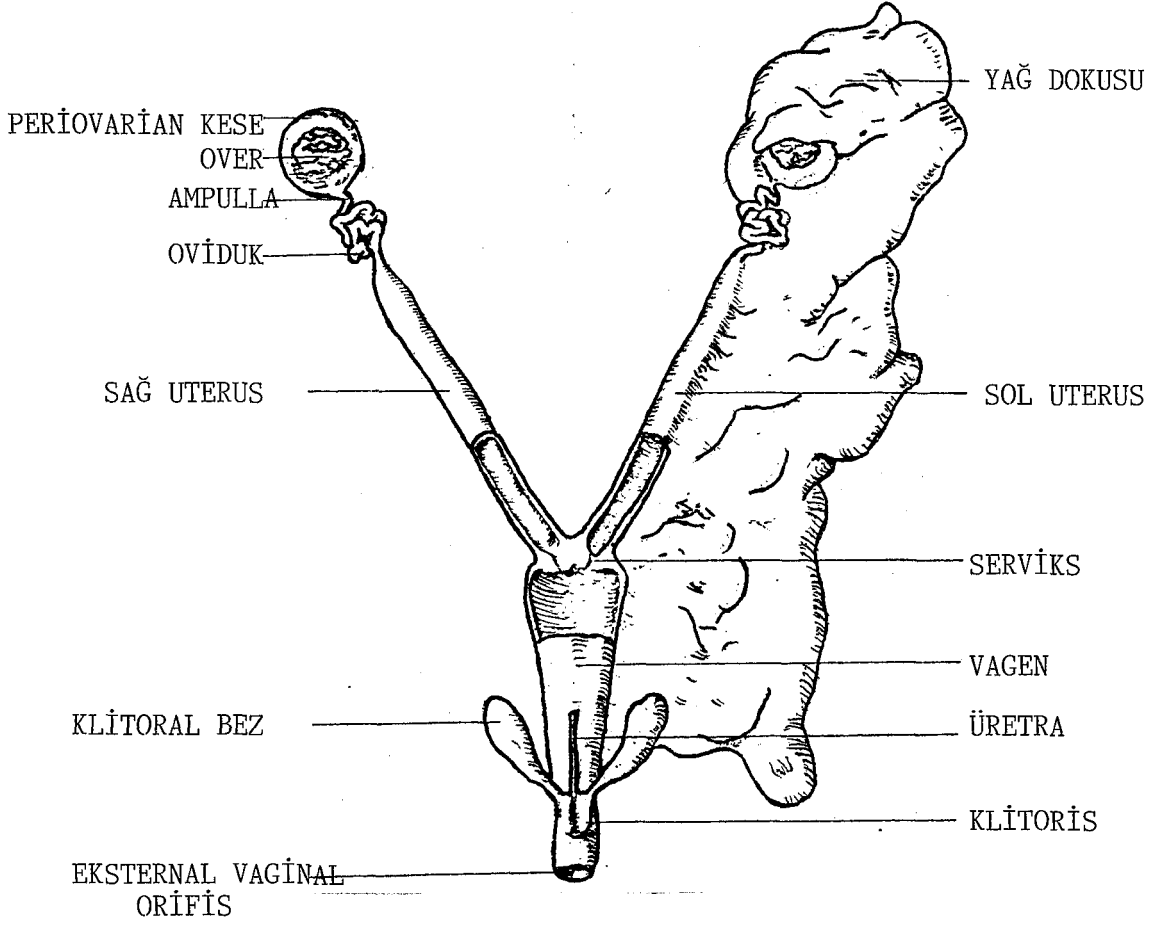


4-Proöstrus:12 saat sürer. Vaginal epitel çoğalmıştır. Hücre nükleusları ovaldır ve hücrenin merkezindedir. Lökosit ve mukus nadirdir(Şekil 5).

Exogen, östrogen, androgen verilmesi siklusun diöstrusta kalmasına neden olabilmektedir.

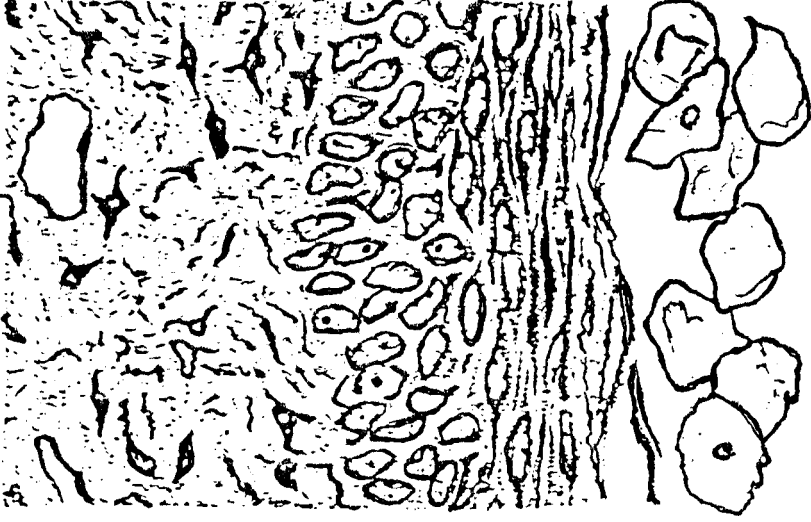
Ratlarda vaginal smir alım tekniğinin ve değerlendirilmesinin kolaylığı, hormonal aktivitenin günlük smirlerle izlenmesini sağlamaktadır(71,75).

Krisha, Johnson, Ires, Kledzik ratlarla yaptıkları çalışmalarda siklustaki değişiklikleri günlük vaginal smirlerle izlemişlerdir(65,66,73,75).

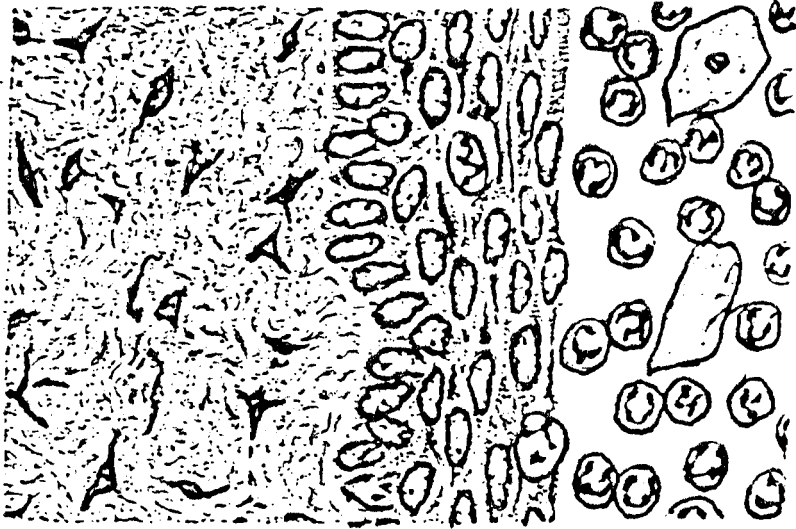


ŞEKİL 1: Normal bir ratın dişi genital organı.

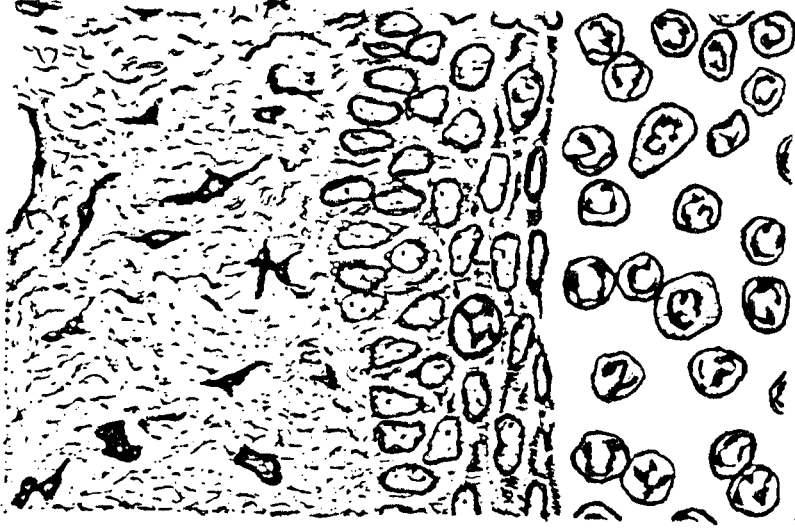
Sağ tarafta çevre yağ dokusu temizlenmiştir.



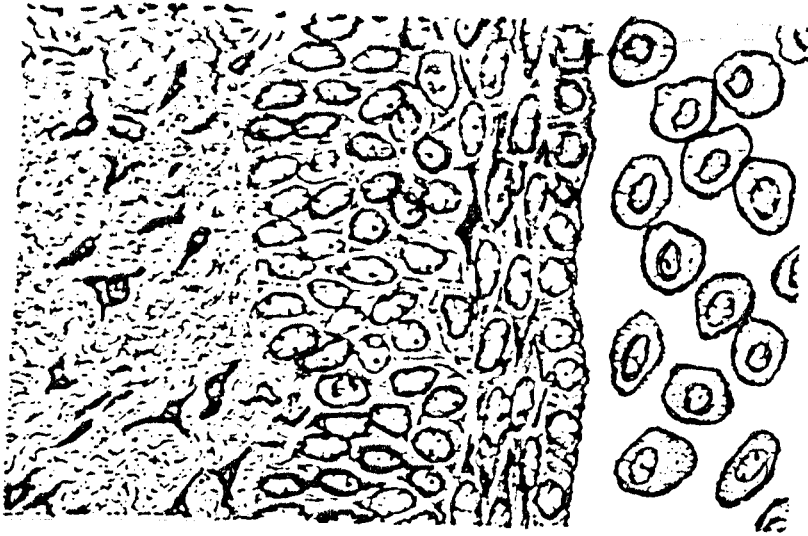
Şekil 2:Östrus fazı.



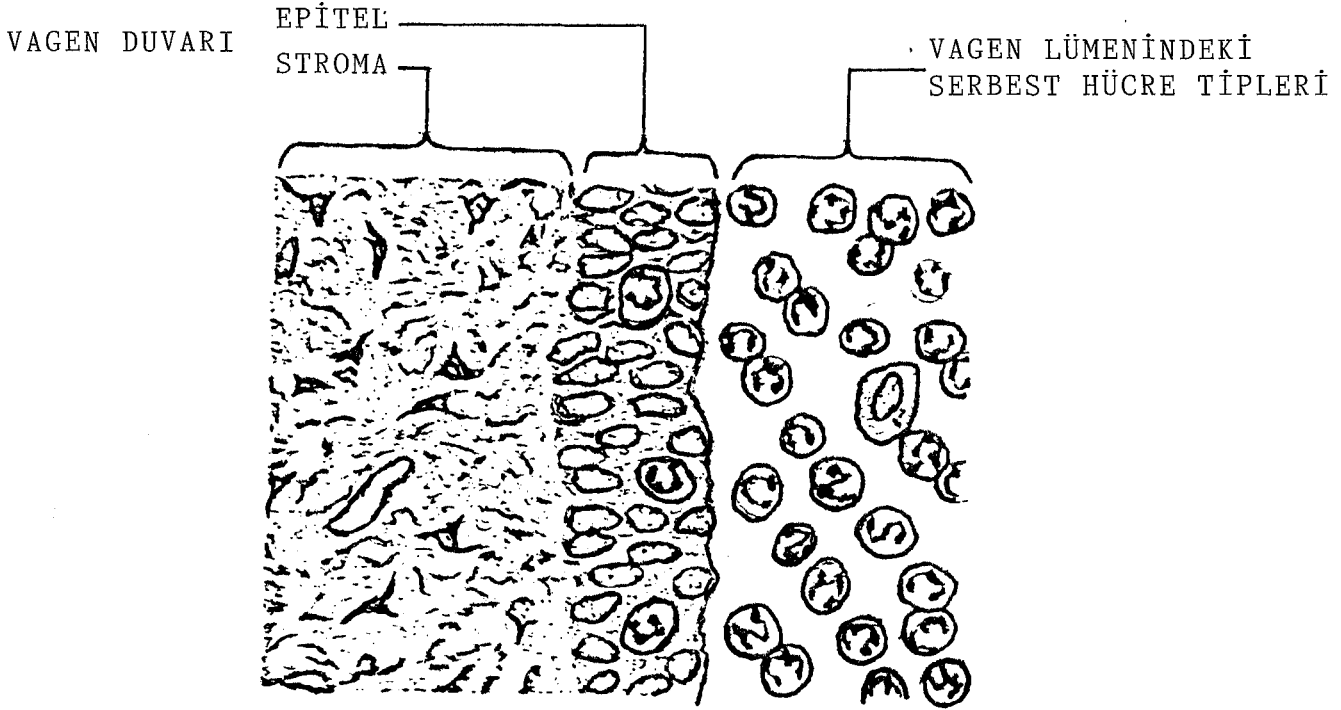
Şekil 3:Metöstrus fazı



Şekil 4:Diöstrus fazı



Şekil 5:Proöstrus fazı



Şekil 6:Yetişkin bir ratın  
vagen mukozası

## YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışma için albino Winstar cinsi 40 adet 28-30 günlük, dişi immatür rat kullanıldı. Ratlar, Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (DETAM)' dan temin edildi. Deney aynı merkezin laboratuvarında 1.12.1988-31.12.1988 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma süresince ratlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlıkta  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  oda ısısında 60x50x30cm çaplarındaki kafeslerde 8'erli gruplar halinde tutuldular. Yem sarnayinden sağlanan Peled yem ve musluk suyu ile beslendiler.

Çalışma protokolünce her biri 8 immatür dişi rattan oluşan 5 grup oluşturuldu. Gruplar içindeki ratlar kulakları kesilerek veya çentiklenerek işaretlendi.

Gruplar şöyle düzenlendi:

I.Grup: Serum fizyolojik verilen kontrol grubu

II.Grup:HMG(HUMEGON)<sup>1</sup>+ HCG(PREGNYL)<sup>2</sup> verilen deney grubu

III.Grup:HMG+HCG+GnRh(SUPREFACT)<sup>3</sup>; HCG ile aynı gün GnRh verilen deney grubu

IV.Grup:HMG+HCG+GnRh; HCG'den 1 gün sonra GnRh verilen deney grubu

V.Grup:GnRh verilen deney grubu.

---

1-HUMEGON: 1 ampul 75 IU FSH+Ca 75 IU LH

İmal tarihi:7/1987 seri no:542

Son kullanım tarihi:7/1990

İmal yeri:Santa Fram İlaç San.A.Ş Edirnekapi/İstanbul

N.V Organan Hollanda

Kontrol grubundaki ratlara; 7 gün süre ile intraperitoneal (i.p) 0.5cc serum fizyolojik verildi.

II, III ve IV.gruplara 4 gün 300 IU/kg/gün HMG(HUMEGON) i.p verildi.

II,III ve IV. gruplara 5.gün 3000 IU/kg/gün HCG(PREGNYL) i.p verildi.

III.gruba 5.gün HCG'den hemen sonra 15mikrogr GnRh 0.5cc S.C enjekte edildi.

IV.gruba GnRh 15mikrogr. 0.5cc S.C 6.gün yapıldı

V.gruba 4 gün boyunca 15mikrogr. GnRh 0.5cc S.C verildi.

Uyguladığımız GnRh dozu kaynak taramasında Mayar'in immatür ratlarda gonadal inhibisyon sağladığı, 5 mikrogr.'ın 3 katıdır(65). HMG, HCG dozları farklı kaynaklarda farklı şekilde bildirilmektedir. Uyguladığımız doz Dölen'in immatür farelere uyguladığı dozdur(24).

Deneyin 1.günü tüm gruplardaki ratlar eter<sup>4</sup> anestezisi verilerek uyutulduklar. Kulakları kesilerek veya çentiklenerek işaretlendiler. Özel rat tartısında<sup>5</sup> tartılıp vaginal smirleri alındı. Deney gruplarına ilk doz ilaçları, kontrol grubuna serum fizyolojik yapıldı. İlaçlar her gün saat 8-10 arası uygulandı.

Vaginal smirler her sabah vagenden otomatik 200mikrogr. lık pipetle serum fizyolojik verilerek yıkama sıvısı şeklinde

---

2-PREGNYL: 1 ampul 5000 IU Gonadotrophinum chorionicum

İmal tarihi:2/1987 Seri no:330

Son kullanım tarihi:2/1989

İmal yeri:Santa Farma İlaç San.A.Ş. Edirnekapı/İstanbul

N.V Organon Hollanda

alındı. Direk preparat halinde araştırıcı tarafından kaynakta belirtildiği şekilde değerlendirildi(66),

Ratlar 3. ve 5.günler tekrar tartıldılar. Son enjeksiyondan 24 saat sonra eter anestezi altında göğüs-batın boşlukları açıldı, dekapite edilerek öldürüldüler. Overleri-uterusu alındı. Çevre yağ dokularından temizlendi, dokular kurumadan hemen hassas terazide<sup>6</sup> tartıldı. Kraniotomi ile hipofizleri alındı. Tüm dokular Bovins<sup>7</sup> solusyonunda tesbit edilip, rutin alkol tespit ve takibinden sonra parafin bloklara gömüldü. 5 mikrom kalınlıkta kesitleri alınıp hematoksilen eozin ile boyanarak ışık mikroskobunda değerlendirildi(Resim 1).

Her grupta 2, kontrol grubundan 1 denekten alınan hipofizler elektron mikroskobunda değerlenidirmek üzere diseksiyonu takiben %1 osmium tetroksida solusyonunda tesbit edildi. Tespit sonrası isotonik solusyona alındı. Giderek artan yoğunluktaki aseton banyolarında dehidrate edilip vestopal-W bloklarına gömüldü. LKB ultramikrotomla ince kesitler hazırlanıp EM 9A Jeol 100C elektron mikroskopta incelendi (Resim 2).

Dokular ışık mikroskobunda değerlendirilmek üzere A.Ü.Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, elektron mikroskobunda değerlendirilmek üzere Çapa Tıp fakültesi Histoloji Anabilim dalında preparat haline getirildi. Değerlendirmeler

---

3-SUPREFACT: 1 ampul 1.05mg. Buserelinacetat(entspr.1.0mg.Buserelin)

10mg. Benzylalkohol

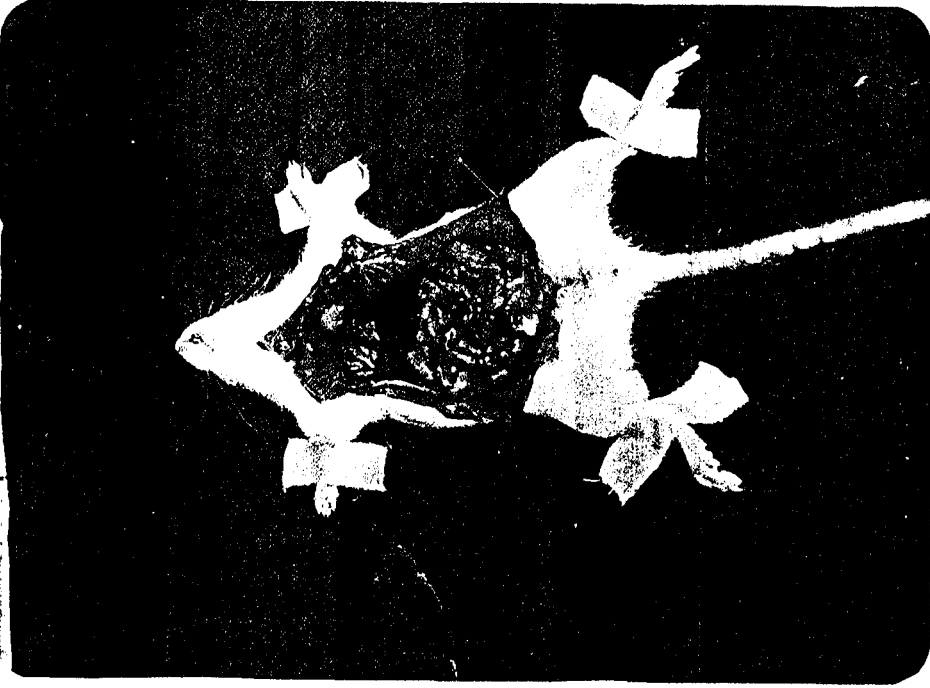
İmal tarihi:15.9.1988 Seri no:2874020

Son kullanım tarihi:14.9.1991

İmal yeri:HOECHST AG Frankfurt-DEUTCHLAND

4-ETER SÜLFAT:C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>





Resim 1: Ratın göğüs ve batin boşluğu.



Resim 2: Kraniotomi yapılmış rat. → Hipofiz.

araştırmacı tarafından gerektiğinde bilim dalındaki öğretim görevlilerine danışılarak yapıldı.

Her 2 overin histolojik değerlendirmesinde şu kriterler esas alındı.

- 1-Stromal ödem ve konjesyon
- 2-Stromal luteinizasyon
- 3-Sekonder-Tersiyer follikül sayısı
- 4-Kistik follikül sayısı
- 5-Korpus luteum sayısı
- 6-Kistik veya hemorajik korpus luteum gelişimi.

Stromal ödem, konjesyon ve luteinizasyon; değerlendirilmesinin subjektif sınıflamasına göre kontrol grubu ile karşılaştırılarak yok, (+) ve (++) olarak belirtildi.

Follikül ve korpus luteum sayısı tüm preparatta 1-5 arası (+), 6-10 arası (++) , 11 ve üzeri (+++) olarak değerlendirildi.

Kistik follikül ve korpus luteum tüm preparatta; yok, bir ve birden fazla ise (+) şeklinde belirtildi.

Her 2 overin ortalama ağırlığı alındı.

5-RAT TARTISI:RAT SCALE capacity 700gr. by 2gr Model Y6 700

PELOUZE SCALECO.Evanston, ill.

Laboratory animals and services for research

Taconic # NC 33 Hover AVE Germantown, NY 12529

6-METTLER H 80

Max 160gr d=0.1mg

Kermanlar Atatürk Bulvarı İ.M.Ç 1410 İstanbul

7-BOUIN SOL: 75cc-Pikrik asid

25cc-Formol(%45-47)

5cc-Asetik asit

Over, uterus histolojisindeki değişiklikleri belgelemek için preparatların mikroskopik fotoğrafları A.Ü.Tıp Fakóltesi Histoloji Bilim Dalında olympus marka mikroskopta 4x3.3 büyötmek ile, hipofizin ultrastrukturel yapısındaki değişiklikleri gösteren preparatların fotoğrafları Çapa Tıp Fakóltesi Histoloji Bilim Dalında Jeol 100-C elektron mikroskopta çekildi.

Bulguların istatistiksel değerlendirmeleri A.Ü.Tıp Fakóltesi İstatistik Bilim Dalı Öğretim Üyesi ile birlikte varyans analizi Fisher tam olasılık ve McNamar testlerinden yararlanılarak yapıldı(77).

## BULGULAR

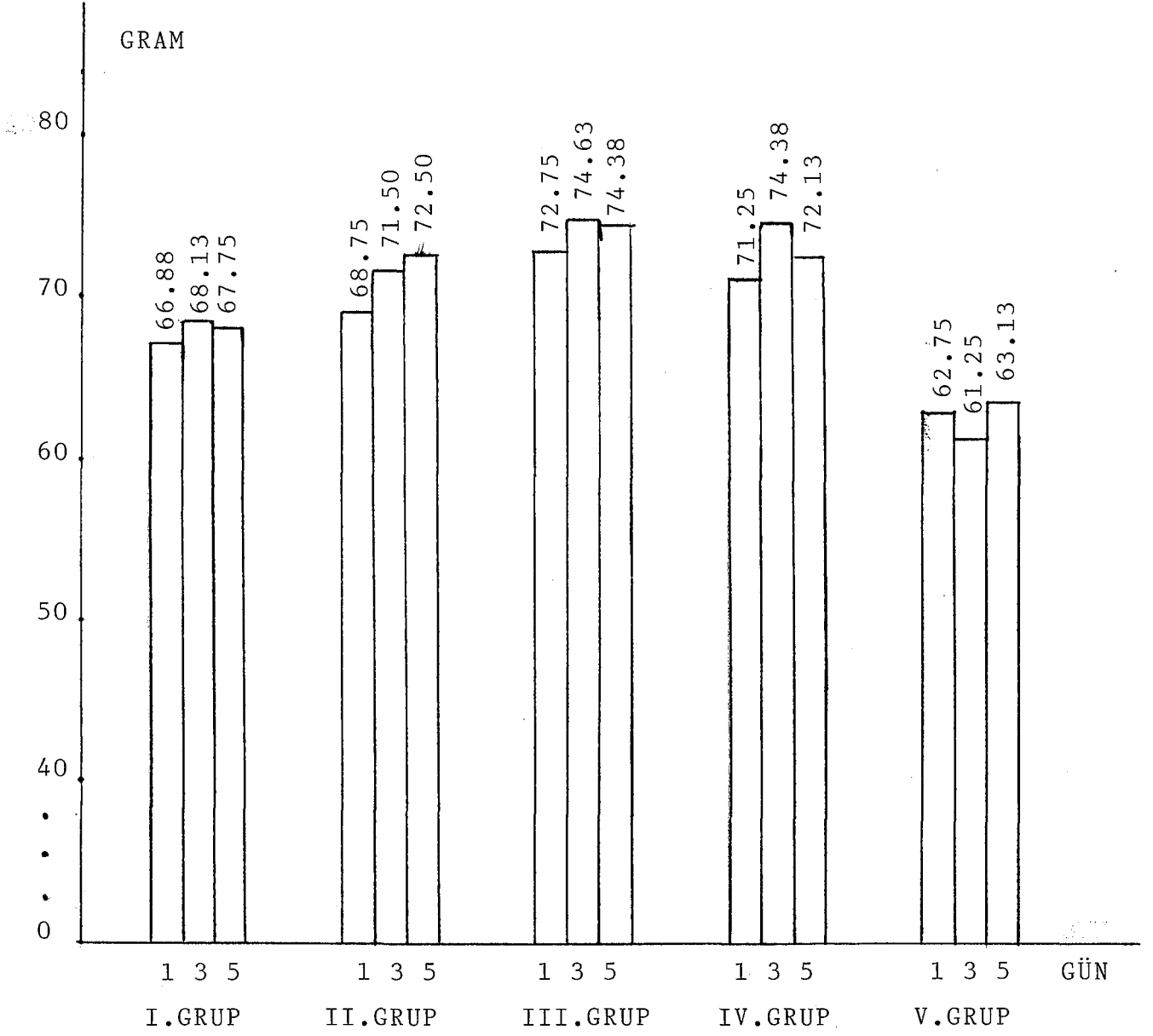
Ratların batin-göğüs boşluklarının explorasyonunda hiç bir ratta asit ve plevral effuzyon gözlenmedi.

Deneklerin vücut ağırlıklarına göre dağılımı Tablo I'de gösterilmiştir.

TABLO I: DENEKLERİN VÜCUT AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI (gr)

DENEK NO	I.GRUP (Gün)			II.GRUP (Gün)			III.GRUP (Gün)			IV.GRUP (Gün)			V.GRUP (Gün)		
	1.	3.	5.	1.	3.	5.	1.	3.	5.	1.	3.	5.	1.	3.	5.
1	65	70	70	70	70	85	80	80	100	60	65	75	50	50	60
2	60	60	60	60	60	75	70	60	80	70	70	90	50	55	60
3	72	70	70	40	45	55	70	75	90	62	80	85	70	70	75
4	70	70	75	60	65	82	62	65	85	65	70	90	85	85	85
5	70	70	75	70	80	90	65	70	80	70	70	85	40	45	50
6	40	50	50	70	70	85	60	60	80	60	75	80	50	55	57
7	70	70	70	80	95	100	70	75	80	60	65	75	80	80	80
8	80	80	85	60	60	75	62	70	85	60	80	80	50	55	60

Deneklerin vücut ağırlıklarına göre dağılımı gram olarak Grafik I'de gösterilmiştir.



GRAFİK I: DENEKLERİN VÜCUT AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI

Deneklerin vücut ağırlıklarına göre dağılımı, farklı gruplardaki değişimlerin analizi ve istatistiksel değerlendirme sonuçları 1.,3.,5.günler esas alınarak Tablo II, III ve IV'de sunulmuştur.

TABLO II:DENEKLERİN VÜCUT AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI, FARKLI GRUPLARDAKİ DEĞİŞİMİN 1.GÜNDE ANALİZİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

GRUP	DENEK SAYISI	ORTALAMA VÜCUT AĞIRLIĞI(gr)	STANDART HATA	KARŞILAŞTIRMA
1	8	65.88	4.21	A
2	8	63.75	4.20	A
3	8	67.38	2.31	A
4	8	65.88	2.51	A
5	8	59.38	5.86	A

( $F_{4.35}=0.60: P > 0.05n.s$ )

YORUM:Grup ortalamaları arasında önemli farklılık yoktur.

TABLO III:DENEKLERİN VÜCUT AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI, FARKLI GRUPLARDAKİ DEĞİŞİMİN 3.GÜNDE ANALİZİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

GRUP	DENEK SAYISI	ORTALAMA VÜCUT AĞIRLIĞI(gr)	STANDART HATA	KARŞILAŞTIRMA
1	8	67.50	3.13	A
2	8	68.13	5.26	A
3	8	69.38	2.58	A
4	8	71.88	2.10	A
5	8	61.88	5.17	A

( $F_{4.35}=0.90: P > 0.05n.s$ )

YORUM:Grup ortalamaları arasında önemli farklılık yoktur.

TABLO IV:DENEKLERİN VÜCUT AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI, FARKLI GRUPLARDAKİ DEĞİŞİMİN 5.GÜNDE ANALİZİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

GRUP	DENEK SAYISI	ORTALAMA VÜCUT AĞIRLIĞI(gr)	STANDART HATA	KARŞILAŞTIRMA
1	8	69.38	3.71	A B
2	8	80.88	4.67	B
3	8	85.00	2.50	B
4	8	82.50	2.11	B
5	8	65.88	4.40	A

( $F_{4.35}=5.53$ :  $P < 0.01^{**}$ )

YORUM:Grup ortalamaları arasında önemli fark vardır.

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

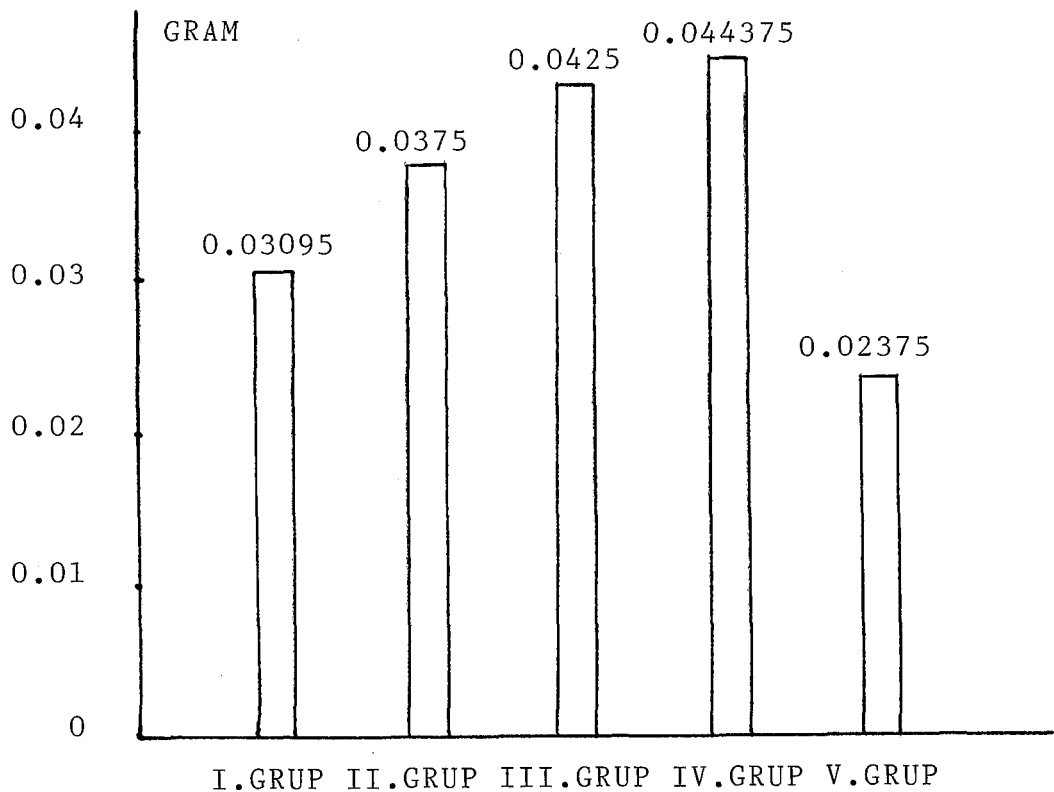
- 1-Grup 1 ile 2 arasında fark vardır(AB,B)  
 2-Grup 1 ile 3 " " " (AB,B)  
 3-Grup 1 ile 4 " " " (AB,B)  
 4-Grup 1 ile 5 " " " (AB,A)  
 5-Grup 2 ile 5 " " " (B,A )  
 6-Grup 3 ile 5 " " " (B,A)  
 7-Grup 4 ile 5 " " " (B,A)  
 8-Grup 2 ile 3 " " yoktur(B,B)  
 9-Grup 2 ile 4 " " " (B,B)  
 10-Grup 3 ile 4 " " " (B,B)

Deneklerin over ağırlıklarına göre dağılımı Tablo V'de gösterilmiştir.

TABLO V:DENEKLERİN OVER AĞIRLIKLARINA\* GÖRE DAĞILIMI(gr)

DENEK NO	I.GRUP	II.GRUP	III.GRUP	IV.GRUP	V.GRUP
1	0.0726	0.0400	0.0400	0.0350	0.0200
2	0.0250	0.0300	0.0300	0.0500	0.0300
3	0.0200	0.0350	0.0550	0.0450	0.0200
4	0.0450	0.0300	0.0500	0.0400	0.0300
5	0.0150	0.0600	0.0500	0.0700	0.0150
6	0.0250	0.0300	0.0300	0.0450	0.0200
7	0.0250	0.0500	0.0500	0.0250	0.0250
8	0.0200	0.0250	0.0350	0.0450	0.0300

\*Her iki over ağırlığının ortalaması alınmıştır.



GRAFİK 2:Grupların Ortalama Over Ağırlıklarına Göre Dağılımı.



Deneklerin over ağırlıklarına göre dağılımı, farklı gruplardaki değişimin analizi ve istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo VI'da gösterilmiştir.

TABLO VI: DENEKLERİN OVER AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI, FARKLI GRUPLARDAKİ DEĞİŞİMİN ANALİZİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

GRUP	DENEK SAYISI	ORTALAMA OVER AĞIRLIĞI (gr)	STANDART HATA	KARŞILAŞTIRMA
1	8	0.0309	6.724	A
2	8	0.0375	4.225	A B
3	8	0.0425	3.535	B
4	8	0.0443	4.574	B
5	8	0.0237	2.059	A

( $F_{4.35}=3.60$ :  $P < 0.05^*$ )

YORUM: Grup ortalamaları arasında önemli fark vardır.

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

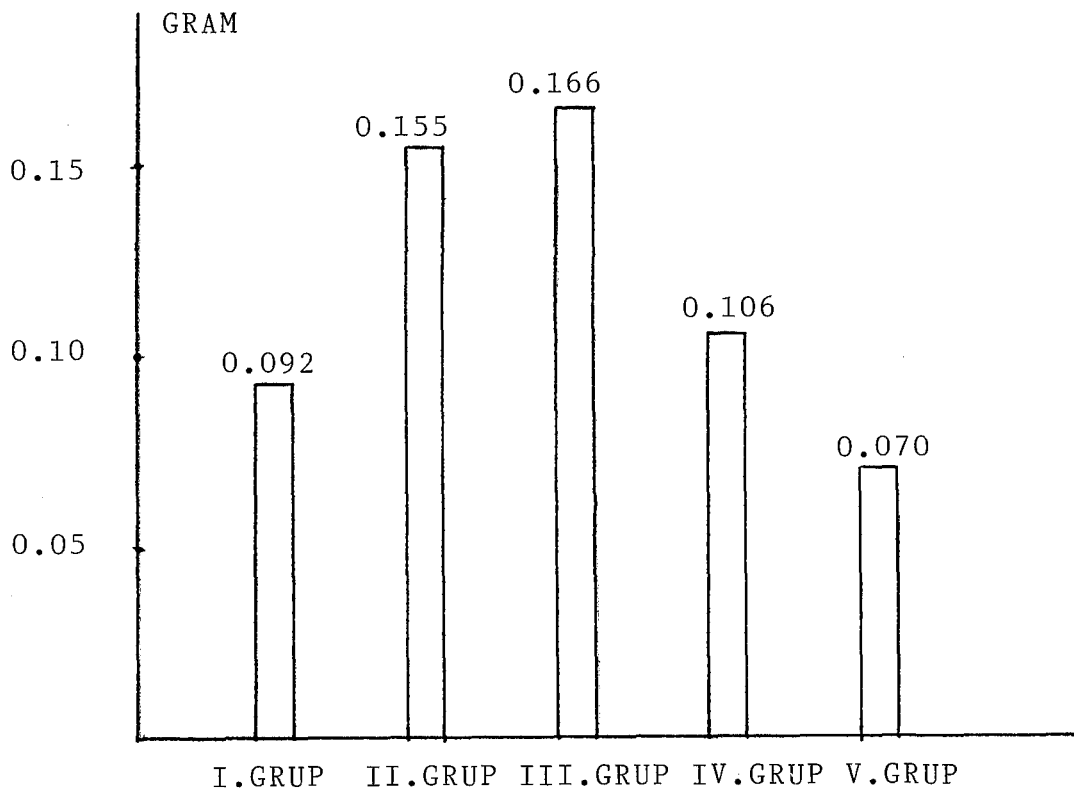
1-Grup 1 ile 2 arasında fark vardır	(A,AB)
2-Grup 1 ile 3	" " " (A,B)
3-Grup 1 ile 4	" " " (A,B)
4-Grup 2 ile 3	" " " (AB,B)
5-Grup 2 ile 4	" " " (AB,B)
6-Grup 2 ile 5	" " " (AB,A)
7-Grup 3 ile 5	" " " (B,A)
8-Grup 4 ile 5	" " " (B,A)
9-Grup 1 ile 5	" " yoktur(A,A)
10-Grup 3 ile 4	" " " (B,B)

Kontrol ve HMG+HCG verilen grupların uterus ve overler Resim 3'te gösterilmiştir.

Deneklerin uterus ağırlıklarına göre dağılımı Tablo VII' de verilmiştir.

TABLO VII:DENEKLERİN UTERUS AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI(gr)

DENEK NO	I.GRUP	II.GRUP	III.GRUP	IV.GRUP	V.GRUP
1	0.1710	0.1200	0.2700	0.0800	0.0700
2	0.1000	0.1500	0.1300	0.0900	0.0950
3	0.0500	0.1200	0.2000	0.0900	0.1000
4	0.0700	0.1500	0.2000	0.0800	0.1000
5	0.0900	0.1700	0.1500	0.1500	0.0400
6	0.0500	0.2200	0.0800	0.1300	0.0500
7	0.1300	0.2000	0.1200	0.0800	0.0500
8	0.0800	0.1100	0.1800	0.1500	0.0600



GRAFİK 3:Grupların Uterus Ağırlıklarına Göre Dağılımı

Deneklerin uterus ağırlıklarına göre dağılımı, farklı gruplardaki değişimlerin analizi ve istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo VIII'de verilmiştir.

TABLO VIII:DENEKLERİN UTERUS AĞIRLIKLARINA GÖRE DAĞILIMI,  
FARKLI GRUPLARDAKİ DEĞİŞİMLERİN ANALİZİ VE  
İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

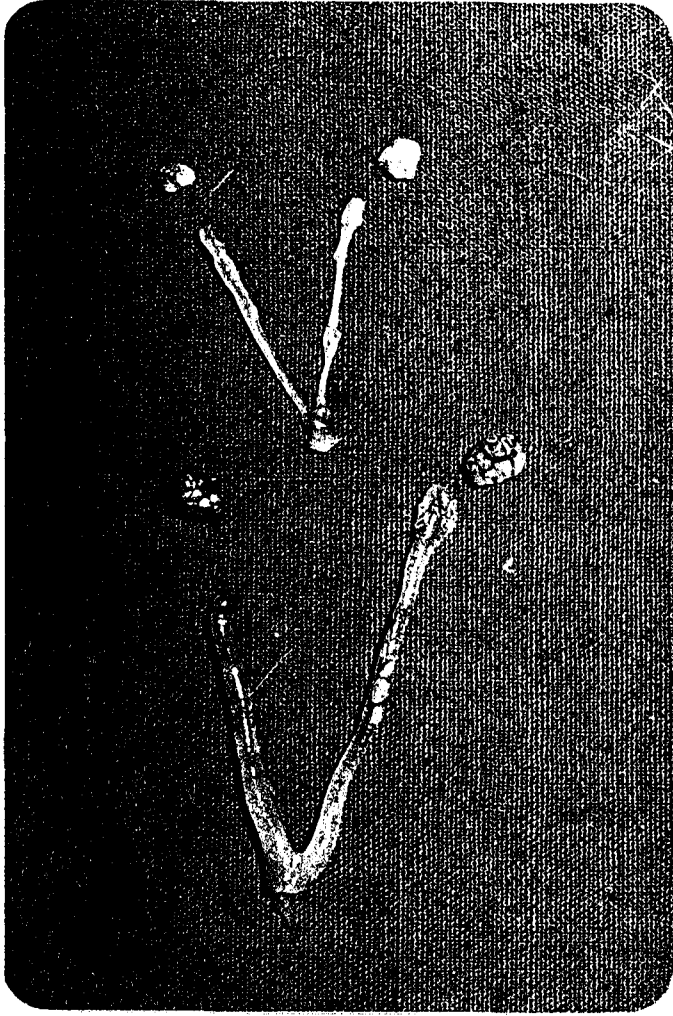
GRUP	DENEK SAYISI	ORTALAMA UTERUS AĞIRLIĞI(gr)	STANDART HAFA	KARŞILAŞTIRMA
1	8	0.0926	1.458	A
2	8	0.155	1.401	B
3	8	0.166	2.086	B
4	8	0.106	0.011	A B
5	8	0.070	8.682	A

( $F_{4.35}=8.04$ :  $P < 0.001^{***}$ )

YORUM:Grup ortalamaları arasında önemli fark vardır.

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

- 1-Grup 1 ile 2 arasında fark vardır(A,B)
- 2-Grup 1 ile 3 " " " (A,B)
- 3-Grup 1 ile 4 " " " (A,AB)
- 4-Grup 2 ile 4 " " " (B,AB)
- 5-Grup 2 ile 5 " " " (B,A)
- 6-Grup 3 ile 4 " " " (B,AB)
- 7-Grup 3 ile 5 " " " (B,A)
- 8-Grup 4 ile 5 " " " (AB,A)
- 9-Grup 2 ile 3 " " yoktur(B,B)
- 10-Grup 1 ile 5 " " " (A,A)



Resim 3:Üstte kontrol grubunun over ve uterusu

Altta HMG+HCG verilen grubun over ve uterusu.

Stromal ödem ve konjesyonun gruplara göre dağılımı Tablo IX'da verilmiştir.

TABLO IX:STROMAL ÖDEM VE KONJESYONUN GRUPLARA GÖRE DAĞILIMI

GRUPLAR	KONJESYON VE ÖDEM DERECEŚİ			TOPLAM
	(-)	(+)	(++)	
I	8	-	-	8
II	0	5	3	8
III	2	5	1	8
IV	5	3	-	8
V	8	-	-	8

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

1-Grup I ile II arasında fark vardır

$$(X_F^2 = P < 0.01^{**})$$

2-Grup I ile III arasında fark vardır

$$(X_F^2 = P < 0.01^{**})$$

3-Grup I ile IV arasında fark vardır

$$(X_F^2 = P < 0.01^{**})$$

4-Grup II ile IV arasında fark vardır

$$(X_F^2 = P < 0.01^{**})$$

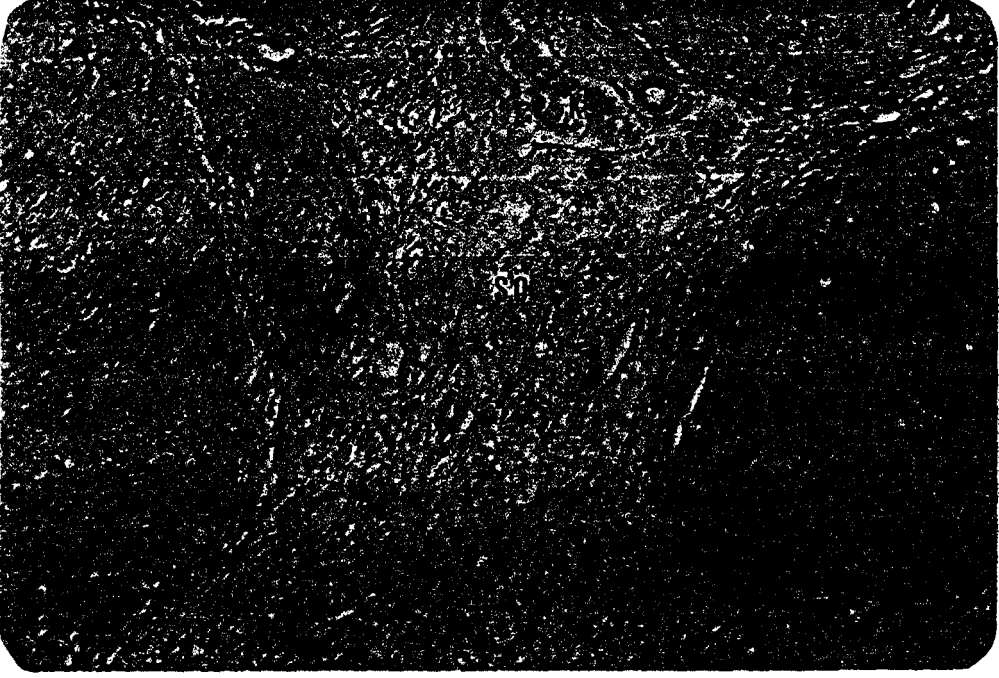
5-Grup II ile V arasında fark vardır

$$(X_F^2 = P < 0.01^{**})$$

6-Grup IV ile V arasında fark vardır

$$(X_F^2 = P < 0.01^{**})$$

Stromal ödem ve konjesyon Resim 4'de gösterilmiştir.



Resim 4:HMG+HCG verilen grupta stromal ödem

ve konjesyon.

SÖ:Stromal ödem

K :Konjesyon

Deneklerin stromal luteinizasyona göre dağılımı Tablo X'da verilmiştir.

TABLO X:DENEKLERİN STROMAL LUTEİNİZASYONA GÖRE DAĞILIMI

GRUPLAR	LUTEİNİZASYON DERECEŚİ				TOPLAM
	(-)	(+)	(++)	(+++)	
1	8	-	-	-	8
2	1	2	4	1	8
3	2	5	1	-	8
4	3	1	2	2	8
5	-	-	3	5	8

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

1-Grup I ile II arasında fark vardır

$$(X_{F=P}^2 < 0.001^{***})$$

2-Grup I ile III arasında fark vardır

$$(X_{F=P}^2 < 0.01^{**})$$

3-Grup I ile IV arasında fark vardır

$$(X_{F=P}^2 < 0.05^*)$$

4-Grup I ile V arasında fark vardır

$$(X_{F=P}^2 < 0.001^{***})$$

5-Grup V'de stromal luteinizasyon diğer gruplara göre en şiddetli olanıdır.

Overlerdeki sekonder-terciyer follikül sayısına göre dağılımı Tablo XI'de verilmiştir.

TABLO XI:DENEKLERİN FOLLİKÜL SAYISINA GÖRE DAĞILIMI

GRUPLAR	YOK	SEKONDER-TERSİYER FOLLİKÜL SAYISI			TOPLAM
		+(1-5)	++(6-10)	+++ (11-üstü)	
I	8	-	-	-	8
II	-	1	1	6	8
III	-	3	4	1	8
IV	-	1	2	5	8
V	-	3	3	2	8

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

1-Grup I ile II arasında fark vardır.

$$(X_F^2 = P < 0.001^{***})$$

2-Grup I ile III arasında fark vardır.

$$(X_F^2 = P < 0.05^*)$$

3-Grup I ile IV arasında fark vardır.

$$(X_F^2 = P < 0.001^{***})$$

4-Grup I ile V arasında fark vardır.

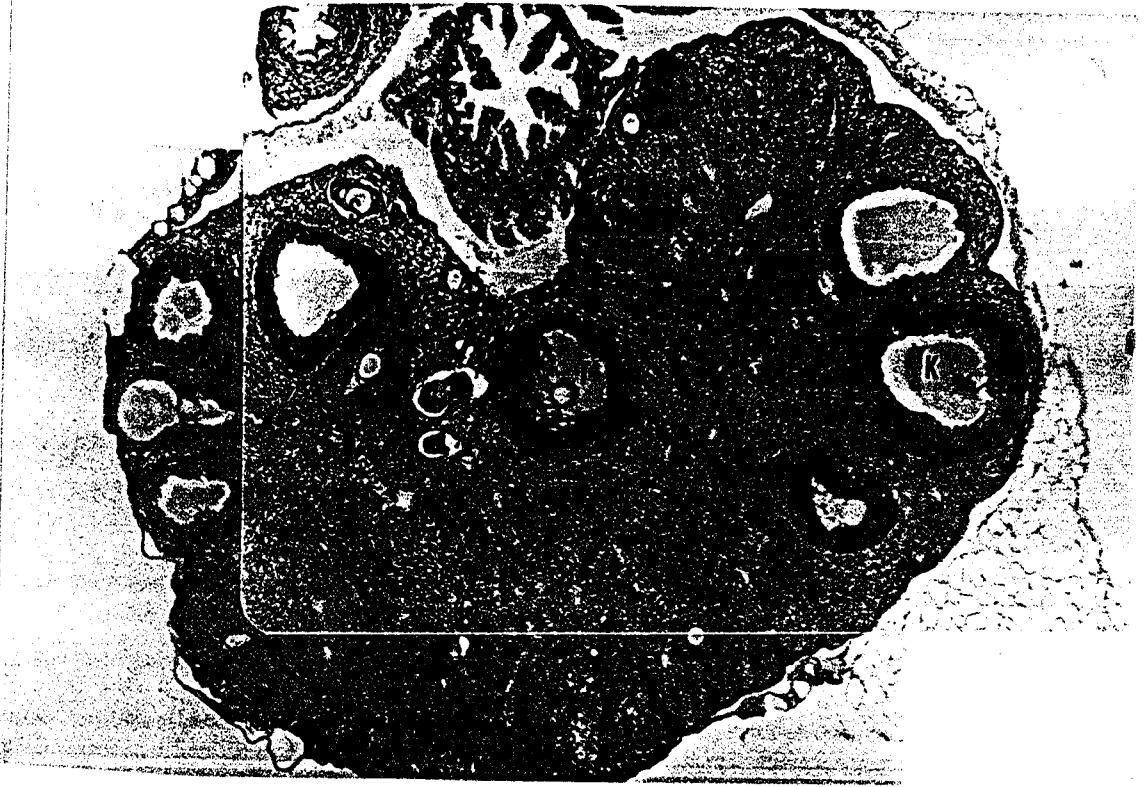
$$(X_F^2 = P < 0.05^*)$$

5-Grup II ile IV arasında fark yoktur.

$$(X_F^2 = P > 0.05n.s)$$

HMG+HCG verilen grupta gözlenen sekonder-terciyer folliküller Resim 5'te gösterilmiştir.





Resim 5:HMG+HCG verilen grupta sekonder-tersiyer

ve kistik follikül oluşumu.

S: Sekonder follikül

T: Tersiyer follikül

K: Kistik follikül

Deneklerin kistik follükül sayılarına göre dağılımı

Tablo XII'de verilmiştir.

TABLO XII:DENEKLERİN KİSTİK FOLLİKÜL SAYILARINA GÖRE DAĞILIMI

GRUPLAR	KİSTİK FOLLİKÜL SAYISI		TOPLAM
	(-)	+(1-2)	
I	8	-	8
II	4	4	8
III	7	1	8
IV	8	-	8
V	7	1	8

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

1-Grup I ile II arasında fark vardır.

$$(X_F^2 = P < 0.05^*)$$

2-Grup II ile IV arasında fark vardır.

$$(X_F^2 = P < 0.05^*)$$

3-Grup I ile IV arasında fark yoktur.

$$(X_F^2 = P > 0.05n.s)$$

4-Grup I ile V arasında fark yoktur.

$$(X_F^2 = P > 0.05n.s)$$

Deneklerin kistik veya hemorajik korpus luteum sayısına göre dağılımı Tablo XIII'de verilmiştir.

TABLO XIII: DENEKLERİN KİSTİK VEYA HEMORAJİK KORPUS LUTEUM SAYISINA GÖRE DAĞILIMI

GRUPLAR	KİSTİK VEYA HEMORAJİK KORPUS LUTEUM SAYISI		TOPLAM
	(-)	+(1-2)	
I	8	-	8
II	3	5	8
III	7	1	8
IV	8	-	8
V	8	-	8

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

1-Grup I ile II arasında fark vardır.

$$(X_F^2=P < 0.05^*)$$

2-Grup II ile IV arasında fark vardır.

$$(X_F^2=P < 0.05^*)$$

3-Grup II ile V arasında fark vardır.

$$(X_F^2=P < 0.05^*)$$

4-Grup I ile IV arasında fark yoktur.

$$(X_F^2=P > 0.05n.s)$$

5-Grup I ile V arasında fark yoktur.

$$(X_F^2=P > 0.05n.s)$$

6-Grup IV ile V arasında fark yoktur.

$$(X_F^2=P > 0.05n.s)$$

HMG+HCG verilen grupta gelişen kistik korpus hemorajikum Resim 6'da gösterilmiştir.



RESİM 6:HMG+HCG verilen grupta kistik korpus  
hemorajikum.

K:Kistik korpus luteum

L:Stromal luteinizasyon

Sadece GnRh verilen grupta overlerde gelişen şiddetli stromal luteinizasyon Resim 7'de görülmektedir.



RESİM 7:GnRh verilen grubun over stromasında luteinizasyon gelişimi. L:Luteinizasyon



RESİM 8:Kontrol grubunun overi

TABLO XIV:GRUPLARIN VAGİNAL, HORMONAL SMİR DEĞERLENDİRMESİ

DENEK	I.GRUP(gün)									II.GRUP(gün)									III.GRUP(gün)									IV.GRUP(gün)									V.GRUP(gün)				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5
1	D	D	D	D	D	D	D	D	D	-	-	M	E	M	E	M	D	P	-	M	D	D	M	D	M	M	M	-	M	D	E	M	M	M	D	P	-	-	-	D	D
2	-	-	-	-	-	D	D	D	D	-	-	M	M	E	M	M	E	M	-	-	M	M	M	M	M	M	M	-	M	M	M	E	M	M	M	D	-	-	D	D	D
3	-	D	D	D	D	D	D	D	D	-	M	M	D	P	P	E	M	M	D	M	M	D	P	M	M	D	P	D	P	M	M	M	M	D	M	M	-	D	D	D	D
4	D	D	D	D	D	D	D	D	D	-	-	M	E	M	M	D	M	M	D	M	M	E	M	P	M	M	M	D	M	M	M	E	M	D	M	M	D	D	D	D	P
5	-	-	-	D	D	D	D	D	P	-	-	M	M	P	M	D	M	M	-	M	M	M	D	P	M	M	M	D	M	E	M	M	M	M	M	D	D	D	P	P	E
6	-	-	-	D	D	D	D	P	P	-	-	-	M	M	M	E	M	M	D	M	M	D	P	M	M	D	P	-	-	M	M	M	M	M	D	D	-	D	D	D	D
7	-	-	-	-	-	D	D	D	D	-	E	M	M	P	M	D	E	M	-	-	M	M	M	M	D	D	M	-	-	M	E	M	M	D	D	D	-	-	-	D	D
8	-	-	-	-	-	D	D	D	D	-	-	-	D	D	P	E	M	M	-	E	M	M	M	M	D	P	M	-	M	M	M	M	M	D	D	D	D	D	D	P	P

D:Diöstrus                      P:Proöstrus                      M:Metöstrus                      E:Östrus

İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları:

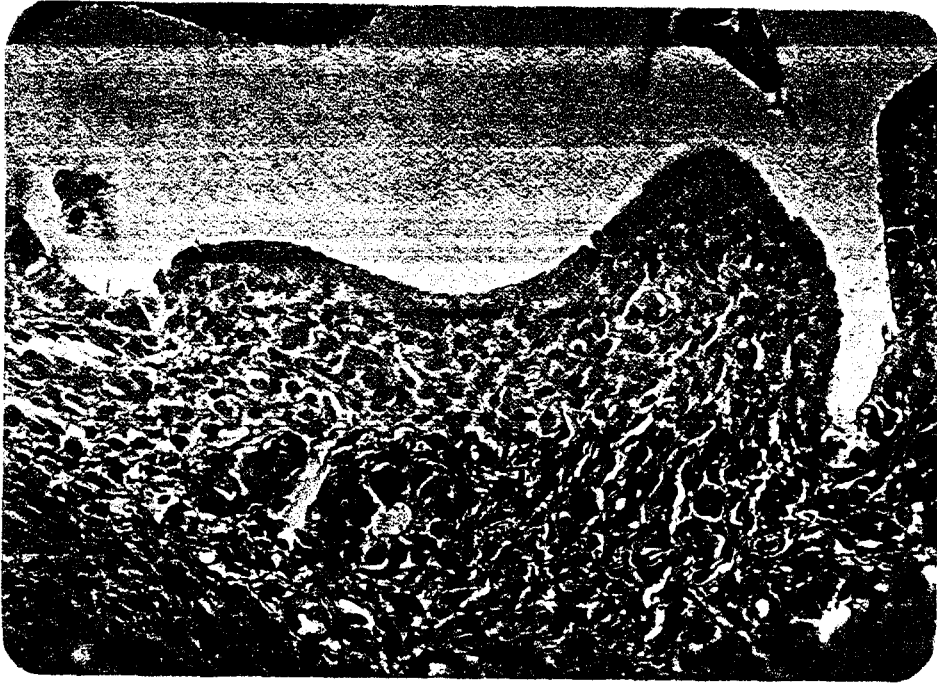
- 1-5.günde Grup II ile IV arasında fark yoktur  
( $X^2_{F=P} > 0.05n.s$ )
- 2-5.günde Grup I ile II arasında önemli fark vardır  
( $X^2_{F=P} < 0.001^{***}$ )
- 3-5.günde Grup I ile IV arasında fark vardır  
( $X^2_{F=P} < 0.001^{***}$ )
- 4-5.günde Grup I ile V arasında fark yoktur  
( $X^2_{F=P} > 0.05n.s$ )
- 5-5.günde Grup IV ile V arasında fark vardır  
( $X^2_{F=P} < 0.001^{***}$ )
- 6-7.günde Grup I ile II arasında fark vardır  
( $X^2_{F=P} < 0.001^{***}$ )
- 7-7.günde Grup II ile IV arasında fark vardır( $X^2_{F=P} < 0.01^{**}$ )

Uterusların histopatolojik incelemesinde; serum fizyolojik verilen kontrol grubundan hazırlanan kesitlerde endometrium, ince bir alan halinde olup, glandlar sayıca az ve çok dar saplıdırlar. Örtücü epitel ve gland epiteli tek katlı silendirik epitel tipindedir. Stroma, fibrosit tipinde hücrelerden oluşmuştur. Endometrium bu görünümü ile inaktif olarak değerlendirilmiştir. (Resim 9).

HMG + HCG verilen grubun uteruslarından hazırlanan kesitlerde izlenen fonksiyonel endometriumda, endometrial glandlar sayıca artmış ve bazılarında supra bir kısmı subnükleer vakueller içeren sekretuar tip silendirik epitelle döşelidirler. Glandlar arasındaki stromada hafif derecede desidual transformasyon ve bazılarının lümeni kan ile dolu çok sayıda spiral arteriol kesitleri dikkati çekmektedir. Endometrial örtü epiteli sekretuar silendirik tiptedir. Kesitlerde izlenen birkaç gland lümeninde sekret materyeli mevcuttur (Resim 10).

Tedaviye HCG'den bir gün sonra GnRh eklenen grupta endometrium ve gland epitelinde sekretuar aktivitenin yanısıra stromal desidual transformasyonda artış mevcuttur (Resim 11).

GnRh verilen V. grupta sekretuar tip görüntü erken döneme uymaktadır. Endometrium diğer gruplara göre daha incedir, glandlar daha az kıvrımlıdır.



RESİM 9: Kontrol grubunda proliferatif tip endometrium.

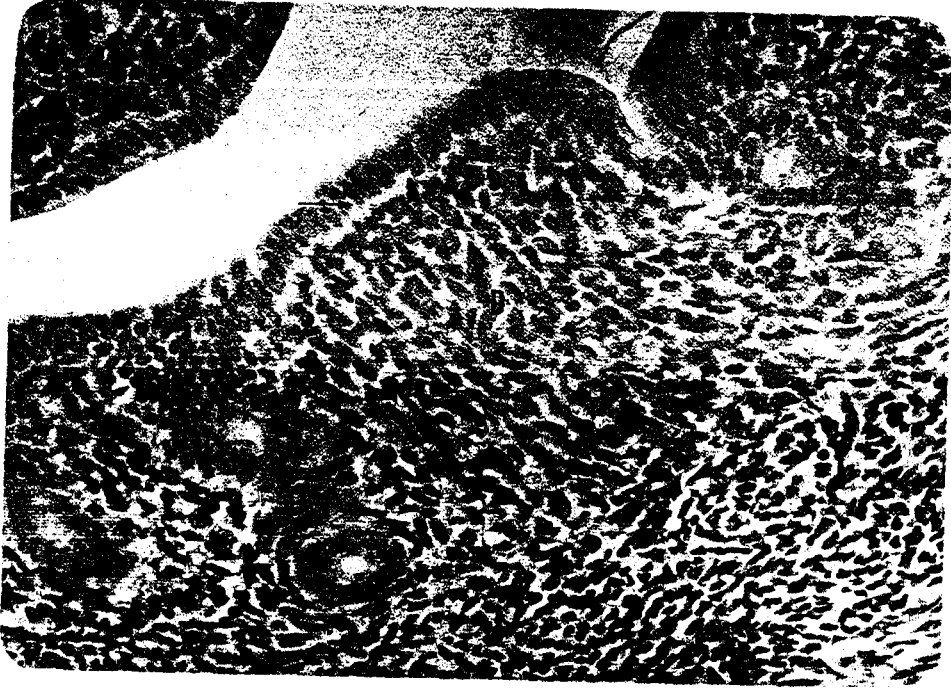


RESİM 10:HMG+HCG verilen grupta sekretuar tip endometrium.

S:Gland lümeninde sekresyon

→:Supranükleer vakuol.





RESİM 11: GnRh+HMG+HCG verilen grupta sekretuar tip  
endometrium, stromal desidual transformasyon.  
D: Desidual transformasyon  
→: Subnükleer vakuoller.

Ön çalışma olarak her gruptan 2, kontrol grubundan 1 denekten ultrastruktürel seviyede değişiklikleri incelemek amacıyla hipofizleri alındı. Sonuçlar aşağıda fotoğraflarla birlikte verilmiştir.

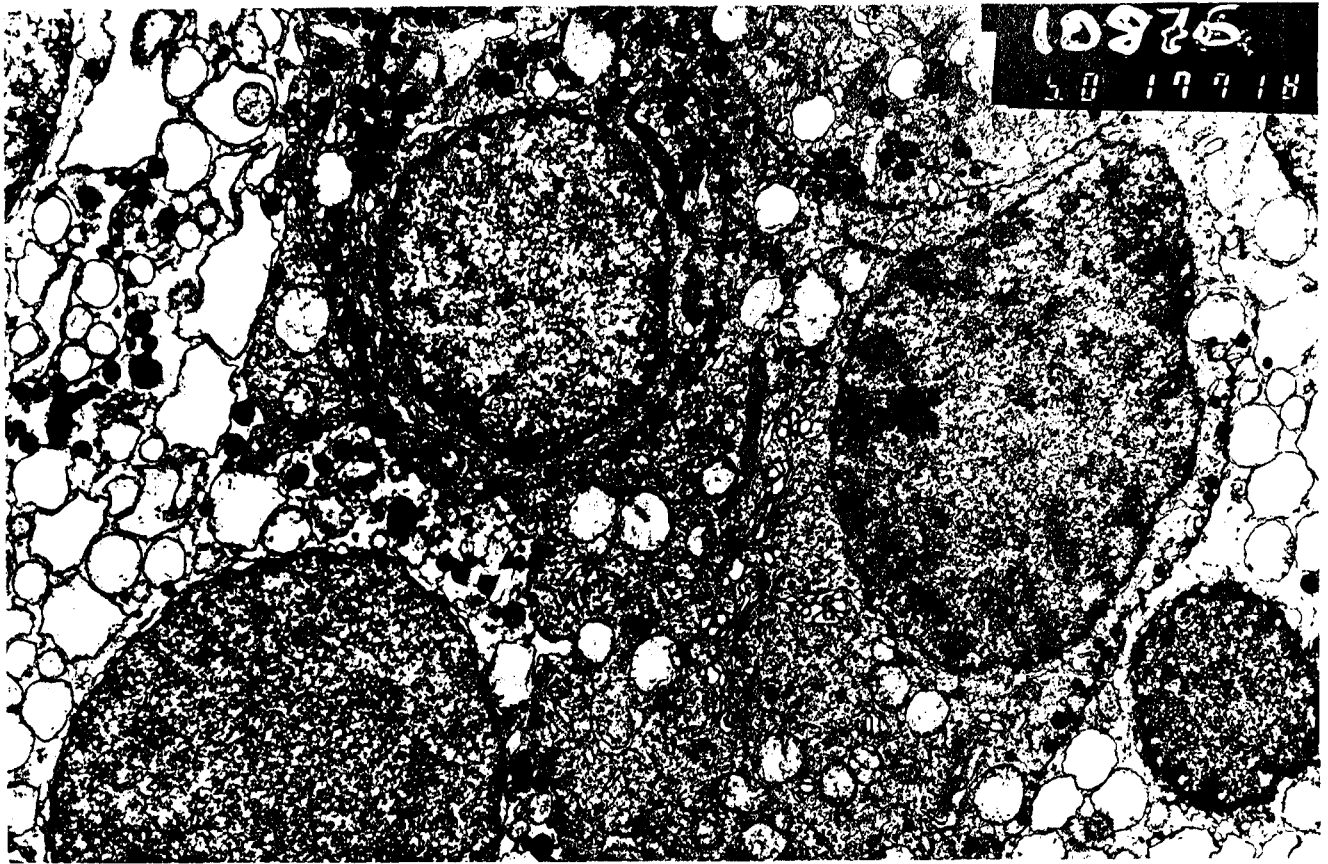
HMG+HCG verilen grupta, FSH-LH hücrelerinde golgi cisimciğinde sayıca artış, sekretuvar aktivitede hızlanma saptandı. (Resim 12)

HMG+HCG'ye HCG ile aynı gün GnRh eklenen grupta benzer bulgular görüldü(Resim 13 ).

HMG+HCG'ye HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenen grupta endoplazmik retikulum sisternalarında genişleme, granül sayısında artma, sitoplazma içinde veziküler oluşumlar görüldü(Resim 14-15).

Sadece GnRh verilen grupta tüm hücre tiplerinde azalma mevcuttu. Perisinuzoidal hücrelerde granül birikimi saptandı (Resim 16).

Resim 17'de kontrol grubundaki bir ratın hipofizi görülmektedir.

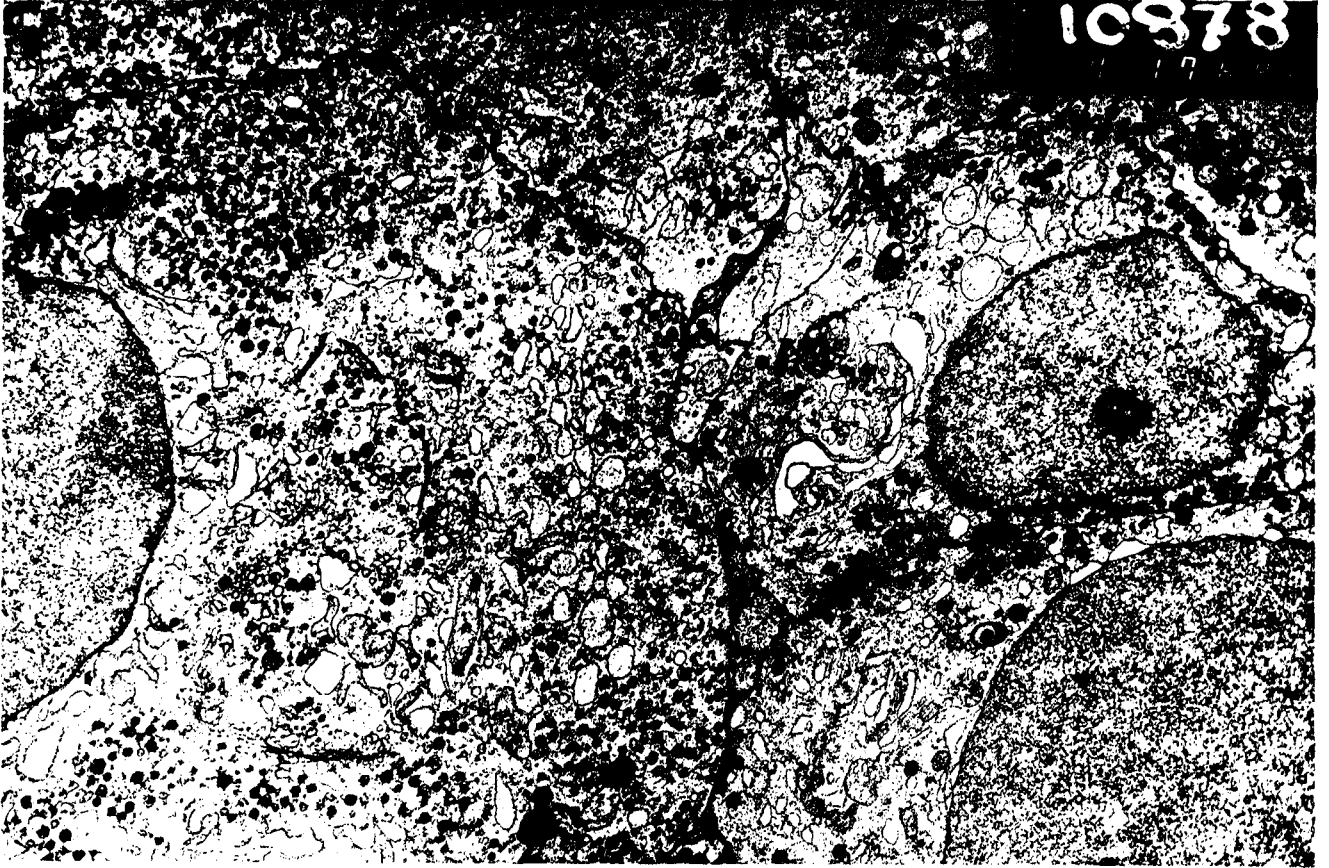


RESİM 12:HMG+HCG verilen grup.

Golgi cisimciğinde sayıca artma.

Değişik boylarda granül oluşumu.

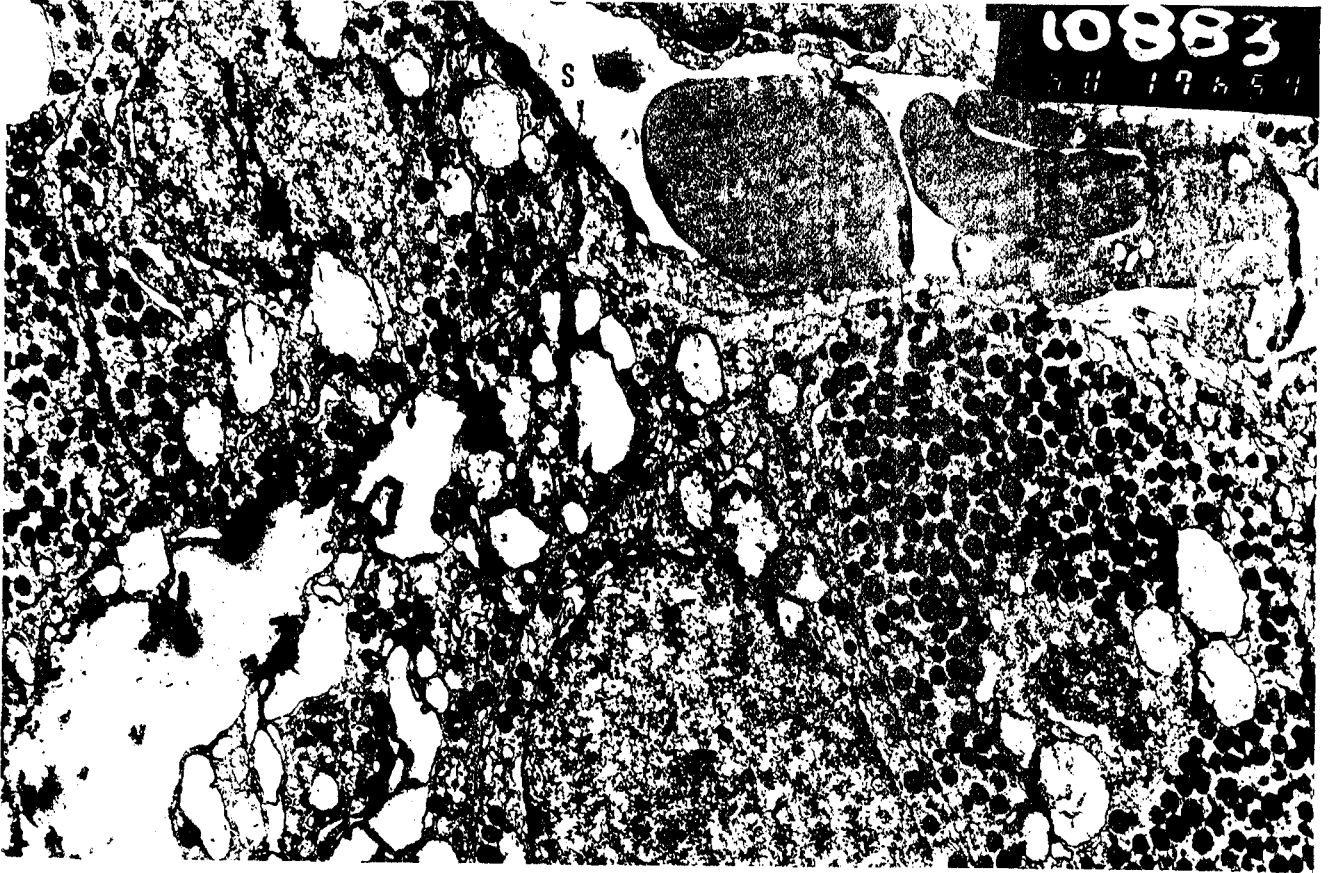
G:Golgi



RESİM 13:HMG+HCG+GnRh verilen grup

Golgi cisimciğinde sayıca artış,

Granüler yapılarda artma.



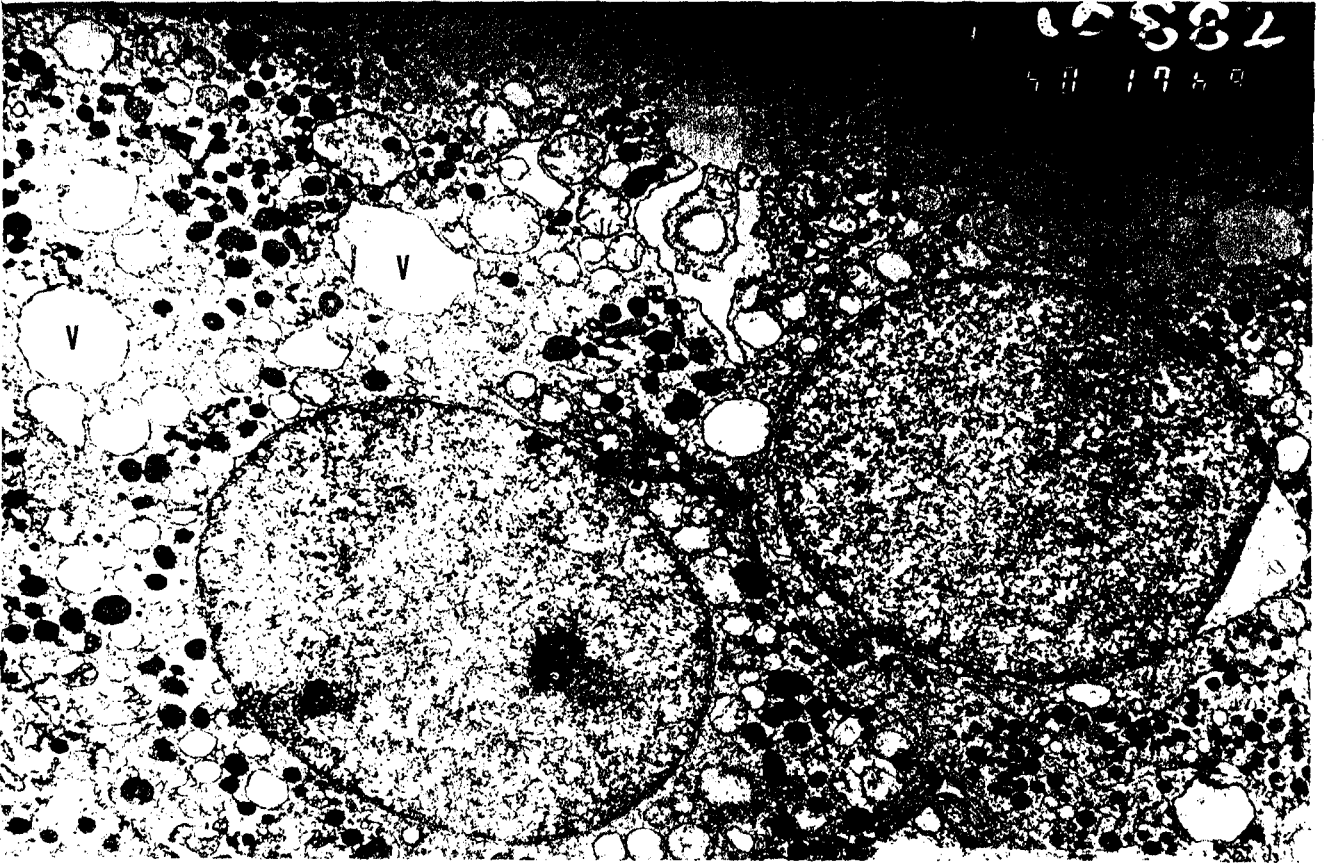
RESİM 14:HMG+HCG+GnRh verilen grup

(GnRh HCG'den 1 gün sonra)

G:Granüllerde artma

S:Sinuzoid

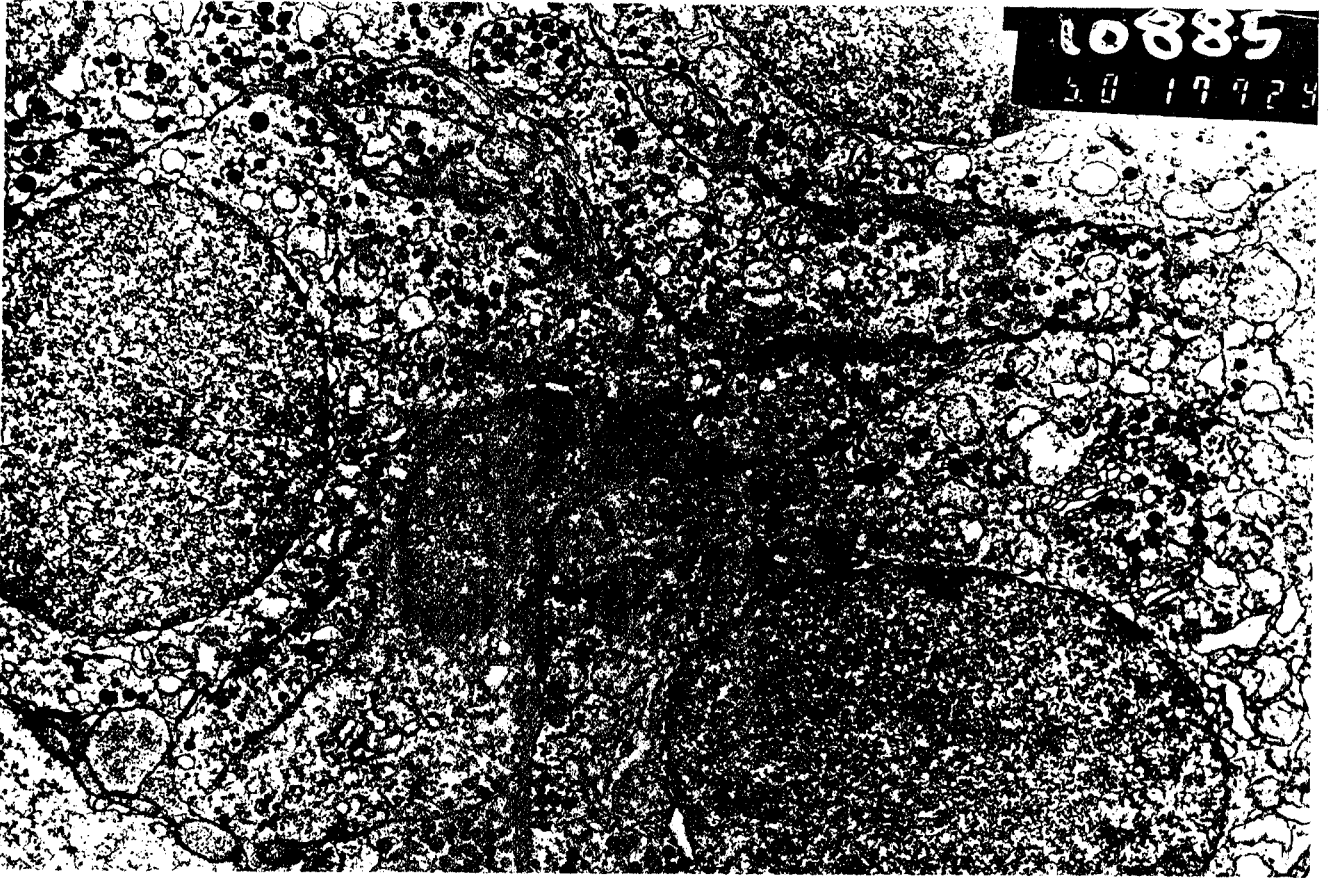
E:Eritrosit



RESİM 15:HMG+HCG+GnRh verilen grup

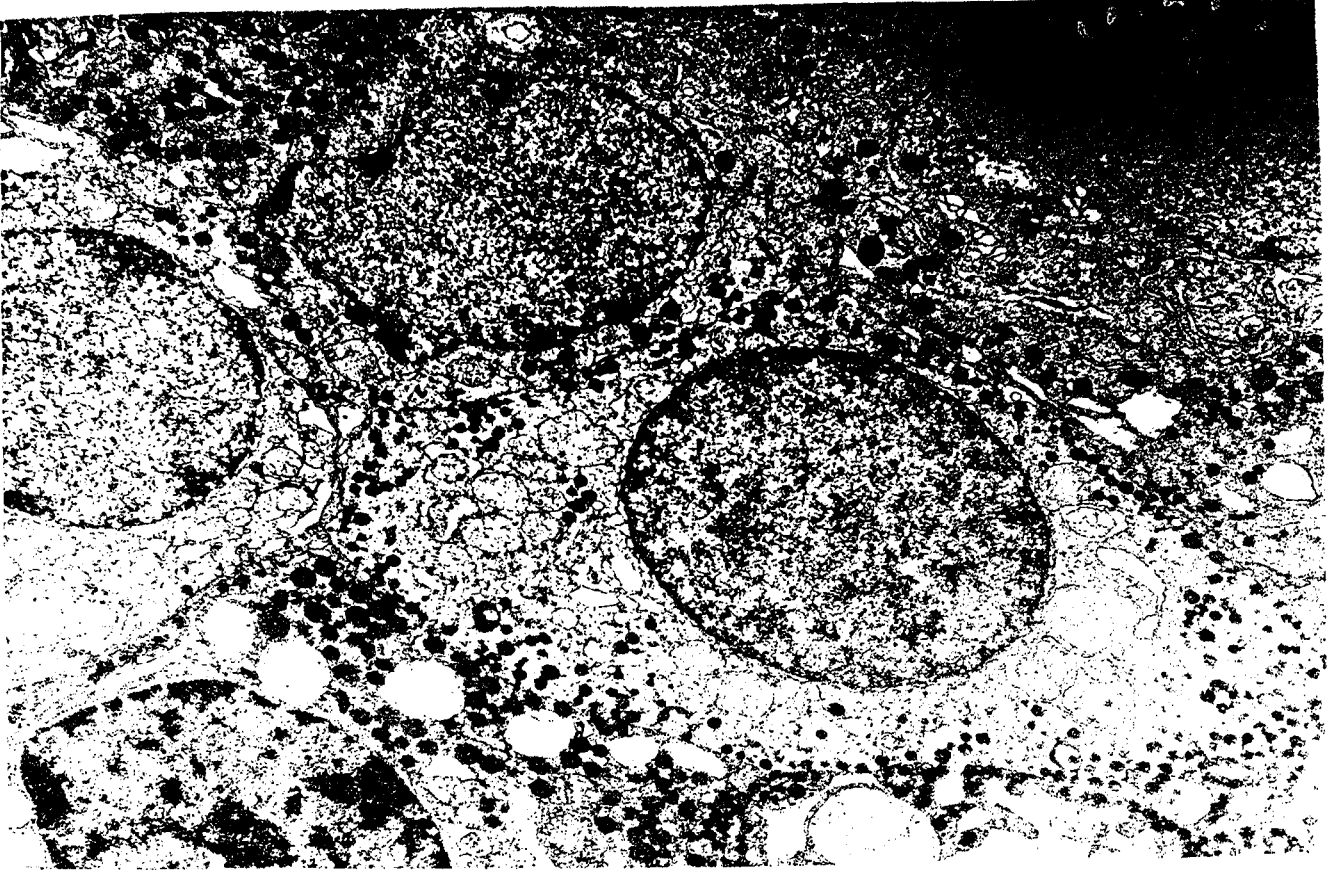
(HCG'den 1 gün sonra GnRh)

V:Stromada veziküler yapılar



RESİM 16:Sadece GnRh verilen grup.

Hücre tiplerinde azalma.



RESİM 17: Kontrol grubunun hipofizi.



## SONUÇLAR

1-HMG+HCG verilmesi immatür dişi ratların vücut ağırlığında, kontrol grubuna göre tedavinin 5.gününde anlamlı artışa neden olmuştur( $P < 0.01^{**}$ ).

2-HMG+HCG verilmesi sonucu immatür dişi ratların vücut ağırlığında gelişen artış, tedaviye GnRh eklenmesiyle önlenmemiştir( $P > 0.05n.s$ ).

3-Sadece GnRh uygulanan immatür dişi ratların vücut ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı artış olmamıştır( $P > 0.05n.s$ ).

4-HMG+HCG uygulanan immatür ratların ortalama over ağırlığında, kontrol grubuna göre önemli derecede artış olmuştur ( $P < 0.05^*$ ).

5-HMG+HCG+GnRh verilen immatür ratların ortalama over ağırlığındaki artış ile, HMG+HCG verilen immatür ratların ortalama over ağırlığındaki artış arasında anlamlı fark yoktur ( $P > 0.05n.s$ ).

6-Sadece GnRh uygulanan immatür ratların ortalama over ağırlıklarında kontrol grubuna göre önemli artış olmamıştır ( $P > 0.05n.s$ ).

7-HMG+HCG uygulaması immatür ratların uterus ağırlığını önemli derecede arttırmıştır( $P < 0.001^{***}$ ).

8-HMG+HCG+GnRh verilmesi immatür ratların uterus ağırlılığında, HMG+HCG verilmesi ile oluşan artışı önleyememiştir ( $P > 0.05n.s$ ).

9-Sadece GnRh verilen immatür ratlarla kontrol grubu arasında, uterus ağırlılığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır ( $P > 0.05n.s$ ).

10-İmmatür ratlarda overlerin histopatolojik değerlendirmesinde;

$a_1$ )HMG+HCG uygulaması ile stromada şiddetli ödem ve konjesyon gelişmiştir( $P < 0.001^{***}$ ).

$a_2$ )Tedaviye HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenmesi ile stromada gelişen şiddetli ödem ve konjesyon önlenmiştir( $P < 0.01^{**}$ ).

$a_3$ )Sadece GnRh verilenlerle kontrol grubu arasında stromal ödem ve konjesyon açısından fark saptanmamıştır( $P > 0.05n.s$ ).

$b_1$ )Sadece GnRh verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı stromal luteinizasyon gelişmiştir( $P < 0.001^{***}$ ).

$b_2$ )HMG+HCG verilen grupla, HMG+HCG+GnRh verilen grup arasında stromal luteinizasyon açısından önemli bir fark yoktur ( $P > 0.05n.s$ ).

$b_3$ )Her iki grupla kontrol grubu arasındaki fark önemlidir( $P < 0.01^{**}$ ).

$c_1$ )HMG+HCG verilen grupta kontrol grubuna göre çok sayıda sekonder-tersiyer follikül gelişimi sağlanmıştır( $P < 0.001^{***}$ ).

$C_2$ )HMG+HCG tedavisine gonadotropin GnRh eklenmesi ile sekonder-tersiyer follikül gelişimi önlenememiştir( $P > 0.05n.s$ ).

d<sub>1</sub>)HMG+HCG uygulaması ile kontrol grubuna göre anlamlı oranda kistik follikül ( $P < 0.05^*$ ), kistik veya hemorajik korpus luteum gelişimi sağlanmıştır( $P < 0.05^*$ ).

d<sub>2</sub>)HMG+HCG tedavisine HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenmesiyle kistik follikül gelişimi ( $P < 0.05^*$ ) ve kistik veya hemorajik korpus luteum gelişimi önlenmiştir( $P < 0.05^*$ ).

d<sub>3</sub>)Kontrol grubu ile tedaviye HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenen grup arasında anlamlı fark yoktur( $P > 0.05n.s$ ).

11-İmmatür dişi ratların hergün alınan hormonal vaginal smirlerinin değerlendirilmesinde;

a)HMG+HCG uygulanan immatür dişi ratlarda 4 günlük düzenlik siklus sağlandığı saptanmıştır( $P < 0.001^{***}$ ).

b)Tedaviye HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenmesiyle siklus diöstrus döneminde kalmıştır( $P < 0.001^{***}$ ).

c)Sadece GnRh verilen grupta siklus diöstrus döneminde kalmıştır( $P < 0.001^{***}$ ).

12-İmmatür dişi ratlarda adenohipofizin elektronmikroskopik değerlendirmesinde;

a)HMG+HCG verilen grupta, FSH-LH hücrelerinde sekretuar aktiviteye bağlı endoplazmik retikulum granüllerinde artma, golgi cisimciğinde sayıca artış saptanmıştır.

b)HMG+HCG tedavisine HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenen grupta endoplazmik retikulum granüllerinde artış, golgi cisimciğinin sisternalarında genişleme, stromada veziküler oluşumlar saptanmıştır.

c)Sadece GnRh verilen grupta tüm hücre sayısında azalma sitoplazmada granül sayısında düşüş görülmüştür.

## TARTIŞMA

İmmatür dişi ratlarda; OHSS oluşturulması, GnRh'nun sendromu önlemedeki etkinliğinin araştırılması ve hipofiz, over, endometriumda yaptığı histopatolojik değişikliklerin değerlendirilmesinde;

Vücut ağırlığının günler esas alınarak, gruplar arasındaki değişimleri, analiz ve istatistiksel sonuçları Tablo I ve IV, Grafik 1, sonuç 1,2, ve 3'de verilmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar şöyleydi; 1 ve 3.günlerde gruplar arasında vücut ağırlığı açısından önemli farklılık yokken( $P > 0.05$ n.s,Tablo II ve III, Grafik 1), 5. günde kontrol grubuyla HMG+HCG verilen grup arasında anlamlı fark saptandı( $P < 0.01^{**}$ , Tablo IV, Sonuç 1).

Kaynak taramasında ratlarda yapılmış benzer deneye rastlanmamıştır.

Dölen tarafından immatür ve matür farelerde yapılan çalışmada; HMG+HCG uygulaması ile immatür ve matür grupta vücut ağırlığı artmıştır(24).

Aynı şekilde Pride ve ark. tavşan modelinde yaptıkları çalışmada, gonadotropinlerle vücut ağırlığında artış saptamışlardır(22).

İnsanlarda; 3 günde 2-3kg.'lık kilo artışı OHSS'nun tanı kriteri olarak kabul edilmekte, hastanın klinik takibinde önemli rol oynamaktadır(25).

Sendromdaki kilo artışı, genel vücut ödemeine bağlanmaktadır(2,14,22-24). OHSS geliştirilen hayvanlardan sadece tavşanların bir bölümünde, genel ödem belirtilerinden plevral effüzyon ve asit saptanabilmiştir(2,23).

Çalışmamızda HMG+HCG verilen grupta vücut ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı artış olmasına rağmen hiçbir denekte plevral effüzyon ve asit görülmedi.

Sonuçlarımız kaynaklarla uyumlu bulundu.

Deneklerin vücut ağırlığındaki artış, tedaviye GnRh eklenmesiyle önlenemedi( $P > 0.05$ n.s, Tablo IV, Grafik 1, Sonuç 2).

Pride ve ark.; tavşanlarda yaptıkları benzer deneyde aynı sonucu elde etmişlerdir(22).

Vücut ağırlığındaki artış; insanlarda OHSS'nun gelişim ve izlenmesinde önemli yer tutarken, yapılan hayvan deneylerinde sendromun değerlendirilmesinde yer verilmemektedir(14,22,24).

Sadece GnRh verilen gruptaki vücut ağırlığındaki artış, kontrol grubu ile benzerdir( $P > 0.05$ n.s, Tablo IV, Grafik 1, Sonuç 3). GnRh'nun vücut ağırlığı üzerine, gonadlar ve hipofizdekine benzer inhibitör etkisi saptanmamıştır(62,63,65).

Öte yandan, OHSS'nun ana kriterlerinden, over ağırlığındaki değişiklikler insanların yanısıra hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda da kriter olarak ele alınmaktadır(22-27,31). Çalışmamızda, her iki overin ortalama ağırlığı değerlendirilmiştir. Veriler ve istatistikî analizleri Tablo V ve VI, Grafik 2'de sunulmuştur. Bu verilere göre; HMG+HCG verilen grubun ortalama over ağırlığında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış saptandı( $P < 0.05^*$ , Tablo VI, Grafik 2, Sonuç 4).

Kaynak taramasında; Rippel ve Johnson immatür ratlarda, HCG'nin, FSH'na karşı ov erlerin duyarlılığını arttırdığını göstermişlerdir. Bu etkiye bağlı olarak FSH+HCG verilen immatür ratlarda, over ağırlıkları kontrol grubuna oranla artmıştır(70).

Hsueh ve ark.; immatür hipofizektomili ratlarda in vivo ve invitro olarak FSH uygulaması ile over ağırlığının arttığını bildirmişlerdir(64).

Aynı şekilde Polishuk, Schenker, Knox, tavşanlarda HMG vererek over ağırlığında 2-10 misli artış sağlamışlardır(22).

Dölen, immatür ve matür farelere HMG+HCG vererek, over+ uterus ağırlığının arttığını göstermiştir(24).

Gonadotropinlerle overlerdeki ağırlık artışı, artan östrogen etkisine bağlı olarak kapiller permeabilitede artış sonucu görülen ödem, konjesyon ve gelişen multiple kistik folliküllerle açıklanmaktadır(25).

Bulgularımız kaynak bulguları ile uyumludur.

Diğer taraftan HMG+HCG'ye GnRh eklenmesi ratların ortalama over ağırlığındaki artışı önlemedi( $P > 0.05n.s$ , Tablo VI, Sonuç 5).

Kaynak taramasında; GnRh'nun üretim fonksiyonunu inhibe edici mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, hipofiz seviyesinde etkisine inanıldığı halde, over seviyesindeki aktivitesinin gözardı edilmemesi gerektiği vurgulanmaktadır(11, 62-64,70).

Nimrod ve ark. immatür hipofizektomili ratların granüloza hücrelerinde, FSH'na özgü reseptörleri invitro olarak göstermişlerdir(6).

Mayar; intakt ve hipofizektomili immatür dışı ratlarda HCG ile kontrol grubuna göre artan over ağırlığının, tedaviye GnRh analogu eklenmesiyle önlendiğini bildirmiştir. Bu grupta radioaktif I<sup>125</sup> ile işaretli GnRh analogu tek doz veya uzun süre uygulamayı takiben, hipofiz ve over tarafından hızla doku içine alınmıştır. Hipofiz yokluğunda radyoaktif GnRh'nın over tarafından benzer şekilde doku içine alınımı, hipofizin yanısıra overlerde de GnRh reseptörlerinin varlığını ve bu reseptörler aracılığı ile overlere direk inhibitör etkinin ortaya çıkışını açıklamaktadır(65).

Hsueh ve ark.; immatür hipofizektomili dişi ratlarda invivo ve invitro olarak FSH uygulamasını takiben granüloza hücrelerinde LH-HCG reseptörlerinin arttığını, tedaviye GnRh eklenmesi ile bu etkinin önlendiğini ve overlerde artışının inhibe edildiğini bildirmişlerdir(64).

Pride ve ark.; tavşanlarda, HMG ile sağlanan over ağırlık artışının GnRh ile önlenmediğini saptamışlardır(22).

Uyguladığımız doz Mayar'ın immatür ratlarda gonadal inhibisyonu sağlayan 5mikrogr. lık dozunun 3 katına olmasına karşın Mayar, Hsueh, Lippel'in sonuçlarının tersine over ağırlığında artışın önlenememesi, tedavi süremizin kısa oluşuna bağlandı. Bilindiği gibi, GnRh'nın gonadal inhibitör etkisi dozun yanısıra uygulama süresi ile ilişkilidir(11,57).

Ancak aldığımız sonuç, farklı modele, değişik dozlarda verilmesine rağmen Pride'ninki ile benzerdir.

Öte yandan sadece GnRh verilen grupta, overlerdeki ağırlık artışı, kontrol grubuna göre anlamlı değildi( $P > 0.05$ n.s, Tablo VI, Grafik 2, Sonuç 6).

Kaynak taramasında, Sandow ve Frazer GnRh'na karşı aktif immunizasyon sağlanan dişi ve erkek ratlarda gonadal involusyonun geliştiğini saptamışlardır(11).

Rippel, Kledzik, Hsueh, Wehl, GnRh analogu uygulamasıyla over ağırlığında HMG ve HCG etkisiyle oluşan artışın önlenildiğini bildirmişlerdir(11,62,63,70).

Elde ettiğimiz sonuç, literatür ile uygunluk göstermektedir. Uyguladığımız dozla immatür dişi ratlarda gonadal seviyede inhibisyon sağlanmış olması, dozumuzun suprafizyolojik doz olduğunu gösterir.

Çalışmamızda uterus ağırlığındaki değişiklikler bir başka parametreyi oluşturmaktaydı. Gruplara göre uterus ağırlıklarındaki değişim verileri Tablo VII, VIII, Grafik 3, sonuç 7, 8 ve 9'da verilmiştir.

Bu verilere göre; HMG+HCG uygulaması ile immatür ratların uterus ağırlıklarında, kontrol grubuna göre anlamlı artış olmuştur( $P < 0.001^{**}$ , Tablo VIII, Grafik 3, Sonuç 7).

Kaynak taramasında ratlarda yapılan benzer çalışma bulunmamıştır. Yapılan bir çok çalışmada uterus ağırlığının parametre olarak alınmadığı görülmüştür.

Dölen dişi immatür ve matür farelerde HMG+HCG uygulaması sonucu her iki grupta uterus+over ağırlığında artış saptamıştır(24).



Tavşan modelinde gonadotropinlerle OHSS geliştirilmesinin uterusu ağırlık artışına neden olduğu bildirilmiştir(22,24).

Rippel ve Johnson, HCG uygulaması ile immatür ratlarda uterus ağırlığının arttığını gözlemişlerdir(70).

Bulgularımız kaynak bulguları ile uyumludur.

Çalışmamızda HMG+HCG'ye GnRh eklenmesiyle, uterus ağırlığındaki artış önlenmemiştir( $P > 0.05n.s$ , Tablo VIII, Grafik 3, Sonuç 8).

İmmatür ratlarda; GnRh'nın HCG ile birlikte veya HCG'den sonra uygulanmasını HCG'ye bağlı uterus ağırlığındaki artışı önlediği bildirilmiştir(70).

Tavşan modelinde yapılan benzer çalışmada aynı sonuç alınamamıştır(22).

GnRh'nın uterus ağırlığı üzerine etkisi, direk overlere yaptığı antisteroidogenetik etkiyle, östrojen ve progesterona bağlı uterus ağırlığındaki artışı inhibe etme şeklinde açıklanmaktadır.

Sonuçlarımızın kaynaklarda bildirilenlerden farklı olmasını, GnRh'nın 4 gün gibi kısa süreli uygulamasına bağladık. Daha uzun süreli uygulama sonucu değiştirebilir.

Sadece GnRh uyguladığımız grupla, kontrol grubu arasında uterus ağırlığı açısından anlamlı fark yoktu( $P > 0.05n.s$ , Tablo VIII, Grafik 3, Sonuç 9).

Rippel ve ark; 3 gün süre ile günde 2 kez GnRh analogu uygulaması ile hipofizektomili immatür ratlarda, kontrol grubuna oranla uterus ağırlığında önemli bir artış saptamamışlardır.

Aynı çalışmada intakt ratlarda da benzer sonuçların alınması, hipofizektominin etkisiz olduğunu ortaya koymaktadır(70).

Sonuçlarımız kaynaklarda bildirilenlerle uyumludur.

OHSS'nun hayvan modellerinde tanı kriterleri arasında, overin histopatolojik değişiklikleri önemli yer tutmaktadır(22, 23,24,40,45,62,63,64,65,70).

Çalışmamızda overlerde oluşan histopatolojik değişikliklerden stromal ödem ve konjesyona ait veriler ve analizler Tablo IX, Sonuç 10a'da verilmişti.

Elde ettiğimiz verilerden HMG+HCG uygulanan grupta, kontrol grubuna göre stromal ödem ve konjesyonda önemli artış saptanmıştır( $P < 0.01^{**}$ , Tablo IX, Sonuç 10a<sub>1</sub>).

Kaynak taramasında, hayvan modellerinde OHSS geliştirilmesinde önceki yıllarda değerlendirmeye alınan ovarian stromal ödem ve konjesyonun, son yıllarda yerini overlerdeki FSH, LH reseptör tayinine bıraktığı gözlenmiştir.

İmmatür ratlarda benzer çalışmaya rastlanmamıştır.

Pride, tavşanlarda HMG ile ovarian stromal ödem ve konjesyon oluşturmuştur(22).

Dölen, immatür ve matür farelerde HMG+HCG ile overlerde stromal ödem ve konjesyon gözlediklerini bildirmiştir(24).

Sonuçlarımız kaynaklar ile uyumludur.

Çalışmamızda, HMG+HCG ile immatür dişi ratlarda gelişen ovarian stromal ödem ve konjesyonun tedaviye HCG'den bir gün sonra GnRh eklenmesiyle önlendiğini gördük( $P < 0.01^{**}$ , Tablo IX, Sonuç 10a<sub>2</sub>).

Pride tavşanlarda 8 gün süreyle günde 2 kez GnRh vererek overlerde stromal ödem ve konjesyonun önlendiğini bildirmiştir(22).

Johnson, Hsueh, Mayar, Rippel; GnRh verilen immatür ratlarda önceden verilen FSH ve HCG ile artan FSH, LH/HCG reseptör sayısında azalma ve  $E_2$ , progesteron salgısında düşüş saptamışlardır. Bu etkiye bağlı olarak, GnRh ile ovarian stromal ödem ve konjesyon önlenebilmektedir(22,63,65,66,70).

Sonuçlarımız kaynaklarla uygunluk göstermektedir.

Diğer taraftan sadece GnRh verilen grupla kontrol grubu arasında overlerdeki stromal ödem ve konjesyon açısından önemli fark saptamadık( $P > 0.05$ n.s, Tablo IX, Sonuç 10a<sub>3</sub>). GnRh'nun over seviyesinde inhibitör etkisi bu sonucu açıklamaktadır.

Çalışmamızda stromal luteinizasyon, overin histopatolojik incelemesinde parametrelerimizden bir diğeri idi. Bu parametre ile ilgili veriler ve analizler Tablo X, sonuç 10b'de verilmiştir.

Aldığımız sonuçlar; HMG+HCG verilen grupla, kontrol grubu arasında stromal luteinizasyon arasında anlamlı fark olduğu ( $P < 0.001^{***}$ , Tablo X, Sonuç 10b<sub>2</sub>), tedaviye GnRh eklenmesiyle bu farkın önlenemediği( $P > 0.05$ n.s, Tablo X, Sonuç 10b<sub>2</sub>), ancak sadece GnRh verilen grupta anlamlı farkın geliştiği şekildeydi( $P < 0.01^{**}$ , Tablo X, Sonuç 10b<sub>1</sub>).

Kaynak taramasında çelişkili sonuçlar bildirilmektedir.

İmmatür dişi ratlarda; HMG, HCG verilmesi ile granüloza hücrelerinde FSH ve FSH'nın etkisi ile LH-HCG reseptörlerinde

sayıca artış olduğu invivo ve invitro çalışmalarla gösterilmiştir(63,64). FSH ve LH/HCG reseptör artışına paralel olarak, yeterli LH aktivitesi ile overlerde stromal luteinizasyon gelişmektedir.

Hsueh; intakt ve hipofizeketomili immatür dişi ratlarda, tedaviye FSH'nın yanısıra GnRh eklenmesinin granüloza hücrelerinde LH/HCG reseptörlerinde 66 kez azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Bu etkiye bağlı olarak östrojen salgısında %40, progesteron salgısında %20 oranında azalma saptanmıştır. Ancak, overlerin histopatolojik incelenmesinde tedaviye GnRh eklenen grupta stromal luteinizasyonda artma gözlemlenmiştir. Bu etki; GnRh'nun uzun süre kullanımı ile ortaya çıkan overler üzerine inhibitör etkisine rağmen, salgılanan FSH'ya bağlı ovulasyon olmaksızın gelişen prematür luteinizasyon şeklinde açıklanmaktadır(63).

Diğer taraftan Corbin ve ark; matür dişi ratlarda supra-fizyolojik dozlarda GnRh verilmesinin diöstrus fazının uzaması, östrus fazının supresyonu yanısıra luteolizise neden olduğunu göstermişlerdir(11).

Rivier ve ark; gebe ratlarda blastokist döneminde GnRh verilmesi ile Lh sekresyonunun inhibisyonuna bağlı olarak implante blastokistlerin rezorbe olduğunu bildirmişlerdir(17).

FSH'ya GnRh eklenmesi ile progesteron seviyesinde %20'ye varan düşüş olmasına rağmen, overlerde progesteron etkisiyle geliştiği bilinen luteinizasyonun görülmesi klasik bilgilere ters düşmektedir. Bir taraftan luteinizasyonda artış, diğer

taraftan luteolizisin saptanması GnRh'nın verilme dozu ile açıklanabilirse de henüz açıklanamayan mekanizma veya mekanizmalarda sonuçlarda rol oynamış olabilir. GnRh'nın etki şekli kesin açıklık kazanmış değildir.

Çalışmamızda; HMG+HCG ve HMG+HCG+GnRh verilen gruplardaki sonuçlarımız Hsueh'un sonuçları ile uyumludur.

Sadece GnRh verilen gruptaki şiddetli stromal luteinizasyon nedeni, yukarıda belirtildiği gibi tam bilinmemekle birlikte kaynaklarda bildirilen GnRh'nın direkt oositler üzerinden ovum fonksiyonlarını etkileyerek veya indirekt olarak granüloza hücre fonksiyonlarını bozarak neden olduğu prematür luteinizasyonla açıklanabilir(63).

Kaynak taramasında benzer çalışma bulunamamıştır.

Diğer taraftan OHSS tanısında; hem insanlarda, hem de hayvan modellerinde overlerde çok sayıda follikül gelişimi önemli kriterlerdendir(21-27).

Çalışmamızda sekonder, tersiyer follikül gelişimi ve sayısı OHSS'nun oluşturulması ve incelenmesinde kriter olarak alınmıştır. Veriler ve analizler Tablo XI, sonuç 10c'de sunulmuştur.

HMG+HCG verilen grupta, kontrol grubuna göre çok sayıda sekonder-tersiyer follikül geliştiği görüldü( $P < 0.001^{***}$ , Tablo XI, Sonuç 10c<sub>1</sub>).

Kaynak taramasında; Pride ve ark. tavşanlarda 7 gün süre ile günde tek ampul HMG(75 IU) ile, Dölen immatür farelerde 3 gün süreyle (300 IU/kg) HMG ve 3000 IU/kg HCG ile, Hsueh

ve ark. immatür ratlarda 2 gün süreli günde tek doz 100mikrogr. FSH enjeksiyonu ile overlerde çok sayıda sekonder ve tersiyer follikül elde ettikleri saptanmıştır(22,24,63)..

Sonucumuz kaynaklardaki sonuçlarla uyumludur.

Öte yandan çalışmamızda HMG+HCG tedavisine GnRh eklenmesiyle gelişen follikül sayısında fark görülmedi( $P > 0.05$ n.s, Tablo XI, Sonuç 10c<sub>2</sub>).

Pride ve ark.'ın tavşan omdelinde yaptıkları çalışmada HMG verilmesi ile gelişen fazla sayıda tersiyer follikül, tedaviye GnRh eklenmesiyle önlenememiştir(22).

Hsueh ve ark; immatür hipofizektomili ratlarda FSH tedavisi ile fazla sayıda Graaf follikülü elde etmişken, tedaviye GnRh eklenmesiyle antral formasyonu tamamlamış folliküllerin geliştiğini saptamışlardır(63).

Sonuçlarımız kaynaklardaki sonuçlarla uygunluk göstermektedir.

Diğer taraftan HMG+HCG uygulaması ile immatür ratların overlerinde kontrol grubuna göre anlamlı oranda kistik follikül( $P < 0.05^*$ , Tablo XII, Sonuç 10d<sub>1</sub>) ve kistik veya hemorajik korpus luteum gelişimi saptandı( $P < 0.05^*$ , Tablo XIII, Sonuç 10d<sub>1</sub>).

Uzun süreli yüksek doz gonadotropin uygulaması ile overlerde kistik follikül ve kistik veya hemorajik korpus luteum gelişim, ovulasyon indüksiyonu yapılan kadınlarda ve hayvan modellerinde OHSS'nun tanı kriteri olarak bilinmektedir(1,4, 6,7,21-25,40).

Dölen; matür ve immatür farelere HMG+HCG uygulaması ile kistik follikül sayısının arttığını saptamıştır(24).

Knox ve Pride HMG vererek OHSS geliştirdikleri tavşanların overlerinde çok sayıda kistik follikül ve kistik veya hemorajik korpus luteum oluştuğunu gözlemişlerdir(22,40).

Sonuçlarımız bu kaynaklarla uyum içindedir.

Diğer yandan çalışmamızda; HMG+HCG tedavisinde HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenmesi ile kistik follikül ( $P < 0.05^*$ , Tablo XII, Sonuç 10d<sub>2</sub>) ve kistik veya hemorajik korpus luteum gelişimi önlenmiştir( $P < 0.05^*$ , Tablo XIII, Sonuç 10d<sub>2</sub>).

Kaynak taramasında immatür ratlarda benzer çalışmaya rastlanmamıştır.

Pride'nin tavşan modelinde yaptığı benzer çalışmada aynı sonuç bildirilmemiştir(22).

Erickson, Kledzik, Mayar, Rippel ve Johnson FSH veya HCG vererek oluşturdukları OHSS'da tedaviye GnRh eklenmesiyle overin granüloza hücrelerinde LH/HCG ve FSH reseptörlerinde azalma, serum gonadotropin ve seks steroid seviyesinde düşüş, over ve uterus ağırlığında azalma saptamışlardır(62-65,70).

Bu çalışmalarda overin histopatolojik yapısı değerlendirilmediği halde, bulgular GnRh etkisi ile oluşan ovarian ve hipofizer inhibisyonu göstermektedir.

Çalışmamızda endometriumun histopatolojik değerlendirilmesi yapıldı. Bu değerlendirme sonucunda; kontrol grubunda endometrium ve gland epiteli proliferasyon fazı ile uyumlu bulundu. Deneklerin immatür olmaları bu bulguyu açıklamaktadır.

HMG+HCG verilen grupta; eksojen gonadotropinlerin stimulator etkisiyle deneklerin tümünde, endometriumda ve gland epitelinde sekretuar aktivite saptandı.

Kaynak taramasında immatür dişi ratlarda benzer çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak gonadotropinlerle stimülasyon sonucu artan östrojen ve progesteron yapımı, overlerin yanısıra uterusu etkileyerek, endometirumda siklik değişikliklere neden olduğu bilinmektedir.

Bu açıdan sonuçlarımız klasik bilgilerle paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda; HMG+HCG'ye GnRh eklenmesiyle endometrium ve gland epitelinde sekretuar aktivite yanısıra stromada desidual transformasyon saptandı. Bu bulgu over stromasında saptanan luteinizasyon artışıyla paralellik göstermekteydi. Endometrium stromasındaki desidual transformasyonun progesteron etkisiyle oluştuğu bilinmektedir. Ancak gonadotropinlere GnRh eklenmesiyle progesteron miktarında azalma deneylerle gösterilmiştir. Bu beklenmeyen etki; Hsueh ve ark.'ın immatür dişi ratlarda gösterdikleri gibi GnRh uygulaması ile inhibisyona rağmen overlerde FSH etkisinin gözlenebilmesiyle bağlantılı olarak, aynı etkinin uterusu yansıması şeklinde açıklanabilir (63).

Sadece GnRh verdiğimiz grupta endometrium ve gland epitelinde erken sekresyon fazına uyan değişiklikler gözlemlendi.

Kaynak taramasında; Lundkvist ve ark. reproduktif dönemde 7 sağlıklı kadına 12-25 ay süre ile GnRh uygulaması



sonucu endometriumda atrofi saptamışlardır. Bu etki GnRh tedavisinin kesilmesi ile geri dönmüştür(59).

Kledzik ve ark.; matür dişi ratlara GnRh verilmesinden sonra, intrauterin sıvı azalması ve plazma progesteron konsantrasyonunda düşüşe bağlı olarak uterin ağırlıkta azalma bildirmişlerdir(62).

Johnson ve ark.; immatür dişi ratlarda GnRh vererek uterin ağırlıkta, FSH verilenlere oranla düşüş gözlemiştir(66).

Uterus ağırlığındaki artışın gonadotropinler ve östrojen-progesteronun uterotopik etkisiyle oluştuğu bilinmektedir (66,70). Bu etkinin yanısıra gonadotropinler ve östrojen-progesteronun endometrial değişikliklere neden olduğu saptanmıştır. GnRh ile belirtilen etkilerin inhibisyonu uterusta ağırlık azalmasının yanısıra, uygulanan doz ve süre ile bağlantılı olarak endometriumdaki siklik değişikliklerin önlenmesine de yol açacaktır.

Bu açıdan elde ettiğimiz sonuç kaynaklarla uyumludur.

Çalışmamızda günlük vaginal smir takibi, parametrelerimizden birini oluşturmaktaydı. Veriler ve analizler Tablo XIV ,Sonuç 11'de verilmiştir.

Kontrol grubunda tüm deneklerde vaginal açıklık 7.günde gelişti. Vagene açılanların vaginal smir takiplerinde diöstrus fazında buldukları gözlendi(Tablo XIV).

Kaynak taramasında; Johnson ve ark. bir çalışmalarında kontrol grubundaki 22 günlük immatür ratların tümünde vaginal açıklığın 38 günlükken gerçekleştiğini bildirmişlerdir(66).

Çalışmamızda kontrol grubundaki ratlar deneyin başlan-  
gıcında 28-30 günlüktüler. Tüm deneklerde vaginal açıklığın  
sağlandığı dönem 35-37 günlük oldukları döneme rastlamaktay-  
dı.

Vaginal açıklık östrojen stimülasyonu ile gerçekleşmek-  
le birlikte; ışık, ısı gibi çevresel faktörlerden de etkilen-  
mektedir. Uzun süre ışıklı ortamda bırakılan immatür ratlarda  
polikistik ovarian hastalık oluşturulmuştur(72).

Uygulamamız sırasında denekler 12 saat ışıklı ortamda  
ve  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de tutulmuşlardır.

Kaynaklardan farklı sonuç almamız çevresel faktörlere  
bağlanabilir.

Kontrol grubu dışındaki diğer 4 grupta vaginal açıklık  
tedavinin 4.gününde tüm deneklerde oluştu. Gruplar arasında va-  
genin açılma zamanı açısından anlamlı fark saptanmadı( $P > 0.05n.s$ ).

Rippel 21 günlük dişi ratlara günde 2 doz 0.5mikrogr.  
3 gün süre ile GnRh analogu verilmesi sonucu vaginal açılma-  
nın, kontrol grubuna göre 5 gün geciktiğini bildirmiştir(70).

Johnson, 22 günlük dişi ratlara 0.5mikrogr. günde 2 doz  
şeklinde GnRh analogu uygulaması sonrasında vaginal açıklığın,  
kontrol grubuna göre 15 gün geciktiğini gözlemiştir(66).

Sonuçlar arasındaki farklılık, uygulanan GnRh analogu-  
nun aktivitesi, veriliş süre ve dozu ile açıklanabilir.

Çalışma grubumuzda vagenlerin kaynaklarda bildirilenler-  
den daha erken açılması deneklerin kaynaklara göre daha ileri  
yaşta olmasına bağlanabilir.

Diğer taraftan çalışmamız sırasında hergün aldığımız vaginal smirlerin hormonal değerlendirme sonuçları Tablo XIV, Sonuç 11'de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre; kontrol grubundaki immatür ratların diöstrus fazında oldukları, HMG+HCG ile 2 kez 4 günlük siklus sağlandığı saptandı. ( $P < 0.01^{**}$ , Tablo XIV, Sonuç 11a). Kontrol grubu ile HMG+HCG verilen grup arasında vaginal hormonal smirler açısından anlamlı fark gelişti ( $P < 0.001^{**}$ , Tablo XIV, Sonuç 11a).

Kaynak taramasında immatür ratlarda benzer çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak HMG+HCG uygulaması ile insanlarda ve hayvan modellerinde ovarian stimülasyon geliştiği bilinmektedir (1,4,21-25,29). Overlerdeki stimülasyona paralel olarak plazma östrojen ve progesteron seviyesindeki artış bir çok hayvan modelinde vaginal smirlerin hormonal değerlendirmesi ile izlenmektedir (62, 66,70,72).

Çalışmamızda gonadotropinlerle düzenli 4 günlük siklusun sağlanmasını, gonadotropinlerin ovarian stimülasyonu ile açıkladık.

HMG+HCG tedavisine HCG'de 1 gün sonra GnRh eklenen grupta tedavinin 7.gününde HMG+HCG verilen gruba göre anlamlı fark gözlemlendi ( $P < 0.01^*$ , Tablo XIV, Sonuç 11b). HMG+HCG tedavisine HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenen grupta, tedavinin ilk 4 günü HMG+HCG ile sağlanan normal siklusun, tedavinin 2.yarisında diöstrus döneminde kaldığı vaginal hormonal smirlerle saptandı.

Kaynak taramasında immatür ratlarda benzer çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak FSH ile LH'in birlikte verilmesi sonucu, overlerde follikül gelişiminin sağlanması yanısıra; uterus, vagen oviduktlarda östrojen salgısının artmasına bağlı olarak maturasyonun hızlandığı bilinmektedir(11,64).

Hsueh ve ark. hipofizektomili immatür ratlarda yaptıkları çalışmada; FSH verilmesi ile artan östrojen salınımının, tedaviye GnRh analogu eklenmesi ile direkt ovarian etki sonucu düştüğünü göstermişlerdir(64).

Mayar ve ark.; immatür dişi ratlarda HCG uygulaması ile sağlanan plazma LH yüksekliğinin tedaviye GnRh eklenmesi ile düştüğünü bildirirlerken, Kledzik 4 günlük siklusu olan matür ratların overlerinde LH ve FSH reseptörlerinin östrusta en düşük seviyede olduğunu, zamanla artarak proöstrusta en yüksek seviyeye ulaştığını, diöstrusta tek doz GnRh enjeksiyonunu takiben LH ve FSH reseptörlerinde önemli azalma geliştiğini saptamıştır(62,55). Bu grupta ovulasyon önlenmiş ve vaginal smirler diöstrus döneminde kalmışlardır.

Sonuçlarımız kaynaklarla uyum göstermektedir.

Sadece GnRh verilen grubun vaginal smir değerlendirilmesinde; deneklerin diöstrus fazında kaldıkları görüldü. Kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark yoktu( $P > 0.05n.s$ , Tablo XIV).

Johnson ve ark.'ın immatür ratlarda yaptıkları benzer çalışmada 10gün süreli GnRh analogu verilmesi ile vaginal smirlerin diöstrus döneminde kalıp, asiklik özellik gösterdikleri saptanmıştır(66).

Vaginal smirlerdeki bulgular, GnRh'nun uzun süreli uygulanımı ile oluşan hipofizer ve ovarian inhibisyonun vagen epiteline yansımastır.

Bulgularımız kaynaklarla paralellik göstermektedir.

Ön çalışma olarak her gruptan 2, kontrol grubundan 1 denekten ultrastrüktürel seviyede değerlendirme yapmak amacıyla adenohipofiz alındı. Sonuçlar şöyleydi; HMG+HCG verilen grupta golgi cisimciklerinde sayıca ve sekretuar aktivitede artış saptanırken, HMG+HCG tedavisine HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenmesiyle salgı birikimine bağlı, endoplazmik retikülüm granüllerinde ve stromal veziküler yapılarda artış gözlemlendi.

Kaynak taramasında benzer çalışma bulunamamıştır.

Erdinç; 30 günlük immatür dişi ratların hipofizlerini elektron mikroskopta incelemiş, immatür ratlarla, matür ratların elektron mikroskobik seviyede hipofizer yapılarının benzer olduğunu saptamıştır. Ana hipofizer yapıları, sitoplazma içinde, lobule nukleus, golgi kompleksi, agranuler veya granuler endoplazmik retikülüm, değişik formlarda mitokondrium, lipit damlacıkları şeklinde bildirmiştir(70).

Gonzales ve ark. immatür erkek ratlarda yaptıkları çalışmada, lipit damlacıklarının pinelositlerden perikapiller alana sekrete edildiklerini saptayarak, hipofizde yapılan hormonların direkt kapiller alana boşaltıldıklarını göstermişlerdir(74).

FSH/LH'nın hipofiz ön lobunda bazofil hücrelerinde sentezlenip, koşullara uygun olarak granüllerde depolandığı veya salgılandığı bilinmektedir(75,76).

Auclair, erkek ratlarda, 1 hafta süreli GnRh agonist analogunun uygulanması ile plazma testesteron/dihidro testesteron konsantrasyonu ve testislerde LH/HCG reseptörlerinde düşüş saptarken, LH veya HCG uygulaması ile reseptör sayısının eski seviyesine ulaştığını gözlemişlerdir(62).

Frazer ve ark.; koçlara GnRh uygulamışlar, ilk uygulamayı takiben plazma FSH, LH, testesteron konsantrasyonunda artış, tekrarlayan enjeksiyonlar sonucu FSH, LH pikinde giderek düşme saptamışlardır(68).

Sharpe ve ark.; immatür erkek ratlarda 7 gün süreli GnRh uygulamasını takiben kontrol grubunda görülen serum LH ve testesteron, hipofizdeki LH, FSH içeriğinde artışın önlendiğini bildirmişlerdir(67).

Johnson ve ark.; immatür dişi ratlara günde 2 doz GnRh vermişler, ilk uygulamadan 1 saat sonra oluşan LH pikinin 6 saat sonra başlangıç seviyesine döndüğünü tekrarlayan GnRh dozlarıyla bu pikin daha düşük seviyede kaldığını 10 gün sonra sürekli düşük seviyede saptandığını bildirmişlerdir(66).

Sayılan çalışmalarda direk olarak hipofizin histopatolojik değerlendirmesi yapılmamakla birlikte, plazma LH, FSH seviyelerinin izlenmesi ve gonadlarda gonadotropin reseptörlerinin incelenmesi, hipofizdeki sekretuvar aktivite hakkında bilgi vermeye yeterlidir.

Bu açıdan; HMG+HCG verilerek ovarian stimülasyon sağlanan çalışma grubumuzda adenohipofizin elektron mikroskopik bulguları, diğer parametrelerimize paralel olarak sekretuvar aktivitede

artış göstermesi beklenen sonuçtur.

HMG+HCG ile aynı gün GnRh verilmesi; GnRh'nun ilk dozunun takiben kaynaklarda belirtilen uyarıcı etkinin gonadotropinlerin uyarıcı etkisine eklenmesi sonucu, hipofizdeki FSH ve LH hücrelerinde sekretuar aktivitenin artışına neden olmuştur.

Ancak HMG+HCG tedavisine HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenen grupta, FSH-LH'nın sekresyonunun inhibisyonuna bağlı olarak gonadotropoların sitoplazmasında golgi cisimciğinin veziküllerinde genişleme, endoplazmik retikulum granüllerinde artış saptandı.

Sadece GnRh verilen grupta tüm hücre tiplerinde azalma vardır. Perisinuzoidal hücrelerdeki yer yer granül birikimi sentezin erken safhada olduğunu, ancak salgılanmanın inhibe edildiği anlamını taşımaktadır.

Önceden de bildirildiği gibi çalışmamızdaki adenohipofizin ultrastrüktürel seviyedeki değerlendirmesi az sayıda denekle yapılan bir ön çalışmadır. Sonuçlarımız kaynak taramasında benzer çalışmaya rastlanamadığından karşılaştırma yapma olanağımız olmamasına rağmen, klasik bilgilerden yola çıkıldığında anlamlı bulunmuştur. Kesin ve istatistiksel sonuç sağlayabilmek için denek sayısı fazla çalışmalara gerek vardır.

## ÖZET

Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (DETAM) hayvan laboratuvarında immatür dişi ratlarda OHSS oluşturulması, GnRh'nun sendromu önleme ve tedavideki etkinliği, vaginal smirlerde görülen değişiklikler yanısıra endometrium üzerine ışık mikroskobu, hipofiz üzerine elektron mikroskobu düzeyinde yaptığı değişiklikler araştırıldı.

Bu amaçla, immatür dişi ratların dene sırasında ve sonunda vücut ağırlıklarındaki değişikliklerin, uterus, ortalama over ağırlıkları, overlerin histopatolojilerinin gelişen stromal ödem, konjesyon, luteinizasyon şiddeti, sekonder-terciyer follikül sayısı, kistik follikül, kistik veya hemorajik korpus luteum varlığı açısından değerlendirmeleri yapıldı.

Elde edilen sonuçlardan; immatür dişi ratlarda, HMG+HCG verilmesi ile vücut, uterus ortalama over ağırlıklarında artış, over stromasında şiddetli konjesyon, ödem, luteinizasyon gelişmesi, sekonder-terciyer follikül, kistik follikül, kistik veya hemorajik follikül oluşumu saptandı. Günlük vaginal smir takipleriyle normal siklusun geliştiği görüldü. Endometriumdaki bulgular diğer bulgulara uygun olarak sekretuar tipteydi. Sonuçlar istatistik analizlerle vurgulandı.



HMG+HCG tedavisine HCG'den 1 gün sonra GnRh eklenmesiyle, vücut, uterus, ortalama over ağırlıkları, sekonder-tersiyer follikul sayısı değişmezken, over stromasındaki luteinizasyon şiddetlendi. Konjesyon, kistik follikul, kistik veya hemorajik korpus luteum gelişimi önlendi. Vaginal smirleri diöstrus fazında kaldı. Endometrium stromasında desidual transformasyon saptandı. Bu bulgular istatistikî açıdan önemli bulundu.

Sadece GnRh verilmesi ile stromal luteinizasyon haricinde diğer parametrelerde kontrol grubuna göre anlamlı fark görülmedi.

Ön çalışma olarak planlanan adenohipofizin ultrastruktürel seviyede incelenmesi sonucunda; HMG+HCG verilen grupta FSH-LH hücrelerinde aktivite artışı, tedaviye GnRh eklenen grupta sekresyonun inhibisyonu ile ortaya çıkan bulgular saptandı.

## KAYNAKLAR

- 1-Şanay,S.:Ovulasyon induksiyon, Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi. 2:82-93,1988.
- 2-Yen,S.S.C.:Neuroendocrine control of Hypophyseal Function. Yen,S.S.C., Jaffe,R.B. Reproductive Endocrinology. W.B.Sounders Company, Philadelphia, 1986.S:58-67.
- 3-Yen,S.S.Y.:Clinical applications of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin releasing hormone analogs. Wallach, E.E.:Modern Trends 1983, Volum 39, No:3, S:257-262.
- 4-Kennedy,J.L., Adashi,E.Y.:Ovulation induction.Kempers,R.D: Obstetrics and Gynecology Clinics of North America. W.B.Sounders Company Harcourt Brace Jovanovich,Inc, Philadelphia,1987. Volume 14, N:4, S:831.
- 5-Sciarria,J.J.:Gynecology and Obstetrics.Harper and Rowand Publishers Philadelphia, 1984, Volum:5.
- 6-Fleming,R.,Coutis,R.R.T.:Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. Fertil and Steril. 45:226,1986.
- 7-Awadalla,S.G., Friedman,C.I.,Chin,N.W.:Follicular stimulation for in vitro fertilization using pituitary suppression and human menopausal gonadotropins. Fertil and Steril. 48:811, 1987.

- 8-Scialli, A.R.: The reproductive toxicity of ovulation induction. *Fertil and Steril*. 45:315, 1986.
- 9-Fleming, R., Haxton, M.J.: Combined gonadotropin-releasing hormone analog and exogenous gonadotropins for ovulation induction in infertile women. Efficacy related to ovarian function assessment. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 159:356, 1988.
- 10-Jansen, R.P.S., Handelsman, D.J., Boylon, L.M.: Pulsatile intravenous gonadotropin-releasing hormone for ovulation-induction in infertile women. 1. Safety and effectiveness with outpatient therapy. *Fertil and Steril*. 48:33, 1987.
- 11-Sadow, J., Clayton, R.N.: Pharmacology of LH-RH and its analogues. *Endocrinology of Human Infertility*. 221-246, 1981.
- 12-Lambalk, C.R., Schoemaker, J., Rees, G.P.: Short-term pituitary desensitization to luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) after pulsatile LH-RH administration in women with amenorrhea of suprapituitary origin. *Fertil and Steril*. 47:385, 1987.
- 13-Reid, R.L., Fretts, R., Vugt, V.A.D.: The theory and practice of ovulation induction with gonadotropin releasing hormone. *Am.J. Obstet Gynecol.* 158:177, 1988.
- 14-Speroff, L., Glass, R.H., Kase, N.G.: Induction of ovulation. *Clinical Gynecologic Endocrinology and infertility*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1988, S:583-600.
- 15-Zacur, H.A.: Ovulation induction with gonadotropin releasing hormone. *Fertil and Steril*. 44:435, 1985.

- 16-Matta,W.H.M.,Shaw,R.W: Endocrinologic and clinical evaluation following a single administration of a gonadotrophin-releasing hormone agonist(Zoledex), in a depot formulation, to premenopausal women. Fertil and Steril. 49:163,1988.
- 17-Rivier,C.,Rivier,J.:Chronic Effects of (D-Trp-Pro-NE t) luteinizing Hormone,Releasing Factor on Reproductive Processes in the Female Rat.Endocrinology.103:2299,1978.
- 18-Miller,D.S.,Reid,R.R.,Cetel,N.S.:Pulsatile Administration of Low-Dose Gonadotropin-Releasing Hormone. JAMA. 250:2937,1983.
- 19-Lemay,A.,Maheux,R.:Reversimle Pseudomenopause Induced by Repetitive Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Agonist Administration(Buserelin): A new Approach to the Treatment of Endometriosis. Raynaud,J.P. et al.:Medical Management of Endometriosis. Raven Press, New York,1984,S.263.
- 20-Sadow,J.:Clinical Applications of LHRH and its Analogues. Clinical End.18:571-592,1983.
- 21-Serafini,P.,Stone,B.:An alternate approach to controlled ovarian hyperstimulation in "poor responders"; pretreatment with a gonadotropin-releasing hormone analog. Fertil and Steril. 49:90,1988.
- 22-Knox,G.E.:Antihistamine blockade of the ovarian hyperstimulation syndrome. Am.J.Obstet Gynecol.118:992,1974.
- 23-Pride,S.M.,Yuen,H.B.:Relationship of gonadotropin releasing hormone danazol and prostoglandin blockade to ovarian enlargement and ascites formation of the ovarian hyperstimulation syndrome in the rabbit. Am.J.Obstet Gynecol.154:1155-60,1986.

- 24-Dölen,İ.:Farelerde OHSS oluşturulması ve antihistaminiklerin sendromu önlemedeki etkinliğinin araştırılması.Anadolu Tıp Dergisi. Cilt:10, Sayı:2, 1988.
- 25-Engel,T.,Jewelewicz,R.,Dyrenfurth,L.:Ovarian hyperstimulation syndrome. Am.J.Obstet Gynecol.112:1053,1972.
- 26-Schenker,J.G.,Polishuk,Z.W.:Ovarian Hyperstimulation Syndrome. Obstet and Gynecol.46:23,1975.
- 27-Polishuk,W.Z.,Schenker,G.J.:Ovarian Overstimulation Syndrome Fertil and Steril. 20X443,1969.
- 28-Nauot,D.,Margalioth,E.J.,Laufer,N.:Direkt correlation between plasma renin activity and severity of the ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil and Steril. 48:57,1987.
- 29-Dölen,İ.:Ovulasyon indüksiyonu uygulanan iki olguda gelişen ovarian hiperstimulasyon sendromu(OHSS) nun değerlendirilmesi.Anadolu Tıp Dergisi. Baskıda.
- 30-Martikainen,H.,Rönberg,L.:Anterior pituitary dysfunction during the luteal phase following ovarian hyperstimulation. Fertil. and Steril. 47:446, 1987.
- 31-Lash,S.R.:Ovarian overstimulation massive ascites and singleton pregnancy after clomiphene. JAMA, 207:753,1969.
- 32-Ellis,J.D., Willamson,J.G.:Factors influencing the pregnancy and complication rates with human menapausal gonadotrophin therapy. British Journal of Obstet. and Gynecol. 82:52-54, 1975.

- 33-MacLeod, S.C., Mitton, D.M., Parker, A.S.: Experience with induction of ovulation. *Am.J.Obstet Gynecol.* 108:814, 1970.
- 34-Marshall, J.R., Jacobson, A.: Dose Response Relationships of Ovulation Induction with Human Menopausal Gonadotropin. *J.Clin Endogr.* 29:106, 1969.
- 35-Blankstein, I., Shalev, J., Saadon, T.: Ovarian hyperstimulation syndrome prediction by number and size of preovulatory ovarian follicles. *Fertil and Steril.* 47:597, 1987.
- 36-Schweditsch, M.O., Keller, P.J.: Ovarian hyperstimulation during chronic pulsatile GnRh therapy. *Gynecol Obstet. Invest.* 17:276-277, 1984.
- 37-Blankstein, J., Quigley, M.: The anovulatory patient an orderly approach to evaluation and treatment. *Postgraduate Medicine Infertilite.* 83:97, 1988.
- 38-Harlin, J., Khan, S.A., Diczfalusy, E.: Molecular composition of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in commercial gonadotropin preparations. *Fertil and Steril.* 46:1055, 1986.
- 39-Benadiva, C.A., Rafael, Z.B., Strauss, J.F.: Ovarian response of individuals to different doses of human menopausal gonadotropin. *Fertil and Steril.* 49:997, 1988.
- 40-Pride, S.M., Ho Yuen, B., Moon, Y.S.: Clinical endocrinological and intraovarian prostoglandin F responses to H-1 receptor blockade in the ovarian hiperstimulation syndrome studies in the rabbit model. *Am.J.Obstet Gynecol.* 148:670, 1984.

- 41-Samant, K.K., Black, W.C.: Ovarian hyperstimulation syndrome. *Am. J. Obstet Gynecol.* 107:538, 1970.
- 42-Busbridge, N.J., Buckley, D.M.: Effects of ovarian hyperstimulation and isolated preovulatory on LH responses to GnRh in rats. *J. Reprod Fert.* 82, 329-336, 1988.
- 43-Hodziselimovic, F., Girard, J., Herzog, B.: Hormonal treatment of cryptorchidism. *Horm. Res.* 16:188-192, 1988.
- 44-Ililig, R., Torresani, T., Bucher, H.: Effect of intranasal LHRH therapy on plasma LH, FSH and testosterone and relation to clinical results in prepubertal boys with cryptorchidism. *Clinical Endocrinol.* 12:91-97, 1980.
- 45-Sadow, J., Petri, W.: Intranasal administration of peptides biological activity and therapeutic efficacy. *Pharma Literature Hoechst. Document N:00184:183-199, 1985.*
- 46-McLachland, R., Healy, D.L.: Clinical aspects of LHRH analogues in gynaecology a review. *British Journal of Obstet and Gynaecol* 93:431-454, 1986.
- 47-Morris, D.V., Abdulwahid, N.A.: The response of patients with organic hypothalamic-pituitary disease to pulsatile gonadotropin-releasing hormone therapy. *Fertil and Steril.* 47:54, 1987.
- 48-Jansen, R.P.S., Handelsman, D.J.: Pulsatile intravenous gonadotropin-releasing hormone for ovulation-induction in infertile women. II. Analysis of follicular and luteal phase responses. *Fertil. and Steril.* 48:39, 1987.

- 49-Jansen,R.P.S.,Handelsman,D.J.:Pulsatile intravenous gonadotropin-releasing hormone for ovulation-induction in infertile women. I.Analysis of follicular and luteal phase responses. Fertil and Steril.48:32,1987.
- 50-Fleming,R.:Induction of ovulation in Polycystic ovarian Disease. Gonadotropin Down Regulation in Gynecological Practice. Alan,R. Liss Inc.S:401-412,1986.
- 51-Charbannel,B.,Krempf,M.,Blachard,P.:Induction of ovulation in polycystic ovary syndrome with a combination of a luteinizing hormone-releasing hormone analog and exogenous gonadotropins. Fertil and Steril.47:920,1987.
- 52-Porter,R.N.,Smith,W.:Induction of ovulation for invitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. Lancet, 2:1284, 1984.
- 53-Nader,S.,Berkowitz,A.S.:Ovarian response to human menapousal gonadotropin after therapy with the gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide. Am.J.Obstet.Gynecol.158:403-4, 1988.
- 54-Porter,R.N., Smith,W.:Induction of ovulation for invitro fertilisation using Buserelin and gonadotropins. The Lancet 1:1284,1984.
- 55-Fleming,R.,Haxton,M.J.:Successful treatment of infertile women with oligomenorrhoea using a combination of an LHRH agonist and exogenous gonadotrophins. British Journal of Obstet and Gynecol.92:369-373,1985.



- 56-Chang, J.P., Graeter, J.S.: Desensitization pituitary Gonadotropes by Mediators of LH release Biochemical and biophysical research comm. 153:919, 1988.
- 57-Labrie, F., Belanger, A.: LHRH and Its Analogues Basic and Clinical aspects. Proceedings of the International Symposium on LHRH and its Analogues Quebec City, June 28-30, 1984.
- 58-Lemay, A., Faure, N.: Fourteen-Day versus Twenty-One Day Regimens of Intermittent Intranasal Luteinizing Hormone, Releasing Hormone Agonist Combined with an Oral Progestogen as Antioviulatory. Contraceptive Approach. Journal of Clinical Endocrin and Metab. 63:1379, 1986.
- 59-Lundkvist, Ö., Bergouist, C.: Morphological Studies of Human Endometrium During Continuous LH-RH Agonist Treatment Int. J. Fertil 30:65-70, 1986.
- 60-Geisthövel, F., Peters, F.: Ovarian Hyperstimulation Due to Long-Term Pulsatile Intravenous GnRh treatment. Arch Gynecol. 236:255-259, 1985.
- 61-Nimiod, A., Erickson, G.F.: A specific FSH Receptor in Rat Granulosa Cells: Properties of Binding in vitro. Endo. 98:56, 1976.
- 62-Kledzik, G.S., Cuson, L., Auclair, C.: Inhibition of ovarian luteinizing hormone (LH) and Follicle-Stimulating hormone receptor levels with an LH-releasing hormone agonist during the estrous cycle in the rat. Fertil and Steril. 30:348, 1978.
- 63-Hsueh, A.J.W., Wang, C.: Direkt Inhibitory Effect of Gonadotropin Releasing Hormone upon Follicle Stimulating Hormone Induction of Luteinizing Hormone Receptor and Aromatase Activity in Rat Granulosa Cells. Endocrinology 106:1697, 1980.

- 64-Hsueh, A.J.W., Erickson, G.F.: Extra pituitary Action of Gonadotropin-Releasing Hormone: Direct Inhibition of Ovarian Steroidogenesis. *Science* 204:854, 1979.
- 65-Mayar, M.Q., Tarnausky, G.K.: Ovarian Growth and uptake of Iodinated D-Leu<sup>6</sup>, des Gly NH<sub>2</sub>-LHRH Ethylamide in HCG Treated Rats'. *Exp. biolog and Med.* 161, 216-219, 1979.
- 66-Johnson, E.S., Gendrich, R.L.: Delay of Puberty and inhibition of reproductive processes in the rat by a gonadotropin releasing hormone agonist analog. *Fertil and Steril.* 27:853, 1976.
- 67-Auclair, C., Kelly, P.A., Coy, D.H.: Potent inhibitory Activity of (D-LEU DES-GLY-NH<sub>2</sub>) LHRH Ethylamide on LH/HCG and PRL Testicular Receptor Levels in the Rat *Endocrinology.* 101:1890, 1977.
- 68-Fraser, H.M., Lincoln, G.A.: Effects of Chronic Treatment with an LHRH Agonist on the Secretion of LH, FSH and Testosterone in the Ram. *Biolog. and Reproduction.* 22, 269-279, 1980.
- 69-Sandow, J., Rechenberg, W.V.: Antifertility Effect of an LHRH Analogue in Male Rats and Dogs. *Int. J. Fertil.* 25:213-221, 1980.
- 70-Rippel, R.H., Johnson, E.S.: Inhibition of HCG-induced ovarian and Uterine Weight Augmentation in the Immature Rat by Analogs of GnRh *Exp. Biolog and Medicine* 152, 432-436, 1987.
- 71-Erkoçak, A.: Özel Histoloji. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını, Sayı: 432, 1982.

- 72-Clabough, J.W.: Cytological Aspects of Pineal Development in Rats and Hamsters. *Am.J.Anat.* 137:215-230, 1975.
- 73-Arstila, A.U., Kalimo, H.D.: Secretory organelles of the rat pineal gland: Electron microscopie and histochemical studies in vivo and in vitro *Pineal.* 147, 1975.
- 74-Gonzalez, G., Blazquez, E.: Ultrastructural Evidence of a Secretory Process in the Rat Pineal Gland *Experientia* 31:969, 1975.
- 75-Ezrin, C., Kovacs, K.: Pathology of the Adenohypophysis. Bloodworth, J.M.B. *Endocrine Pathology General and Surgical* Willams and Wilkins Baltimore, London, S:101, 1986.
- 76-İrez, T.: Effect of a pineal indolamine 5-Methoxyindole 3 acetic acid, on the östrous cycles on the reproductive organs of female wistar albino rats.
- 77-Özdamar, K., Dinçer, S.: Bilgisayarla İstatistik Değerlendirme ve Veri Analizi. *Bilim Teknik Yayınevi.* s.141-144, İstanbul, 1987.