

ICSI Sikluslarında İnsan Granüloza Hücrelerinin Morfometrik Analizi ve Biyokimyasal Parametreler ile Korelasyonu

Morphometric Analysis of Human Granulosa Cells in ICSI Cycles and Their Correlation with Biochemical Parameters

Tuba Nur KULAK¹



¹Atatürk Üniversitesi, Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, Tüp Bebek Ünitesi, Erzurum, Türkiye

Tuba DEMİRCİ²



²Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye



Geliş Tarihi/Received	10.07.2026
Revizyon Talebi/Revision Requested	31.07.2026
Son Revizyon/Last Revision Kabul Tarihi/Accepted	07.08.2026
Yayın Tarihi/Publication Date	11.08.2026
	17.08.2026

Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Tuba Nur KULAK

E-mail: tbnr.scl@gmail.com

Cite this article: Kulak TN, Demirci T. Morphometric Analysis of Human Granulosa Cells in ICSI Cycles and Their Correlation with Biochemical Parameters. *ACMES*. 2026;1(2):60-66



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

Öz

Amaç: Granüloza hücreleri, oosit maturasyonu, foliküler gelişim ve foliküler mikroçevrenin düzenlenmesinde kritik rol oynayan, parakrin ve otokrin sinyal molekülleri üreten temel somatik hücrelerdir. Bu çalışmada, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulanan infertil kadınlardan elde edilen granüloza hücrelerinin morfometrik özelliklerinin değerlendirilmesi ve bu özelliklerin serum biyokimyasal parametreleri (FSH, LH, TSH, T3, T4, β -hCG, Ca^{2+}) ile korelasyonunun araştırılması amaçlandı.

Yöntemler: Çalışmaya, ICSI tedavisi uygulanan, 19–42 yaşları arasındaki 50 infertil kadın dahil edildi ve 35 yaş eşik değerine göre iki gruba ayrıldı. Denüstasyon işlemi sonrasında elde edilen granüloza hücreleri Papanicolaou yöntemi ile boyandı. Her hastadan rastgele seçilen 30 granüloza hücresi analiz edilerek toplam 1.500 hücrenin sitoplazma ve çekirdek alanları, Stereo Investigator 8 yazılımı kullanılarak manuel kontur izleme ve nokta sayım yöntemleri ile morfometrik olarak ölçüldü. Serum FSH, LH, TSH, T3, T4, β -hCG ve Ca^{2+} düzeyleri kaydedildi. İstatistiksel analizlerde Mann–Whitney U testi, Ki-kare testi ve Spearman korelasyon analizi kullanıldı. $P<.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: <35 yaş grubunda granüloza hücrelerinin ortalama sitoplazma ve çekirdek alanları sırasıyla $164,34\pm56,23 \mu m^2$ ve $59,36\pm14,21 \mu m^2$, ≥ 35 yaş grubunda ise $181,22\pm92,86 \mu m^2$ ve $64,46\pm28,58 \mu m^2$ olarak ölçüldü. Gruplar arasında sitoplazma ve çekirdek alanları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P>.05$). Benzer şekilde, serum hormon düzeyleri ve biyokimyasal gebelik oranları bakımından da gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($P>.05$). Korelasyon analizinde, sitoplazma alanı ile T4 düzeyi ($r=-0,33$; $P=.02$), çekirdek alanı ile T4 düzeyi ($r=-0,30$; $P=.03$) ve yaş ile TSH düzeyi ($r=-0,30$; $P=.03$) arasında anlamlı negatif korelasyon; T4 ile Ca^{2+} düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon ($r=0,58$; $P=.04$) ve FSH ile Ca^{2+} düzeyi arasında anlamlı negatif korelasyon ($r=-0,49$; $P=.02$) saptandı.

Sonuç: Granüloza hücre morfometrik özelliklerinin serum T4 ve Ca^{2+} düzeyleri ile anlamlı ilişki göstermesi, bu parametrelerin ICSI sikluslarında oosit kalitesinin dolaylı olarak değerlendirilmesinde non-invaziv ve düşük maliyetli potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Granüloza hücresi, morfometri, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), foliküler gelişim, tiroid hormonları, oosit kalitesi

ABSTRACT

Objective: Granulosa cells are essential somatic cells that play critical roles in oocyte maturation, follicular development, and regulation of the follicular microenvironment through the production of paracrine and autocrine signaling molecules. This study aimed to evaluate the morphometric characteristics of granulosa cells obtained from infertile women undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and to investigate their correlations with serum biochemical parameters, including FSH, LH, TSH, T3, T4, β -hCG, and Ca^{2+} .

Methods: Fifty infertile women aged 19–42 years who underwent ICSI treatment were included in the study and divided into two groups according to a cutoff age of 35 years. Granulosa cells obtained after the denudation procedure were stained using the Papanicolaou staining method. 30 randomly selected granulosa cells from each patient were analyzed, resulting in a total of 1,500 cells. Cytoplasmic and nuclear areas were measured morphometrically using manual contour tracing and point-counting methods with Stereo Investigator 8 software. Serum FSH, LH, TSH, T3, T4, β -hCG, and Ca^{2+} levels were recorded. Statistical analyses were performed using the Mann–Whitney U test, chi-square test, and Spearman correlation analysis. A P value of <0.05 was considered statistically significant.

Results: The mean cytoplasmic and nuclear areas of granulosa cells were $164.34 \pm 56.23 \mu\text{m}^2$ and $59.36 \pm 14.21 \mu\text{m}^2$, respectively, in the <35 -year group, and $181.22 \pm 92.86 \mu\text{m}^2$ and $64.46 \pm 28.58 \mu\text{m}^2$, respectively, in the ≥ 35 -year group. No statistically significant differences were observed between the groups in cytoplasmic or nuclear areas ($P>.05$). Similarly, no significant differences were found in serum hormone levels or biochemical pregnancy rates ($P>.05$). Correlation analysis revealed significant negative correlations between cytoplasmic area and T4 level ($r=-0.33$; $P=.02$), nuclear area and T4 level ($r=-0.30$; $P=.03$), and age and TSH level ($r=-0.30$; $P=.03$). A significant positive correlation was observed between T4 and Ca^{2+} levels ($r=0.58$; $P=.04$), whereas FSH and Ca^{2+} levels showed a significant negative correlation ($r=-0.49$; $P=.02$).

Conclusion: The significant associations between granulosa cell morphometric characteristics and serum T4 and Ca^{2+} levels suggest that these parameters may have potential as non-invasive, low-cost biomarkers for the indirect assessment of oocyte quality in ICSI cycles.

Keywords: Granulosa cells, morphometry, intracytoplasmic sperm injection (ICSI), follicular development, thyroid hormones, oocyte quality

GİRİŞ

İnfertilite, yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) en önemli uygulama alanlarından biri olup, son yıllarda bu tekniklerde kaydedilen gelişmeler tedavi başarısını belirgin şekilde artırmıştır.¹⁻³ Özellikle intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), başlangıçta şiddetli erkek faktörü infertilitesinde geliştirilmiş olmasına karşın günümüzde fertilizasyon başarısızlığı öyküsü, ileri kadın yaşı ve açıklanamayan infertilite gibi farklı klinik durumlarda da yaygın olarak uygulanmaktadır.²⁻⁴ Bununla birlikte ICSI başarısı yalnızca uygulanan laboratuvar tekniğine değil; kadın yaşı, ovaryan rezerv, foliküler gelişim ve oosit kalitesi gibi birçok biyolojik faktöre bağlıdır.³⁻⁵

Granüloza hücreleri, folikülogenez, steroidogenez ve oosit maturasyonunun düzenlenmesinde temel rol oynayan somatik hücrelerdir.^{6,7} Oosit ile granüloza hücreleri arasında gap junctionlar aracılığıyla kurulan çift yönlü iletişim; metabolik destek, parakrin sinyalizasyon ve mayotik olgunlaşmanın koordinasyonunu sağlayarak oositin gelişimsel yetkinliğinin kazanılmasında belirleyici rol üstlenmektedir.^{7,8} ICSI sırasında gerçekleştirilen denüdasyon işlemi ile granüloza hücrelerinin ek bir invaziv girişime gerek duyulmaksızın elde edilebilmesi, bu hücrelerin foliküler mikroçevreyi yansıtan potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.⁶

Granüloza hücrelerinin foliküler gelişim, otofaji ve apoptozdaki rolleri ayrıntılı olarak araştırılmış olmasına rağmen, morfometrik özelliklerinin serum biyokimyasal parametreleri ile ilişkisini değerlendiren çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir.⁶⁻⁹ Bu çalışmada, ICSI uygulanan

infertil kadınlardan elde edilen granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanları stereolojik morfometrik yöntemlerle değerlendirilmiş ve elde edilen morfometrik verilerin serum FSH, LH, TSH, T3, T4, β -hCG ve Ca^{2+} düzeyleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Granüloza hücre morfometrisinin serum biyokimyasal parametreleri ile ilişkisinin ortaya konmasının, ICSI sikluslarında oosit kalitesinin dolaylı değerlendirilmesinde potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanımına ilişkin literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın temel hipotezi, ICSI sikluslarından elde edilen granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanlarının serum FSH, LH, TSH, T3, T4, β -hCG ve Ca^{2+} düzeyleri ile anlamlı ilişki göstereceği ve bu morfometrik özelliklerin foliküler mikroçevrenin değerlendirilmesinde potansiyel belirteçler olarak kullanılabileceği yönündedir.

YÖNTEMLER

Grupların Oluşturulması ve Çalışma Materyalinin Elde Edilmesi

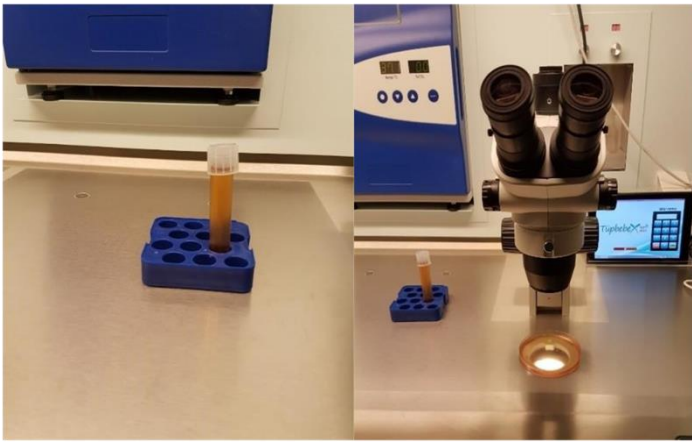
Çalışma için Atatürk Üniversitesi Etik Kurulu'nun 23.02.2017 tarih ve 1/37 sayılı kararı ile etik kurul onayı alındı. Çalışmaya, Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi'ne infertilite nedeniyle başvuran ve ICSI tedavisi uygulanan 19–42 yaş aralığındaki kadın hastalar dahil edildi. Bilinen tiroid hastalığı, diabetes mellitus, polikistik over sendromu (PCOS) veya endometriozis tanısı bulunan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastalar yaşlarına göre <35 ve ≥ 35 yaş olmak üzere iki gruba ayrıldı. Tüm

katılımcılardan yazılı aydınlatılmış onam alındı.

Kontrollü ovaryan stimülasyon sonrasında gerçekleştirilen oosit pick-up (OPU) işlemi ile elde edilen folikül sıvısı ve cumulus-oosit kompleksleri (COC) çalışma materyalini oluşturdu.¹⁰ Folikül sıvısı 14 mL'lik steril tüplere alınarak araştırma protokolü kapsamında değerlendirildi (Şekil 1). Lamin air flow kabini içerisinde stereo mikroskop altında corona-cumulus kompleksleri ayrıldı ve denüasyon işlemi sonrasında elde edilen granüloza hücreleri morfometrik analizlerde kullanılmak üzere hazırlandı (Şekil 2).¹⁰



Şekil 1. Foliküler sıvının incelendiği steril kabin



Şekil 2. Folikül sıvısının stereo mikroskop altında incelenmesi

Granüloza Hücrelerinin Hazırlanması, Boyanması ve Morfometrik Analizi

Cumulus-oosit komplekslerine rutin laboratuvar protokolüne uygun olarak denüasyon işlemi uygulandı.¹¹ İzole edilen granüloza hücreleri lam üzerine yayılarak fikse edildi ve Papanicolaou yöntemi ile boyandı (Şekil 3).¹² Her hasta için analiz edilecek granüloza hücreleri, morfolojik bütünlüğünü koruyan, sitoplazmik ve nükleer sınırları belirgin olarak seçilebilen, üst üste binmeyen ve ölçüm yapılmasına uygun hücreler arasından belirlendi. Her

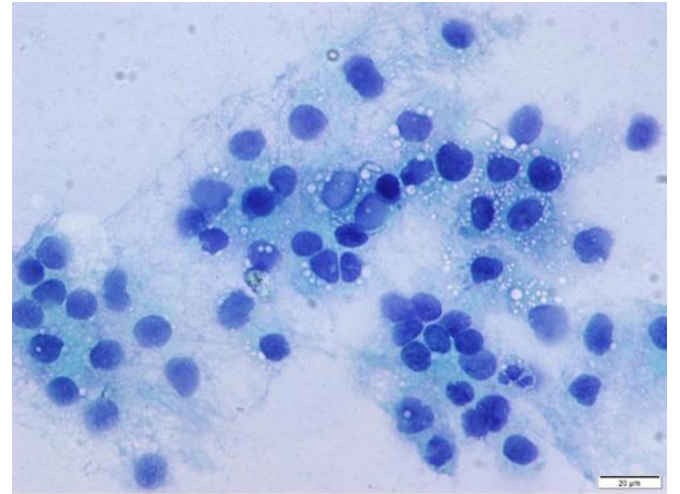
hastaya ait preparattan bu kriterleri karşılayan 30 granüloza hücresi değerlendirmeye alındı. Morfometrik ölçümler Leica DM4000B ışık mikroskobu ve Stereo Investigator 8 yazılımı kullanılarak aynı araştırmacı tarafından gerçekleştirildi. Hücrelerin sitoplazma ve çekirdek alanları manuel kontur izleme (manual contour tracing) ve nokta sayım (point-counting) yöntemleriyle ölçüldü.¹³

Biyokimyasal Analiz

ICSI tedavisi öncesinde alınan venöz kan örneklerine ait serum FSH, LH, TSH, T3, T4 ve Ca^{2+} düzeyleri hastane biyokimya laboratuvarı kayıtlarından elde edildi. Embriyo transferinden 12–13 gün sonra ölçülen serum β -hCG düzeyi biyokimyasal gebelik göstergesi olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Microsoft Excel ve SPSS 21.0 (IBM SPSS Corp., Armonk, NY, ABD) yazılımları kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle gruplar arası karşılaştırmalarda Mann–Whitney U testi, biyokimyasal gebelik oranlarının karşılaştırılmasında Ki-kare testi ve değişkenler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman sıralı korelasyon analizi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $P < .05$ olarak kabul edildi.



Şekil 3. Yayma preparatta görülen granüloza hücreleri. Boya: Papanicolaou boyası

BULGULAR

Morfometrik Ölçümler ve Biyokimyasal Karşılaştırmalar

Granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanlarına ait morfometrik ölçüm sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. <35 yaş grubunda granüloza hücrelerinin ortalama sitoplazma ve çekirdek alanları sırasıyla $164,34 \pm 56,23 \mu m^2$ ve $59,36 \pm 14,21 \mu m^2$, ≥ 35 yaş grubunda ise $181,22 \pm 92,86$

μm^2 ve $64,46 \pm 28,58 \mu\text{m}^2$ olarak ölçüldü. Her iki morfolometrik parametre ≥ 35 yaş grubunda daha yüksek olmasına rağmen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 1; Mann–Whitney U, $P > ,05$).

İncelenen biyokimyasal parametrelerin hiçbirinde < 35 ve ≥ 35 yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Mann–Whitney U, $P > ,05$). Biyokimyasal gebelik değerlendirmesinde β -hCG pozitifliği < 35 yaş grubunda 13/25, ≥ 35 yaş grubunda ise 7/25 hastada belirlendi. Buna karşın biyokimyasal gebelik oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Ki-kare, $P > ,05$).

Tablo 1. Granüloza Hücresi Sitoplazma ve Çekirdek Alan Ölçümlerinin Yaş ile İlişkisi (Ortalama $\pm$ SS)

Gruplar	Sitoplazma Alanı (μm^2)	Çekirdek Alanı (μm^2)
Yaş < 35	164,34 $\pm$ 56,23	59,36 $\pm$ 14,21
Yaş ≥ 35	181,22 $\pm$ 92,86	64,46 $\pm$ 28,58

Tablo 2. Spearman korelasyon analizinde istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişkenler

Değişkenler	r	P
Sitoplazma alanı–T4	-0,33	,02
Çekirdek alanı –T4	-0,30	,03
Yaş–TSH	-0,30	,03
TSH–Ca ²⁺	0,58	<,001
T4–Ca ²⁺	0,58	,04
FSH–LH	0,35	,01
FSH–Ca ²⁺	-0,49	,02

Korelasyon Analizleri

Spearman sıralı korelasyon analizinde granüloza hücrelerinin sitoplazma alanı ile serum T4 düzeyi arasında negatif yönde zayıf düzeyde anlamlı bir korelasyon saptandı ($r = -0,33$; $P = ,02$). Benzer şekilde, çekirdek alanı ile serum T4 düzeyi arasında da negatif yönde zayıf düzeyde anlamlı bir korelasyon bulundu ($r = -0,30$; $P = ,03$). Yaş ile serum TSH düzeyi arasında negatif yönde zayıf düzeyde anlamlı bir korelasyon belirlenirken ($r = -0,30$; $P = ,03$), yaş ile T3 ve T4 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (sırasıyla $r = 0,04$; $P > ,05$ ve $r = 0,01$; $P > ,05$).

Serum TSH düzeyi ile Ca²⁺ düzeyi arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı bir korelasyon ($r = 0,58$; $P < ,001$), serum T4 düzeyi ile Ca²⁺ düzeyi arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı bir korelasyon ($r = 0,58$; $P = ,04$), serum FSH ile LH düzeyleri arasında pozitif yönde zayıf düzeyde anlamlı bir korelasyon ($r = 0,35$; $P = ,01$) ve serum FSH ile Ca²⁺ düzeyi

arasında negatif yönde orta düzeyde anlamlı bir korelasyon saptandı ($r = -0,49$; $P = ,02$). Anlamlı korelasyonlara ilişkin Spearman analiz sonuçları Tablo 2'de gösterildi.

TARTIŞMA

İnfertilite, dünya genelinde üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %10–15'ini etkileyen multifaktöriyel bir sağlık sorunu olup, kadın yaşı yardımcı üreme tekniklerinin başarısını belirleyen en önemli prognostik faktörlerden biridir.^{14–16} Kadın fertilitesi 30 yaşından sonra kademeli olarak azalmakta, 35 yaş sonrasında ise bu azalma daha belirgin hâle gelmektedir. Bu süreçte oosit kalitesindeki bozulma, kromozomal anomalilerde artış ve ovaryan rezervde azalma fertilitate kaybının temel nedenleri arasında yer almaktadır.^{17–20} Ayrıca granüloza hücrelerinde yaşlanmaya bağlı olarak gelişen apoptoz ve otofaji mekanizmalarının foliküler rezerv kaybına katkıda bulunduğu bildirilmektedir.^{21–23}

Çalışmamızda, 35 yaş altı ve ≥ 35 yaş grupları arasında granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanları ile biyokimyasal gebelik oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte ≥ 35 yaş grubunda morfolometrik ölçümlerin sayısal olarak daha yüksek olması dikkat çekicidir. Bunun, örneklem büyüklüğünün sınırlı olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Benzer şekilde biyokimyasal gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olması, ileri yaştan biyokimyasal gebelik sonuçları üzerindeki etkisinin çalışma grubumuzda gösterilemediğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu ilişkinin daha geniş hasta serilerinde araştırılmasının yararlı olacağı kanaatindeyiz.

Granüloza hücreleri, oosit ile çevresindeki somatik hücreler arasında metabolik ve parakrin iletişimi sağlayarak folikülogenez, oosit maturasyonu ve steroidogenezin düzenlenmesinde temel rol üstlenmektedir.^{24–26} GDF-9, BMP-15 ve Kit Ligand gibi oosit kaynaklı faktörler granüloza hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını düzenlerken, FSH ve LH foliküler gelişimin hormonal kontrolünde görev almaktadır.^{27,28} Çalışmamızda serum FSH ve LH düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanması, gonadotropin ekseninin fizyolojik düzenlenmesi ile uyumlu bir bulgu olarak değerlendirilmektedir.^{29–31}

Tiroid hormonlarının ovaryan fonksiyonlar üzerindeki etkisi son yıllarda giderek daha fazla ilgi gören araştırma alanlarından biridir.³² Çalışmamızda granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanları ile serum T4 düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. Tiroid hormonlarının over fizyolojisinde folikül gelişimi, granüloza hücre proliferasyonu, steroidogenez ve oosit maturasyonu üzerinde düzenleyici etkileri olduğu bilinmektedir. Bu etkilerin, granüloza hücrelerinde eksprese

edilen tiroid hormon reseptörleri aracılığıyla gerçekleştiği ve hücrel metabolizma ile farklılaşma süreçlerini etkileyebildiği bildirilmektedir.³² Tiroid hormonlarının hücrel metabolizma ve enerji gereksinimini düzenlemesi, granüloza hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşma süreçlerini de dolaylı olarak etkileyebilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda serum T4 düzeyi ile granüloza hücre alanları arasında belirlenen negatif korelasyonun, tiroid hormonlarının granüloza hücre fizyolojisi üzerindeki düzenleyici etkilerinin morfolometrik bir yansıması olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte, çalışmamızın gözlemsel yapısı nedeniyle bu ilişkinin nedensel bir mekanizmayı yansıttığı söylenemez ve altta yatan moleküler süreçlerin deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Kalsiyum, hücre içi sinyal iletimi, steroidogenez, apoptoz ve oksidatif stres yanıtlarının düzenlenmesinde görev alan temel ikinci haberci moleküllerden biridir.³³⁻³⁶ FSH'nin granüloza hücreleri üzerindeki etkilerinin yalnızca cAMP aracılı sinyal yollarıyla sınırlı olmadığı, aynı zamanda hücre içi Ca^{2+} sinyalizasyonunu modüle ederek steroidogenez ve folikül gelişiminin düzenlenmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir.³⁷ Çalışmamızda serum FSH düzeyi ile Ca^{2+} düzeyi arasında negatif, serum T4 düzeyi ile Ca^{2+} düzeyi arasında ise pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır. Ayrıca serum TSH düzeyi ile Ca^{2+} düzeyi arasında pozitif yönde orta düzeyde anlamlı bir korelasyon belirlenmiştir. Bu bulgular, granüloza hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde gonadotropinler, tiroid hormonları ve kalsiyum homeostazı arasında fizyolojik bir etkileşim bulunabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, çalışmamızda saptanan ilişkiler korelasyon düzeyinde olup, söz konusu etkileşimlerin granüloza hücre morfolojisi ve fonksiyonları üzerindeki biyolojik öneminin ortaya konulabilmesi için moleküler ve fonksiyonel çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, granüloza hücre morfolometrisi ile serum T4 ve Ca^{2+} düzeyleri arasında saptanan ilişkiler, bu parametrelerin ICSI sikluslarında foliküler mikroçevrenin değerlendirilmesinde potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bildiğimiz kadarıyla, insan granüloza hücre morfolometrisinin serum biyokimyasal parametreleri ile birlikte değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu nedenle elde edilen bulguların daha geniş hasta serilerinde doğrulanması ve moleküler düzeyde desteklenmesi, granüloza hücre morfolometrisinin klinik kullanım potansiyelinin değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

SONUÇ

Bu çalışmada, ICSI sikluslarında elde edilen insan granüloza hücrelerinin morfolometrik özellikleri ile serum

biyokimyasal parametreleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Yaş grupları arasında granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanları ile serum biyokimyasal parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bununla birlikte granüloza hücrelerinin sitoplazma ve çekirdek alanları ile serum T4 düzeyleri arasında negatif, serum T4 ile Ca^{2+} düzeyleri arasında pozitif ve serum FSH ile Ca^{2+} düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı korelasyonlar belirlenmiştir.

Elde edilen bulgular, granüloza hücre morfolometrisinin foliküler mikroçevrenin değerlendirilmesinde potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çalışmanın gözlemsel tasarımı ve sınırlı örneklem büyüklüğü dikkate alındığında, bu bulguların daha geniş hasta serilerinde ve moleküler düzeyde desteklenen çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Etik Komite Onayı: Etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (Tarih: 23 Şubat 2017, Sayı: 1/37) alınmıştır.

Hasta Onamı: Tüm katılımcılardan yazılı aydınlatılmış onam alındı.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir-T.N.K., T.D.; Tasarım- T.N.K., T.D.; Denetleme-T.D.; Kaynaklar- T.N.K., T.D.; Malzemeler- T.N.K., T.D.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi-T.N.K.; Analiz ve/veya Yorum- T.N.K., T.D.; Literatür Taraması- T.N.K., T.D.; Yazıyı Yazan- T.N.K., T.D.; Eleştirel İnceleme- T.N.K., T.D.

Çıkar Çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Finansal Destek: Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

Yapay Zeka Kullanımı: Yazarlar, bu makalenin hazırlanmasında İngilizce dil düzenlemesi için Jenni yapay zeka aracını kullandıklarını beyan etmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was obtained from From the Clinical Research Ethics Committee of Atatürk University Faculty of Medicine (Date: February 23, 2017, Number: 1/37)

Informed Consent: Written informed consent was obtained from all participants.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - T.N.K., T.D.; Design- T.N.K., T.D.; Supervision- T.D.; Resources- T.N.K., T.D.; Materials- T.N.K., T.D.; Data Collection and/or Processing-T.N.K.; Analysis and/or Interpretation- T.N.K., T.D.; Literature Search- T.N.K., T.D.; Writing Manuscript- T.N.K., T.D.; Critical Review- T.N.K., T.D.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Use of Artificial Intelligence: The authors state that they used the Jenni artificial intelligence tool for English language formatting in the preparation of this article.

REFERENCES

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertil Steril*. 2017;108(3):393-406.

2. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992;340(8810):17-18.
3. Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z, editors. Textbook of Assisted Reproductive Techniques. 6th ed. Boca Raton (FL): CRC Press; 2024.
4. ESHRE Guideline Group on Ovarian Stimulation. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Hum Reprod Open*. 2020;2020(2):hoaa009.
5. Alpha Scientists in Reproductive Medicine; ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul Consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011;26(6):1270-1283..
6. Uyar A, Torrealday S, Seli E. Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality. *Fertil Steril*. 2013;99(4):979-997.
7. Kidder GM, Vanderhyden BC. Bidirectional communication between oocytes and follicle cells: ensuring oocyte developmental competence. *Can J Physiol Pharmacol*. 2010;88(4):399-413.
8. Kidder GM. Gap junctions and ovarian folliculogenesis. *Reproduction*. 2002;123(5):613-620.
9. Huang RH, Zhou WH. Granulosa cell biomarkers to predict oocyte and embryo quality in assisted reproductive technology. *Reprod Dev Med*. 2021;5(1):30-37.
10. Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z, editors. Textbook of Assisted Reproductive Techniques. 6th ed. Boca Raton (FL): CRC Press; 2023.
11. Alpha Scientists in Reproductive Medicine; ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011;26(6):1270-1283.
12. Bancroft JD, Gamble M, editors. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8th ed. Philadelphia (PA): Elsevier; 2019.
13. Howard CV, Reed MG. Unbiased Stereology: Three-Dimensional Measurement in Microscopy. 2nd ed. New York (NY): Garland Science; 2005.
14. Adebisi OY, Singh M, Tobler KJ. Female infertility. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan.
15. Esencan E, Beroukhim G, Seifer DB. Age-related changes in folliculogenesis and potential modifiers to improve fertility outcomes: a narrative review. *Reprod Biol Endocrinol*. 2022;20:156.
16. ESHRE Guideline Group on Unexplained Infertility. ESHRE guideline: unexplained infertility. *Hum Reprod Open*. 2023;(2)
17. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BCJM. Ovarian ageing: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev*. 2009;30(5):465-493.
18. Vollenhoven B, Hunt S. Ovarian ageing and the impact on female fertility. *F1000Research*. 2018;7:1835.
19. Wang X, Wang L, Xiang W. Mechanisms of ovarian aging in women: a review. *J Ovarian Res*. 2023;16:67.
20. Ratajewska K, Kordowitzki P. Oocyte aging in focus: Environmental and endogenous stressors driving reproductive potential decline. *Geroscience*. 2026.
21. Wang X, Wang L, Xiang W. Mechanisms of ovarian aging in women: a review. *J Ovarian Res*. 2023;16:67.
22. Liu S, Jia Y, Meng S, Luo Y, Yang Q, Pan Z. Mechanisms of and potential medications for oxidative stress in ovarian granulosa cells: a review. *Int J Mol Sci*. 2023;24(11):9205.
23. Xi H, Chen X, Wang X, Jiang F, Niu D. Role of programmed cell death in mammalian ovarian follicular atresia. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2024;247:106667.
24. Xie J, Xu X, Liu S. Intercellular communication in the cumulus-oocyte complex during folliculogenesis: a review. *Front Cell Dev Biol*. 2023;11:1087612.
25. Sugiura K, Maruyama N, Akimoto Y, Matsushita K, Endo T. Paracrine regulation of granulosa cell development in the antral follicles in mammals. *Reprod Med Biol*. 2023;22(1):e12538.
26. Russell DL, Gilchrist RB, Brown HM, Thompson JG. Bidirectional communication between cumulus cells and the oocyte: old hands and new players? *Theriogenology*. 2023;204:1-12.
27. Fountas S, Petinaki E, Bolaris S, et al. The roles of GDF-9, BMP-15, BMP-4 and EMMPRIN in folliculogenesis and in vitro fertilization. *J Clin Med*. 2024;13(13):3775.
28. Belli M, Shimasaki S. Molecular aspects and clinical relevance of GDF9 and BMP15 in ovarian function. *Vitam Horm*. 2018;107:317-348.
29. Casteel CO, Singh G. Physiology, gonadotropin-releasing hormone. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan.
30. Filicori M. The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction. *Fertil Steril*. 1999;71(3):405-414.
31. Reed BG, Carr BR. The normal menstrual cycle and the control of ovulation. In: Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2023.
32. Brown EDL, Obeng-Gyasi B, Hall JE, Shekhar S. The thyroid hormone axis and female reproduction. *Int J Mol Sci*. 2023;24(12):9815.
33. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003;4(7):517-529.

34. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell*. 2007;131(6):1047-1058.
35. Dhaouadi N, Vitto VAM, Pinton P, Galluzzi L, Marchi S. Ca^{2+} signaling and cell death. *Cell Calcium*. 2023;113:102759
36. Kass GEN, Orrenius S. Calcium signaling and cytotoxicity. *Environ Health Perspect*. 1999;107(Suppl 1):25-35.
37. Ulloa-Aguirre A, Reiter E, Crépieux P. FSH receptor signaling: complexity of interactions and signal diversity. *Endocrinology*. 2018;159(8):3020-3035.