

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI



DEHİDROEPIANDROSTERON İLE
POLİKİSTİK OVER SENDROMU
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA APİGENİN
VE CHYRSİN'İN POTANSİYEL TEDAVİ
EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Buket BERK

2022

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Nevin İLHAN

Prof. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ

Doç. Dr. İsmail Gürkan ÇIKIM



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Buket BERK

TARİH.....

İMZA.....

Danışman

Prof. Dr. Nevin İLHAN

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ELAZIĞ

İTHAF

*Değerli hocam Prof. Dr. Nevin İLHAN'a ve Rahmetli babama
ithaf ediyorum...*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin ve tez çalışmamın bütün süreçlerinde bana yol gösteren, her konuda destek olan ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle yönlendiren hem bilimsel hem de insani değerler bakımından kendisinden çok şey öğrendiğim değerli danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Nevin İLHAN'** a içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimin başından sonuna kadar er daim yanımda olan, bu yoğun süreçte beni anlayışla karşılayan ve destekleyen **Canım Aileme**,

Tez çalışmalarım süresince göstermiş oldukları destekleriyle yanımda olan bölümümüzün Araştırma Görevlileri **Solmaz SUSAM**, **Fatma TEDİK** ve Doktora öğrencileri **Oğuzhan TATAR** ve **Gökçen ÖZDEMİR'e**

Fizyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi **Nazife ÜLKER'e**, Histoloji-Embriyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi **Nalan KAYA TEKTEMUR'a**

Arka planda beni destekleyen, yanımda olan ve yardım eden tüm arkadaşlarıma,

Teşekkürlerimi sunarım.

Buket BERK

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	II
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
TABLO LİSTESİ	XII
ŞEKİL LİSTESİ.....	XIII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	XV
1. ÖZET.....	XVIII
2. ABSTRACT	XX
3.GİRİŞ	1
3.1. Tanım.....	1
3.2. Tarihçe	1
3.3. İnsidansı	1
3.4. Tanı Kriterleri	2
3.4.1. National Institutes of Health (NIH) 1990 kriterleri	2
3.4.2. ESHRE- ASRM Rotterdam 2003 kriterleri	2
3.4.3. Androgen Excess Study (AES) 2006 kriterleri	2
3.5. Klinik ve Laboratuvar	2
3.6. Etiyopatogenez.....	8
3.6.1. Gonadotropin Sekresyon Defektleri.....	8

3.6.2. Steroidogenez değişiklikleri.....	9
3.6.3. İnsülin salınım ve etki bozuklukları.....	10
3.7. Genetik temeli.....	11
3.7.1. Erkek Fenotipi.....	12
3.7.2. İkiz Çalışmaları.....	12
3.7.3. Ailesel Yığılım.....	12
3.7.4. Çevresel Faktörler.....	13
3.8. PCOS’da Bazı Aday Genler.....	13
3.9. Polikistik Over Sendromu ve Uzun Dönem Sağlık Riskleri.....	15
3.9.1. Glukoz intoleransı ve Tip 2 Diyabet.....	15
3.9.2. Hiperlipidemi ve Kardiyovasküler Hastalık.....	15
3.9.3. Hipertansiyon.....	16
3.9.4. Kanserler.....	16
3.9.4.1. Endometrium kanseri.....	16
3.9.4.2. Meme Kanseri.....	17
3.9.4.3. Over Kanseri.....	17
3.10. Polikistik Over Sendromu ve İnfertilite.....	18
3.11. Polikistik Over Sendromu ve Obezite.....	19
3.12. Polikistik Over Sendromu ve İnsülin Rezistansı.....	20
3.12.1. İnsülin Rezistansı ve İnsülin Sensitivitesinin Değerlendirilmesi... 23	
3.12.1.1. Açlıkta uygulanan testler.....	24

3.12.1.1.1. Açlık insülin (Aİ).....	24
3.12.1.1.2. Açlık glukoz (AG)/ Açlık insülin (Aİ) oranı	24
3.12.1.1.3. Homeostatic Model Assessment (HOMA-IR).....	24
3.12.1.1.4. Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI) .	25
3.12.1.2. Klemp teknikleri ve insülin yükleme testleri.....	25
3.12.1.2.1. Hiperinsülinemik-öglisemik klemp tekniği	25
3.12.1.2.2. İnsülin sensitivite testi	25
3.12.1.2.3. İnsülin tolerans testi	26
3.12.1.3. Sadece glukoz yüklemesi gerektiren testler	26
3.12.1.3.1. Sık örneklenen İV glukoz tolerans testi (FSIVGTT).....	26
3.12.1.3.2. Sürekli glukoz infüzyonuyla model değerlendirme testi (CIGMA)	26
3.12.1.4. Oral glukoz tolerans testi.....	26
3.13. Polikistik Over Sendromu ve Hormonlar	27
3.13.1. Folikül Stimulan Hormon (FSH)	27
3.13.2. Lüteinleştirici Hormon (LH)	28
3.13.3. Progesteron (PROG)	29
3.13.4. Dehidroepiandrosteron (DHEA)	29
3.13.5. Östrojen	30
3.13.6. Testosteron (T)	31
3.13.7. Prolaktin (PRL)	32

3.14. Polikistik Over Sendromu ve Protein Yapılı Hormonlar	32
3.14.1.İnsülin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3)	32
3.14.2.Epiregulin (EREG).....	34
3.14.3.İnhibin (İNH)	34
3.14.4.Kininojen (KNG1)	35
3.15. Polikistik Over Sendromu ve İnflamasyon Biyobelirteçler	35
3.15.1. İnterlökin-18 (IL-18).....	35
3.15.2. İnterlökin-13 (IL-13).....	36
3.15.3. İnterlökin-1 β (IL-1 β).....	37
3.15.4. İnterferon Gama (IFN- γ).....	37
3.16. Polikistik Over Sendromu ve Enzimatik Antioksidanlar	38
3.16.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	39
3.16.2. Katalaz (CAT).....	40
3.16.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	40
3.17. Polikistik Over Sendromu ve Oksidan Parametre	41
3.17.1. Malondialdehit (MDA)	41
3.18.Kullanılan Tedavi Ajanları	42
3.18.1. Apigenin (AGN).....	42
3.18.2. Chrysin (CH).....	44
4. GEREÇ ve YÖNTEM.....	46
4.1.Gereç	46

4.1.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	46
4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	47
4.1.3. Kullanılan Gereçler	48
4.1.4. Kullanılan Kimyasalların Hazırlanışı	48
4.1.5. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	48
4.1.6. Kan Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Saklanması	50
4.2. Yöntemler	51
4.2.1. Biyokimyasal Yöntemler	51
4.2.1.1. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)	51
4.2.1.1.1. Plazma ve Süpernatant FSH Düzeylerinin Belirlenmesi	54
4.2.1.1.2. Plazma ve Süpernatant LH Düzeylerinin Belirlenmesi	54
4.2.1.1.3. Plazma ve Süpernatant PROG Düzeylerinin Belirlenmesi .	55
4.2.1.1.4. Plazma ve Süpernatant KNG1 Düzeylerinin Belirlenmesi .	55
4.2.1.1.5. Plazma ve Süpernatant IL-18 Düzeylerinin Belirlenmesi ..	56
4.2.1.1.6. Plazma ve Süpernatant IL-1 β Düzeylerinin Belirlenmesi ..	56
4.2.1.1.7. Plazma ve Süpernatant IL-13 Düzeylerinin Belirlenmesi ..	56
4.2.1.1.8. Plazma ve Süpernatant IFN- γ Düzeylerinin Belirlenmesi ..	57
4.2.1.1.9. Plazma ve Süpernatant EREG Düzeylerinin Belirlenmesi .	57
4.2.1.1.10. Plazma ve Süpernatant INH Düzeylerinin Belirlenmesi ..	58
4.2.1.1.11. Plazma ve Süpernatant IGFBP-3 Düzeylerinin Belirlenmesi	58

4.2.1.1.12. Plazma ve Süpernatant İnsülin Düzeylerinin Belirlenmesi	58
4.2.2. Doku Protein Düzeylerinin Tayini	59
4.2.3. Doku Numunelerinde Oksidan-Antioksidan Parametrelerin Belirlenmesi	60
4.2.3.1. Doku MDA Düzeyinin Belirlenmesi.....	60
4.2.3.2. Doku SOD Aktivitesinin Belirlenmesi.....	61
4.2.3.3. Doku CAT Aktivitesinin Belirlenmesi.....	61
4.2.3.4. Doku GPx Aktivitesinin Belirlenmesi.....	62
4.2.4. Vajinal Smear Takibi	63
4.3. Histopatolojik Analizler.....	64
4.4. İstatistiksel Analizler	65
5. BULGULAR	67
5.1. Çalışma grubundaki sıçanların kilo takipleri ve büyüme oranları	67
5.2. Çalışma Gruplarının Over Doku Ağırlıkları.....	68
5.3. Tedavi Ajanların Seçilen ELISA Parametreleri Üzerine Etkisi.....	69
5.4. Tedavi Ajanların Seçilen Diğer ELISA Parametreleri Üzerine Etkisi ...	73
5.6. Tedavi Ajanların Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkisi	81
5.8. Vajinal Smear Değerlendirmeler	86
5.9.Histolojik Değerlendirmeler	87
6. TARTIŞMA	90

7. KAYNAKLAR	112
8. ÖZGEÇMİŞ.....	129



TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	PCOS'daki belirtiler ile görülme sıklıkları	3
Tablo 2.	PCOS'taki aday genler	14
Tablo 3.	WHO'nun Obezite sınıflandırması.....	20
Tablo 4.	Standart Yem Bileşenleri	46
Tablo 5.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	47
Tablo 6.	Kullanılan cihazlar ve laboratuvar malzemeleri.....	48
Tablo 7.	Histolojik Doku Takip Basamakları.....	65
Tablo 8.	Çalışma gruplarındaki büyüme oranları	68
Tablo 9.	Plazma ve Süpernatant FSH, LH, FSH/LH ve Progesteron Düzey Değişimleri	70
Tablo 10.	Plazma ve Süpernatant KNG1, EREG, İnhibin β A, IGFBF-3 ve IFN- γ Düzey Değişimleri.....	74
Tablo 11.	Plazma ve süpernatant inflamasyon parametreleri düzey değişimleri	79
Tablo 12.	Plazma Oksidatif Stres Parametrelerinin Düzey Değişimleri	81
Tablo 13.	Süpernatant Oksidatif Stres Parametrelerinin Düzey Değişimleri.....	83
Tablo 14.	Plazma glukoz, insülin ve HOMA-IR Değişimleri	85
Tablo 15.	Over folikül sayımı.....	88

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Polikistik overlerin anatomik (A), patolojik (B) görüntüleri.....	2
Şekil 2.	Ferriman-Gallwey skorlama skalası	4
Şekil 3.	Ultrasonografide PCO ve normal over görüntüsü	7
Şekil 4.	Sağlıklı bireyde hormonal etkileşimler	8
Şekil 5.	PCOS'taki hormonal değişiklikler	9
Şekil 6.	İnsülin rezistansı ve hiperinsülineminin PCOS'taki rolü	11
Şekil 7.	PCOS'un patofizyolojisi, klinik semptomları ve uzun dönem risklerinin şematik gösterilmesi.....	18
Şekil 8.	Vücut kitle indeksi (VKİ) değeri	20
Şekil 9.	FSH ve testosteronun hormonal düzenlenmesi	27
Şekil 10.	Estradiol' ün açık formülü	30
Şekil 11.	Süperoksit Radikalinin SOD Tarafından Dismutasyonu.....	40
Şekil 12.	MDA kimyasal görünümü	42
Şekil 13.	Apigenin'in kimyasal yapısı	42
Şekil 14.	Apigenin'in terapötik etkisi	43
Şekil 15.	Chrysin'in kimyasal yapısı	44
Şekil 16.	Chrysin'in Terapötik Etkisi	44
Şekil 17.	ELISA çeşitleri	51
Şekil 18.	Standart Dilüsyonu	52
Şekil 19.	Plate örnek ekimi	53
Şekil 20.	Reaksiyonun durdurulması ile renk dönüşümü	53
Şekil 21.	ELISA işleminin şematik diyagramı	54

Şekil 22. Vajinal Smear Yöntemi	64
Şekil 23. Çalışma Gruplarının Kilo Takibi	67
Şekil 24. Deneklerin ortalama over ağırlık değerleri.....	68
Şekil 25. Plazma FSH, LH, LH/FSH ve PROG değerleri	72
Şekil 26. Süpernatant FSH, LH, LH/FSH ve PROG değerleri	73
Şekil 27. Plazma KNG1, IGFBP-3 ve IFN- γ değerleri.....	76
Şekil 28. Plazma EREG ve İnhibin β A değerleri	76
Şekil 29. Süpernatant KNG1, IGFBP-3 ve IFN- γ değerleri	78
Şekil 30. Süpernatant EREG ve İnhibin β A değerleri	78
Şekil 31. Plazma IL-18, IL-1 β , IL-13 değerleri.....	80
Şekil 32. Süpernatant IL-18, IL-1 β , IL-13 değerleri	81
Şekil 33. Plazma SOD, CAT, GPx ve MDA değerleri	83
Şekil 34. Süpernatant SOD, CAT, GPx ve MDA değerleri.....	85
Şekil 35. Plazma glukoz, insülin ve HOMA-IR değerleri	86
Şekil 36. SHAM ve PCOS gruplarına ait vajinal smear örnekleri.....	87
Şekil 37. Over dokularının histolojik görünümü.	89

KISALTMALAR LİSTESİ

PCOS	:	Polikistik Over Sendromu
PCO	:	Polikistik Over
LH	:	Lüteinizan Hormon
FSH	:	Folikül Stimüle Edici Hormon
NIH	:	National Institutes of Health
AES	:	Androgen Excess Study
USG	:	Ultrasonografi
SHBG	:	Seks Hormon Bağlayan Globülin
T	:	Testosteron
DHEA	:	Dehidroepiandrosteron
DHEA-S	:	Dehidroepiandrosteron Sülfat
PROG	:	Progesteron
E2	:	Estradiol
VKİ	:	Vücut Kitle İndeksi
GnRH	:	Gonotropin Salgılatıcı Hormon
cAMP	:	Siklik Adenozin Monofosfat
IGF-1	:	İnsüline Benzer Büyüme Faktörü-1
IGF-2	:	İnsüline Benzer Büyüme Faktörü-2
ACTH	:	Adenokortikotropik Hormon
DM	:	Diabetes Mellitus
KVH	:	Kardiyovasküler Hastalık
HT	:	Hipertansiyon

BKİ	:	Beden Kitle İndeksi
HDL	:	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
IGFBP-1	:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-1
IGFBP-3	:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-3
HbA1c	:	Glikolize Hemoglobin
OGTT	:	Oral Glukoz Tolerans Testi
AG	:	Açlık Glukoz
AI	:	Açlık İnsülin
HOMA	:	Homeostatik Model Değerlendirme
HOMA-IR	:	Homeostasis Model Assessment İnsülin Resistansı
QUICKI	:	Kantitatif İnsülin Sensitivite İndeksi
ITT	:	İnsülin Tolerans Testi
IST	:	İnsülin Sensitivitesi Testi
CIGMA	:	Sürekli Glukoz İnfüzyonuyla Model Değerlendirme
İv	:	İntravenöz
EREG	:	Epiregulin
İNH	:	İnhibin
ErBB	:	Epidermal Büyüme Faktör Reseptör Faktörü
EGF	:	Epidermal Büyüme Faktör
EGFR	:	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
KNG1	:	Kininojen
IL-18	:	İnterlökin-18

IL-13	:	İnterlökin-13
IL-1β	:	İnterlökin-1 β
IL-6	:	İnterlökin-6
NK	:	Doğal Katil Hücreler
IFN-γ	:	İnterferon Gamma
IgE	:	İmmünoglobulin E
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
CAT	:	Katalaz
GSH-Px	:	Glutatyon Peroksidaz
MDA	:	Malondialdehit
H₂O₂	:	Hidrojen Peroksit
NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
GSH	:	Glutatyon
AGN	:	Apigenin
CH	:	Chrysin
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
DMSO	:	Dimetil Sülfoksit
PBS	:	Fosfat Tamponlu Salin
PG	:	Prostaglandin
GSSH	:	Okside Glutatyon
GSH-Rx	:	Glutatyon Redüktaz
PPAR-γ	:	Peroksizom Proliferatör ile Aktive Olan Reseptör- γ
ABP	:	Androjen Bağlayan Protein
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri

NF-kB	:	Nuclear Factor Kappa-B
TNF-α	:	Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
TGF-β	:	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta
VCAM-1	:	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1



1. ÖZET

Polikistik over sendromu genellikle doğurganlık çağındaki kadınlarda sık görülen, santral sinir sistemi, overler, hipofiz, böbrek üstü bezleri ve ekstraplanduler dokular arasındaki etkileşimlerin bozulması sonucu ortaya çıkan kronik seyreden, yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyebilen endokrin bir bozukluktur. Çalışmamızda Apigenin ve Chrysin, tek başlarına ve kombin yapılarak DHEA ile oluşturulmuş PCOS üzerindeki potansiyel terapötik etkileri araştırılmıştır.

21 günlük 48 adet Wistar Albino türü dişi sıçan SHAM, PCOS, PCOS+AGN, PCOS+CH, PCOS+KOMBİN şekilde 5 farklı gruba ayrıldı. Over dokusu ve plazmada FSH, LH, PROG, KNG1, IL-18, IL-1 β , IL-13, IFN- γ , EREG, IGFBP3, inhibin ve insülin düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü. Over dokularındaki SOD, GPx, CAT aktiviteleri ve MDA düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle tayin edildi.

Tedavi gruplarının plazma LH, FSH, LH/FSH ve PROG düzeyleri PCOS grubu ile karşılaştırıldığında plazma LH düzeyleri AGN ve KOMBİN gruplarında anlamlı olarak azalırken, FSH ve LH/FSH oranındaki azalmalar anlamlı bulunmamıştır. Doku FSH, LH, LH/FSH ve PROG düzeylerine bakıldığında doku LH'de PCOS grubuna kıyasla tedavi gruplarından KOMBİN grubunda anlamlı bir azalma gözlemlendi.

Tedavi gruplarının plazma İNH, EREG, IFN- γ düzeyleri PCOS grubuyla kıyaslandığında artış görülmüştür fakat anlamlı bulunamamıştır. Plazma ve doku IGFBF-3 düzeyleri CH ve PCOS grubunda SHAM grubuna kıyasla anlamlı yüksekken, AGN grubunda anlamlı bir azalış vardır. Tedavi gruplarının doku

IFN- γ düzeyinde ise PCOS grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artış gözlenmiştir.

Tedavi ajanı uygulanmış olan sıçanların plazma IL-18 ve IL-13 değerlerinde PCOS grubuna göre anlamlı bir azalma vardı. IL-13 seviyesinde en önemli azalma AGN grubundadır. Doku IL-18'de PCOS grubuna kıyasla anlamlı bir azalma varken, IL-1 β 'da CH ve KOMBİN gruplarında anlamlı bir azalma vardır.

Plazma SOD, GPx aktiviteleri SHAM grubu ile PCOS grubu kıyaslandığında anlamlı plazma CAT aktivitesi ve MDA düzeyleri PCOS grubunda anlamlı olmayan bir artış gözlemlendi. Doku SOD, CAT, GPx aktiviteleri ve MDA düzeylerinde ise SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda anlamlı olmayan bir azalma görülmüştür.

Sonuç olarak, DHEA ile oluşturulmuş PCOS over dokularında AGN ve KOMBİN kullanımının, overlerdeki kistik yapıları etkin bir şekilde azaltabileceğini inflamasyon, oksidatif stresi, hormonları baskılayabileceği böylece PCOS'un tedavisinde etkin bir rol oynayacağı düşünülmektedir.

Önemli bir sağlık sorunu olan PCOS tedavisindeki güncel yaklaşımlarla beraber yeni ilaç çalışmalarına katkı sağlayacağı ve bu ilaç tedavileri ile beraber modern tıp yöntemlerinin de kullanılmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir. Yapılan bütün tedavilere ek olarak yeni bir terapötik ajan olan Apigenin ve Chrysin'in tedavilere öncülük edeceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dehidroepiandrosteron, Polikistik Over Sendromu, Apigenin, Chrysin

2. ABSTRACT

Investigation of Potential Therapeutic Effects of Apigenin and Chrysin on polycystic ovary syndrome rat model

Polycystic ovary syndrome is a chronic condition that can negatively affect the quality of life, which is usually common in women of fertility age and is caused by the deterioration of interactions between the central nervous system, ovaries, pituitary, adrenal glands, and extra glandular tissues. Our study investigated the potential therapeutic effects of Apigenin and Chrysin on polycystic ovary syndrome created with DHEA by combining alone.

48 Wistar Albino-type female rats for 21 days will be divided into 5 different groups: SHAM, PCOS, PCOS+AGN, PCOS+CH, PCOS+KOMBİN. FSH, LH, PROG, KNG1, IL-18, IL-1 β , IL-13, IFN- γ , EREG, IGFBP3, Inhibitor, and Insulin levels were measured using the ELISA method in ovarian tissue and plasma. SOD, GPx, CAT activities, and MDA levels in ovarian tissues were determined by spectrophotometric methods.

Plasma LH, FSH, LH/FSH, and PROG levels of the treatment groups decreased significantly in agn and KOMBİN groups compared to the PCOS group, while reductions in FSH and LH/FSH rates were not significant. When tissue FSH, LH, LH/FSH, and PROG levels were looked at, a significant decrease was observed in the KOMBİN group of treatment groups compared to the PCOS group in tissue LH.

Plasma INH, EREG, IFN- γ levels of treatment groups increased compared to the PCOS group but were not significant. Plasma and tissue IGFBF-3 levels were significantly higher in CH and PCOS group compared to the SHAM group, while

there was a significant decrease in the AGN group. A significant increase was observed in the tissue IFN- γ level of the treatment groups compared to the PCOS group.

There was a significant reduction in plasma IL-18 and IL-13 values of the rats who had been treated with a treatment agent compared to the PCOS group. The most significant reduction in IL-13 level is in the AGN group. While there was a significant decrease in tissue IL-18 compared to the PCOS group, there was a significant decrease in CH and KOMBİN groups in IL-1 β .

Plasma SOD, GPx activities Compared to the SHAM group and PCOS group, significant plasma CAT activity and MDA levels increased significantly in the PCOS group. Tissue SOD, CAT, GPx activities, and MDA levels decreased significantly in the PCOS group compared to the SHAM group.

As a result, it is thought that the use of AGN and KOMBİN in PCOS ovarian tissues created with DHEA can effectively reduce cystic structures in the ovaries, suppress inflammation, oxidative stress, hormones, thus playing an active role in the treatment of PCOS.

It is thought that it will contribute to new drug studies with current approaches in the treatment of PCOS, which is an important health problem; and will help to use modern medicine methods along with these drug treatments. In addition to all the treatments, apigenin and Chrysin, a new therapeutic agent, are thought to lead the treatments.

Keywords: Dehydroepiandrosterone, Polycystic Ovary Syndrome, Apigenin, Chrysin

3.GİRİŞ

3.1. Tanım

Polikistik over sendromu (PCOS) çoğunlukla reproduktif çağındaki kadınlarda görülen, santral sinir sistemi, overler, hipofiz, böbrek üstü bezleri ve ekstraplanduler dokular arasındaki etkileşimlerin bozulması sonucu meydana gelen kronik seyreden, yaşam kalitesini negatif yönde etkileyen endokrin bir bozukluktur (1,2). Folikül sayısı ≥ 12 , hacmi $>10 \text{ cm}^3$, over boyutu 2-9 mm çapında ise polikistik over olarak tanımlanmaktadır (3) (Şekil 1).

3.2. Tarihçe

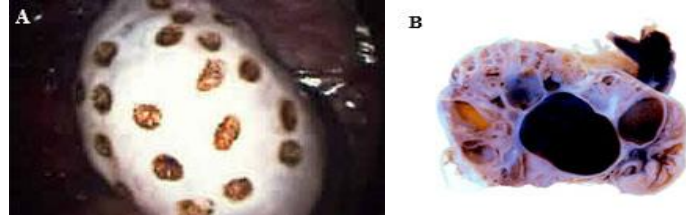
PCOS'da ilk tanımlama 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından yapılmıştır. Stein ve Leventhal amenore, hirsütizm, kilo artışı ve büyümüş polikistik overleri 4'ü obez olmak üzere 7 olgu tanımlamışlardır (4).

1958 yılında McArthur, Ingersoll ve Worchester PCOS görülen kadınlarda idrar lüteinleştirici hormon (LH) düzeylerinin yüksek olduğunu ortaya koymuşlar, daha sonraları yüksek LH düzeyleri PCOS tanısında kullanılmaya başlanmıştır (5).

1980'de ortaya konulan tanıda da yüksek testosteron ve LH seviyelerine bakılırken, serum LH/FSH (folikül stimulan hormon) oranının da LH yönünde yükseldiğini ortaya konuldu (6).

3.3. İnsidansı

PCOS, doğurganlık çağındaki kadınlarda yaygın görülen endokrin bozukluk olup ovarian hiperandrojenemi olarak da isimlendirilir. Prevelansı genel olarak %6-8 civarında olmakla birlikte, farklı tanı kriterlerine göre değişebilmektedir (7).



Şekil 1. Polikistik overlerin anatomik (A), patolojik (B) görüntüleri

3.4. Tanı Kriterleri

PCOS tanı kriterlerinin belirlenmesinde pek çok araştırmacı farklı görüşler ortaya atmıştır fakat kesin tanı tam olarak ortaya konulmamıştır. Son zamanlarda, PCOS için 3 temel tanımlama yapılmıştır.

3.4.1. National Institutes of Health (NIH) 1990 kriterleri (8)

- Kronik anovulasyon
- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizmin olması

Her iki olgunun bir arada bulunması gerekir.

3.4.2. ESHRE- ASRM Rotterdam 2003 kriterleri (9)

2003 yılında tanımlanan ve şu anda PCOS tanısında sık kullanılan kriterlerdir.

- Ultrasonografide (USG) polikistik over görünümü
- Anovulasyon ve / veya oligoovulasyon
- Klinik ve/ veya biyokimyasal hiperandrojenizm

Bu kriterlerden ikisinin olması PCOS tanısı için yeterlidir.

3.4.3. Androgen Excess Study (AES) 2006 kriterleri (10)

- Klinik/biyokimyasal hiperandrojenizm
- Oligoanovulasyon ve / veya polikistik overler
- Diğer androjen aşırılığı veya benzeri hastalıkların uzaklaştırılması

3.5. Klinik ve Laboratuvar

PCOS çoğunlukla puberte döneminde başlayan menstrual düzensizlikler

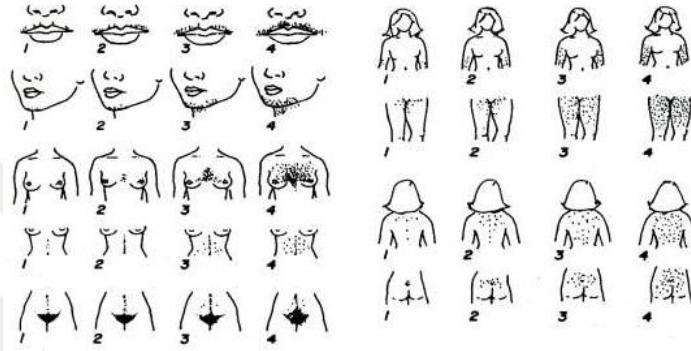
(amenore, oligomenore, disfonksiyonel uterus kanaması), hiperandrojenizm bulguları (hirsutizm, ciltte yağlanma, akne, erkek tipi saç dökülmesi) ve infertilite ile bu bulgulara ilave obezite ile karşımıza çıkmaktadır (Tablo 1). Akantozis nigrikans ve nadiren de olsa virilizasyon bulguları fizik muayenede tespit edilebilir. PCOS görülen kadınların %20'sinde düzenli bir menstrual döngünde olabileceğini bildirilmiştir (11).

Tablo 1. PCOS'daki belirtiler ile görülme sıklıkları (11)

Belirti ve bulgular	Sıklık
Hirsutizm	%60- 90
Oligomenore	%50- 90
İnfertilite	%55- 75
Polikistik over	%50- 75
Obezite	%40- 60
Amenore	%25- 50
Anormal uterus kanaması	%30
Akne	%25
Normal menstrual döngü	%2

PCOS'da en çok görülen hiperandrojenizm bulgusu olan hirsutizm Ferriman-Gallwey metodu ile değerlendirilir (12). Vücudun toplam 9 alanında (çene, göğüs bölgesi, sırtın üst-alt kısımları, üst-alt abdomen, kol ve bacakların üst kısımları) kıl dağılımı 0-4 arasında bir skora yapılarak Ferriman- Gallwey skoru değerlendirilir (Şekil 2). Bu skor 6 ve üzerinde bir skorlama yapıldığında hirsutizm tanısı konulur. Hiperandrojenizme bağlı olarak akne, ciltte yağlanma gibi tanılar görülebilir, ancak bu tanılar için bu gibi klinik bulguların olması şart değildir

(13,14). PCOS’ da artan kıl gelişimi genellikle üst dudak, boyun bölgesi ve yüzün yan kısımlarından çeneye doğru yayılım şeklindedir. Artan hiperandrojenizm ile erkek tipi kellik ve saç dökülmesi olabilir. Obezite gibi androjenlerin fizyolojik ve hücresel aktivitelerini değiştiren durumlar da kıl büyümesinin artışına sebep olabilmektedir. Bu artışlarla beraber SHBG seviyesinin azalması ile beraber serbest testosteronun artışına sebep olurlar (15).



Şekil 2. Ferriman-Gallwey skorlama skalası

PCOS’da menstrual bozukluk menstrual kanamanın seyrek, düzensiz veya hiç olmaması şeklinde görülmektedir (16). Düzensiz menstrual kanamanın nedeni östrojen miktarının yumurtlama yetersizliğine bağlı olarak sürekli artması ve östrojenin progesteron ile karşılanmamasıdır (12). PCOS tanısı konulan kadınların yaklaşık %20’sinde amenore görülür, hastaların %5-10’unda ise düzenli bir ovulasyon fonksiyonu tespit edilir (16).

PCOS’un oluşmasında en büyük neden yumurtlama yetersizliği sonucu oluşan infertilitedir ve yumurta yetersizliği görülen kadınların %75’inde PCOS görülmektedir. Kendiliğinden ve tıbbi yardımla oluşan gebelik oranları azalmıştır (17). Kilo fazlalığı, düşük riskindeki artış ile birliktedir. Genel olarak PCOS görülen kadınların PCOS görülmeyen kadınlara göre daha fazla düşük riskine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç PCOS’taki yüksek LH konsantrasyonunun sebep

olduğu bozulmuş oosit ve embriyo kalitesine bağlı olabileceği düşünülmektedir (18,19,20).

Klinik olarak PCOS düşünülen olgularda tanı ultrasonografik ve biyokimyasal bulgularla desteklenebilir. Laboratuvarda hem over hem de adrenal bezden kaynaklı androjenik hormonların artışıyla karakterize hiperandrojenemi tespit edilir (21,22).

Düzenli bir döngüdeki hormonal değişikliklerin aksine sürekli anovulasyona sahip olan PCOS görülen kadınlarda, seks steroidlerinde (östrojen, progesteron, testosteron) ve gonadotropinler de "sabit hal" olduğu görülmüştür. PCOS'lu hastalarda östrojen ve androjenin günlük olarak sentez miktarı artmış olması LH uyarısına bağlıdır (23). Dolaşımda testosteron (T), östradiol (E2), dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS) ve progesteron (PROG) düzeyleri yüksektir. Overlerden doğrudan T salgılanırken DHEAS'ın tamamına yakını böbrek üstü bezlerden salgılanır (24). PCOS görülen kadınların yarısından fazlasında DHEAS yüksek görülür. PCOS olgularda hiperandrojenemide adrenal bez etkili olsa da asıl kaynak overlerdir (25). Overlerdeki androjen biyosentezi sırasındaki endokrin etkileşimler açıklanabilse de temeldeki biyokimyasal defektler tam olarak açıklanamamaktadır.

Düzenli bir menstrual siklusu olan kadınlar ile sürekli olarak anovulasyon görülen PCOS'lu kadınlar karşılaştırıldığında LH'nin konsantrasyonu çok yüksek, FSH konsantrasyonu ise düşük ya da normalin altındadır (26). Artmış LH miktarından ziyade, biyoaktif LH oranında artış olması da önemlidir. Yüksek LH ile düşük FSH şeklinde görülen gonadotropin tablosunun gonadotropin salgılayıcı hormon (GnRH) salgısını artırması sonucunda hipofizde kısmi olarak bir duyarlılık

kaybı sonucu olmasıyla mümkündür (27). Hipotalamus ve hipofiz bezindeki bu duyarlılık artışına, östron düzeyinin yükselmesi sonucu olduğu düşünülmüş, fakat son zamanlarda yapılan çalışmalarda seks hormonu bağlayan globulin (SHBG) konsantrasyonunun azalmasının da bu konuda etkin bir rolü olabileceği bildirilmiştir (28). Serbest östradiol düzeyindeki yükselme LH düzeyi ile pozitif korelasyon gösterir. SHBG, karaciğerden sentezlenen, üretimi testosteron tarafından baskılanan, tiroksin ve östrodiol tarafından uyarılan bir proteindir. PCOS'lu kadınların yaklaşık yarısında artmış olan testosteron ve yüksek insülin düzeylerinin karaciğer üzerinde etkisiyle SHBG %50 civarında azalmış bunun sonucunda da E2 düzeyleri artmaktadır (27). PCOS'da total östrojenin artması, periferik dokularda andostenodion'un E2 ye çevrilmesi sonucu oluşur (26,29). FSH tam olarak baskılanmadığından sürekli yeni foliküller oluşturmakta fakat bu foliküller tam olgunluğa ulaşamadıklarından ovulasyon olmamaktadır. Bu nedenle 2-8 mm çapında çok sayıda foliküller kistler oluşmaktadır. Foliküler tam olgunlaşmadığından granuloza tabakasının yapısı bozulmamakta, overin stroma bölümünde bulunan teka hücrelerinde varlığını sürdürmekte ve bu hücreler ise androjen salgılamaya devam eder. Artan LH düzeyine yanıt olarak androjen sentezi hızlanır. Daha sonra kısır döngü ile yükselmiş androjen düzeyleri ekstraplandüler olarak androjenden östrojen dönüşümü artar, SHBG sentezini baskılayarak östrojen düzeyinin yükselmesine neden olur. SHBG'de azalma, serbest testosteronda iki kata yakın bir artışa neden olur (23). Lokal olarak androjenin bloke olması sürekli olarak anovulasyon halinin devam etmesinin en önemli sebebidir. PCOS'lu kadınların %10'u ile %30'unda prolaktin (PRL) yüksek olabilir (30).

PCOS'da obezite %40-60 oranında görülmektedir. Obezitede çoğunlukla

bel/kalça oranının artmasıyla santral obezite görülürken PCOS'lu kadınlara daha riskli durumları beraberinde getirmektedir. Ağırlık yönünden eşleştirilmiş sağlıklı kontrollere göre normal vücut ağırlığına sahip PCOS hastalarında bel/kalça oranı artmıştır (31). Vücut kitle indeksi (VKİ) obezite tanısına en çok ve sık kullanılan bir indekstir. VKİ aralıkları genellikle şu şekilde tanımlanmıştır; 18,5-24,9 kg/m² normal kilolu, 25-29,9 kg/m² yüksek kilolu ve 30-39,9 kg/m² obez şeklindedir (32). Çoğu hastada menstrual bozukluk başlamadan önce belirgin kilo artışı görülmektedir (33). Ayrıca akantozis nigrikans adı verilen dermatolojik lezyonlar da görülebilir. Bu dermatolojik lezyon kadife gibi koyu plaklar şeklindedir. Bunlar boyun arkasındaki deri kıvrımları, parmak boğumları, meme altı, dirsek bölgelerinde görülür. Obez ve hiperandrojenik kadınlarda genellikle vulvada bulunur (34,35).

PCOS'da pelvik USG önemli olmakla beraber tanı için şart olmamaktadır (36). Doğurgan yaştaki 257 sağlıklı kadınlarda yapılan bir çalışmada; pelvik USG'de %23 polikistik over (PCO) görülmüştür. Yine benzer şekilde PCOS'lu hastalarının bir kısmında USG'de normal overler görülmüştür (37,38). PCOS'da klasik USG görünümü overler büyümüş, her overde 2-8 mm'lik en az 10 folikül olması (Şekil 3) ve overin stromasının belirgin bir şekilde artması şeklindedir (39).



a-PCO görüntüsü

b- Normal over

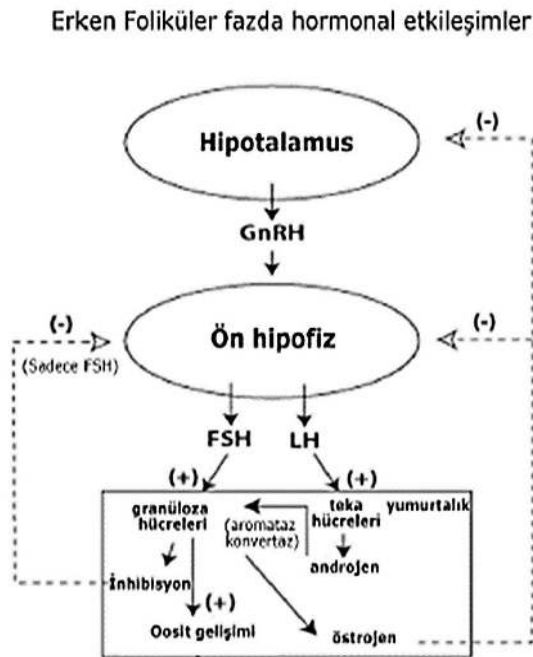
Şekil 3. Ultrasonografide PCO ve normal over görüntüsü

3.6. Etiyopatogenez

PCOS, çevresel ve genetik etmenlerin etkileşimiyle ortaya çıkmış sık görülen ve farklı birçok öğeden oluşan bir hastalık olarak değerlendirilir. PCOS patofizyolojisinde gonadotropin sekresyon dinamiğindeki bozukluklar, steroidogenez defektleri, insülinin salınım ve etkisinde bozukluklara bunlara ek olarak da genetik faktörler ön plana çıkmaktadır (40).

3.6.1. Gonadotropin Sekresyon Defektleri

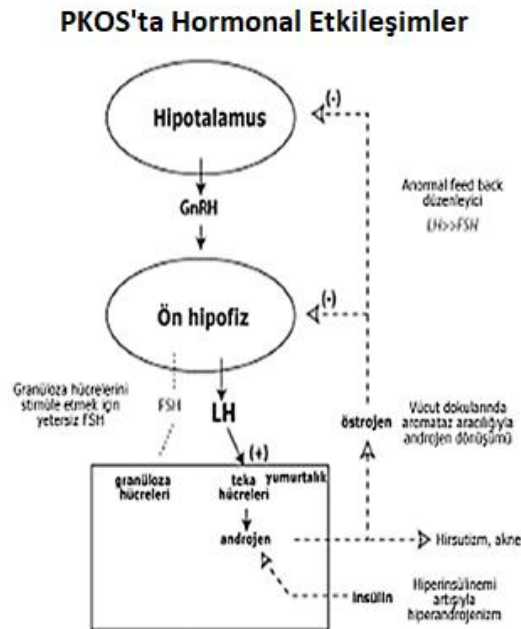
PCOS'un temel patofizyolojik özelliklerinden biri GnRH sekresyon dinamiğindeki değişikliklerdir. Normal bir döngüde döngünün ilk günlerinde hipofiz bezinin ön lobundan salgılanan FSH'ın, sentezinin ve salınımının artışıyla foliküler uyarılır böylece östrojenin sentezinde yükseliş başlar. Yükselmekte olan östrojen negatif feedback mekanizmasıyla FSH'ın salınımını azaltmaya çalışır. Östrojen seviyesi de belirli bir seviyeyi geçtiğinde hipofizden LH salgılanmaya başlar ve LH piki ovulasyonu harekete geçirir (Şekil4) (41,42).



Şekil 4. Sağlıklı bireyde hormonal etkileşimler (42)

Kronik östrojen üretiminin, pozitif feedback mekanizmasıyla gonadotrop hücrelere etki etmesi ile GnRH frekansını artırmasıyla %35 oranında LH artışı ve bunun sonucunda meydana gelen anormal serum gonadotropin seviyeleri vardır. LH'daki bu artış hipotalamik bir bozukluğa bağlıdır (43,44,45).

PCOS hastalarında ise LH ve FSH hormonları salgılanırken aksaklığa uğrar. LH teka hücrelerinde yüksek oranda androstenedion ve androjen yapımına neden olur (Şekil 5) (46,42).



Şekil 5. PCOS'taki hormonal değişiklikler (42)

3.6.2. Steroidogenez değişiklikleri

Steroidogenez bozukluğu, fonksiyonel over hiperandrojenizmine bağlı olarak ortaya çıkan intraoveryan da görülen androjen fazlalığıdır (47). PCOS'da adrenal/over bez steroidogenezinde birçok değişiklik bulunmuştur (48). Sağlıklı kadınlarda androjenler adrenal bez ve overlerden salgılanırken PCOS'lu kadınlarda androstenedion overlerden salgılanmaktadır (47). Artan LH düzeyi overlerde

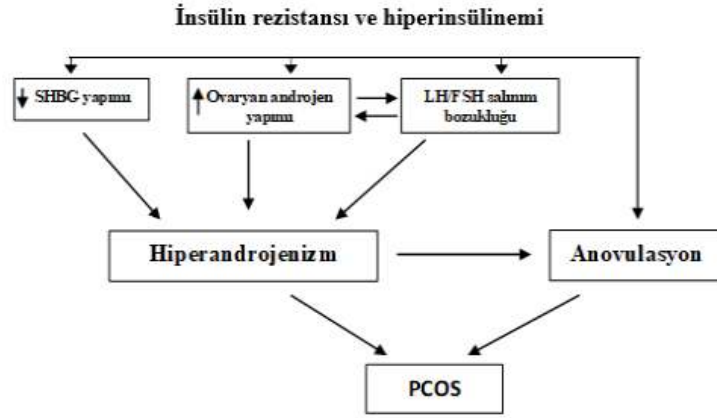
cAMP'ın (Siklik adenozin monofosfat) artmasıyla steroid yapıda olan androjenlerin üretimini olumsuz yönünde etkileyerek folikül oluşumunda duraklamaya neden olmaktadır. GnRH agonistlerinin PCOS'lu kadınlarda sağlıklı kadınlara göre kullanılması overlerdeki teka hücrelerinde yükselmiş androstenedion ve 17(OH)-progesteron görülmesi bu hücrelerde yeniden steroidogenez farklılığını (sitokrom P450c17 gen over ekspresyonu) düşündürmektedir. LH'nin bu sistemi seçici olarak etkilemesi çok yüksektir (48). Teka hücrelerinde İnsüline Benzer Büyüme Faktörü-1 (IGF-1), İnsüline Benzer Büyüme Faktörü-2 (IGF-2) ve insülin reseptörleri bulunur ve bu reseptörlerin uyarılmasının androjen üretiminde etkisi olduğunu göstermiştir (49). İnsülinin etkisi tam olarak bilinmemekle beraber, yüksek insülin düzeylerinin düzeltilmesi, LH'da herhangi bir değişiklik olmaksızın serum androjen düzeylerinde bir azalma göstermiştir.

PCOS'da adrenal bezin artmış androjen üretimini bağlı hastaların %20-50'sinde artmış DHEAS ve 11 β (OH)-androstenedion seviyeleri tespit edilmektedir (50). Fakat adenokortikotropik hormon (ACTH) seviyeleri normal olduğu için farklılık ya ACTH'ye yanıtta kaynaklanabilir ya da adrenal bezin ACTH dışı faktörler tarafından uyarıldığı düşünülebilir. Genetik faktörler de göz önünde bulundurulsa da (51) artmış adrenal androjen sentezinin PCOS patogenezindeki yeri net olarak tanımlanamamıştır.

3.6.3. İnsülin salınım ve etki bozuklukları

Hem zayıf hem de obezite görülen PCOS hastalarında insülin direnci ile birlikte dengeleyici hiperinsülinemi çok karşılaşılan bir bulgudur. PCOS'da insülin rezistansının değerlendirilmesinde toplumsal özellikler ile kullanılan ölçüm yöntemlerinin sonuçlar üzerinde önemli etkisi vardır (52). PCOS'da insülin etki

anormallik mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir (53). Burghen ve arkadaşları 1980 yılında obez PCOS'lu hastalarda insülin yüksekliği ile hiperandrojenizmin pozitif lineer korelasyonunu ilk kez bulmalarının ardından birçok çalışmada zayıf ve obez PCOS hastalarında insülin rezistansı görülmüş, fakat ne obezite ne de tek başına artmış androjen PCOS'daki insülin etki bozukluğunu açıklayamamaktadır (53,54). Her PCOS'lu kadında insülin rezistansı olmadığı gibi, insülin rezistansı ölçümü de PCOS tanı kriterleri arasında bulunmamaktadır (52). PCOS'da insülin rezistansı ve yüksek insülin düzeyleri overde androjen sentezini ve ayrıca SHBG seviyesinin azalmasıyla serbest testosteron seviyesini arttırmaktadır (Şekil 6). İnsülin rezistansı inceleyen bazı çalışmalarda, insülinin reseptöre bağlanması normal iken, insülin-aracılı glukoz transportunun azalmış olduğu (artmış serin fosforilasyonuna bağlı postreseptör defekt) saptanmıştır (53).



Şekil 6. İnsülin rezistansı ve hiperinsülineminin PCOS'taki rolü

3.7. Genetik temeli

PCOS'da genetik faktörlerin patogenezinde önemli bir rol üstlendikleri konusunda şüphe olmamakla beraber, kalıtsal yapının net bilinmemesi nedeniyle genetik özelliklerin araştırılmasına neden olmuştur. PCOS genetiğine ilişkin çalışmalarda ortaya çıkan sorunlar, primer etiyolojinin yeterince açık olmaması,

fenotip tanımlarının yetersizliği, çalışma gruplarının farklı olması ve çok sayıda aday genin bulunması şeklinde sayılabilir (55,56). PCOS, çevresel faktörlerin ve farklı gen etkileşimlerinin sonucu oluşan bir bozukluk gibi görünmektedir. Yapılan çalışmalarda ikiz çalışmaları, erkek fenotip, ailesel yığılım ve çevresel faktörler üzerinde durulduğu özellikle görülmektedir (56,57).

3.7.1. Erkek Fenotipi

PCOS'lu olguların ailelerine ilişkin kesin olarak belirtilmiş erkek fenotipinin bulunmamasından, PCOS'un genetik kaynağı konusundaki çalışmalardaki ilerleyişi sınırlandırmıştır. İlk yapılan çalışmalarda erkeklerde görülen erken saç dökülmesi PCOS'lu kadınların karşılığı olarak gösterilmiş fakat bu doğrulanamamıştır. Ayrıca PCOS'lu kadınların babalarında ve erkek kardeşlerinde ise artmış DHEAS seviyesi, insülin rezistansı erkek fenotipi olarak önerilmiştir (58,59).

3.7.2. İkiz Çalışmaları

PCOS'un genetiğine ilişkin araştırmalarda, çift yumurta ikizleri genlerin %50'sini paylaşıırken tek yumurta ikizleri tüm genleri paylaşırlar. Tek yumurta ikizlerinde PCOS'un çok görülmesinin nedeni genetik etkiden dolayıdır (60,61).

3.7.3. Ailesel Yığılım

PCOS'lu kadınların aile bireylerinde tip 2 diyabet görülme sıklığı toplum ortalamalarına göre yüksektir (62,63). Yılmaz ve arkadaşları, PCOS'lu kadınların ebeveynlerinde bozulmuş glukoz tolerans sıklığı %40-%52 olarak bildirmişlerdir (64). Başka bir çalışmada PCOS'lu kadınların aile bireylerinde tip 2 diyabet 1,2 kat daha yüksek bulunmuştur (65). Yapılan başka bir çalışmada PCOS'lu 18 kadın ve kontrol grubundaki kadınlar karşılaştırıldığında oligomenorenin artmış insidansını

göstermiştir. Bu ailelerin erkek bireylerinde erken yaşta kelliğe giden saç dökülmesinin de görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada kalıtım şeklinin otozomal dominant olduğunu da belirtmişlerdir (66). PCOS'lu bireylerin ailelerinde hiperandrojenemiye ek olarak insülin rezistansı da görüldüğünü bildirmişlerdir. Yıldız ve arkadaşları Türk popülasyonunda, 52 PCOS hastası ve 102 akrabası üzerinde yaptıkları çalışmada yaş, cinsiyet, menopoz öncesi ve sonrası durum gibi kriterlere göre oluşturulan kontrol grupları ile PCOS'lu hastaların akrabalarını karşılaştırmışlardır. PCOS'lu kadınların anneleri, kız ve erkek kardeşlerinde insülin direncinin daha sık olduğu, ayrıca PCOS'lu kadınların anne ve kız kardeşlerinde serum androjen seviyelerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (67). Yine başka yapılan bir çalışmada PCOS'lu kadınların kız kardeşlerinde, artmış LH değerleri ve hiperandrojeneminin olduğunu göstermişlerdir (68). PCOS olmayan kadınların ailelerinde bu tür bir genetik etki yoktur (69).

3.7.4. Çevresel Faktörler

PCOS'da ailesel yığılım genetik kökeni göstermekle beraber çevresel faktörlerle de oluştuğu kabul edilmiştir (70). PCOS'un yaşam tarzı, beslenme ve egzersiz gibi çevresel faktörlerle de ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Beslenmede alınan tekli ya da çoklu doymamış yağ asitlerinin sendromun çıkışını etkileyebileceğini bildirmişlerdir (56,71,72).

3.8. PCOS'da Bazı Aday Genler

PCOS etiyojisinde bugüne kadar yapılan araştırmalarda genetik faktörlerin de etkili olduğunu gösteren çalışmalar giderek artmaktadır (73,74). Bu yapılan araştırmalarda gonadotropin faaliyeti, steroid hormon sentezi, karbonhidrat metabolizması ve enerji faaliyetlerinin düzenlenmesinin yanı sıra insülin

metabolizmasında da rol oynayan genlerdir (75,76). Kalıtım şekli henüz açığa çıkmamakla beraber, olasılıkla birden fazla genin etkilendiği karmaşık bir endokrin bozukluk olduğu düşünülmektedir. Bu endokrin bozuklukta rol oynayan aday genlerden bazıları Tablo-2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. PCOS’taki aday genler (77)

Aday gen	Kromozom yerleşimi	Polimorfizm
Steroid hormon ilişkili genler		
Androjen reseptör geni (AR)	Xq11-12	(CAG)n
Seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG)	17p12-13	(TAAAA)n
Ovaryan ve adrenal steroidogenez genleri		
CYP 11 α	15q23-24	(tttta)n
CYP 21	6p21.3	Heterozigot CYP 21 mutasyonları
CYP 17	10q24.3	Promotor bölge T/C
CYP 19	15p21.1	Aromataz SNP 50
İnsülin metabolizma genleri		
İnsülin geni (INS)	11p15.5	Variable Tandem Repeats (VNTR)
İnsülin reseptör geni (INSR)	19p13.3	Ekson 17 C/T
İnsülin reseptör substrat (IRS)	2q36	Gly972Arg
Calpain 10	2q37	Single Nucleotide Polymorphism (SNP) -44,-43,-19,63
Gonadotropin metabolizma genleri		
LH β	19q13.32	Trp8Arg Ile15Thr
Follistatin	5q11.2	D5S474, D5S623 D5S822
Enerji metabolizması genleri ve diğer genler		
Leptin	7q31.3	(ttttt)n ins
Adiponektin	3q27	Ekson 2 T45G
TNF α	6p21.3	-308G/A

3.9. Polikistik Over Sendromu ve Uzun Dönem Sağlık Riskleri

PCOS kronik anovulatuvar infertilitenin en sık görülen nedeninin yanında kadın hayatını olumsuz yönde etkileyen ve genel sağlığı için uzun dönemli sağlık riskleri de görülen bir durumdur. Görülen uzun dönem sağlık riskleri; glukoz intoleransı ve Tip 2 Diabetes Mellitus (DM), dislipidemi, kardiyovasküler hastalık (KVH), jinekolojik maligniteler ve hipertansiyondur (HT).

3.9.1. Glukoz intoleransı ve Tip 2 Diyabet

PCOS'lu kadınlarda bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diyabet gelişimi yönünden artan risk altındadır. Vücut kitle indeksi (VKİ), yaş, artmış bel/kalça oranı, artmış bel çevresi ve birinci derece aile fertlerinde diyabet öyküsü PCOS'da diyabet risk faktörleri arasında sayılabilir (78). Yapılan birçok çalışmada PCOS görülen kadınlarda bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diyabet birlikte görülme sıklığı %35-40 arasındadır (79). PCOS'da tanısı konulamayan diyabet oranı ise %10'dur (78). Bu sebeplerden tip 2 diyabet gelişimi PCOS açısından bağımsız bir risk etmeni görülmekle beraber tüm PCOS hastalarının diyabet açısından araştırılması önerilmektedir. PCOS'da glukoz anomaliliklerinin değerlendirilmesinde ve tanı konulmasında kullanılan en iyi metot oral glukoz tolerans testidir (80). Sonuç olarak yapılan araştırmalar ışığında PCOS'lu kadınlar ve ailelerindeki bireylerde glukoz metabolizması bozuklukları yönünden yüksek risk taşıdıklarını göstermektedir.

3.9.2. Hiperlipidemi ve Kardiyovasküler Hastalık

Kandaki lipid seviyelerinin normal sınırlardan yüksek olmasına hiperlipidemi denir (81). PCOS olan hastalarda genellikle %70 ve üzeri hiperlipidemi görülmektedir (82,83,84). İnsülin direncinin tipik lipid bulgusu Düşük Yoğunluklu

Lipoprotein'nin (LDL) Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL) oranındaki artış, artmış serum trigliserid seviyeleridir. Obez olmayan PCOS'lu kadınlarda bile HDL düzeyinin de düşük olduğu saptanmıştır. Obezite, hipertansiyon, diyabet ve hiperlipidemi varlığı nedeniyle ortaya çıkan kardiyovasküler hastalıklardaki risk artmaktadır (Şekil 7). Ancak PCOS'lu kadınlar kardiyovasküler hastalıklar açısından araştırıldığında, koroner arter hastalığı, karotis arter tabakası kalınlığı yani ateroskleroz (damar sertliği) gibi hastalıkların yaşitlarına göre daha erken dönemlerde oluşturdıkları düşünülmektedir (85,86,87). Sonuç olarak, PCOS kardiyovasküler hastalık açısından bir risk faktörü olarak değerlendirilmelidir.

3.9.3. Hipertansiyon

Hipertansiyon, kalp hastalıklarının oluşmasında tek başına bağımsız bir risk faktörüdür (90). Yapılan çalışmalarda üreme çağındaki PCOS'lu kadınlarda hipertansiyon (HT) görülse bile özellikle PCOS geçmişi olan postmenopozal kadınlarda sağlıklı kadınlara kıyasla hipertansiyonda belirgin yükseklik görülmüştür ve ilerleyen zamanlarda hipertansiyon riski 3 kat daha fazladır (88,89).

3.9.4. Kanserler

PCOS'lu kadınlarda hipertansiyon ve tip 2 diyabet risklerine ek olarak mens kanaması olmaması nedeniyle hiperöstrojenizm, obezite ve anovulasyon sonucu progesteron salgılanmaması kanser riskini artırmaktadır (91,92,93,94). PCOS'lu kadınlarda görülen menstrual düzensizlik ve infertilite, endometrial hiperplazi ve karsinom riskini artmasına neden olmaktadır (95).

3.9.4.1. Endometrium kanseri

Endometrium her mens kanamasında rahim içinden dökülen dokudur. Menstruel düzensizliği olan kadınlarda üç ayda bir endometriumun dökülmesi

gerekir (96). Kadın genital kanserleri arasında ikinci sırada görülür ve hastaların %4'üne 40 yaş altında, %5-30'una 50 yaş civarlarında tanı konulmaktadır (97). Endometrium kanseri oluşumunda; tip 2 diyabet, obezite, infertilite ve hipertansiyonun neden olduğu ve bu durumun PCOS ile ilişkili olduğu bilinmektedir. PCOS'lu kadınlarda yüksek östrojen seviyeleri ve anovulasyondan dolayı endometrium kanseri ve endometriyal hiperplazi riski artar (98,99) (Şekil 7). Yapılan araştırmalara göre PCOS'lu kadınlarda endometrium kanser riski PCOS görülmeyen kadınlara göre daha fazla olduğu görülmüştür (100).

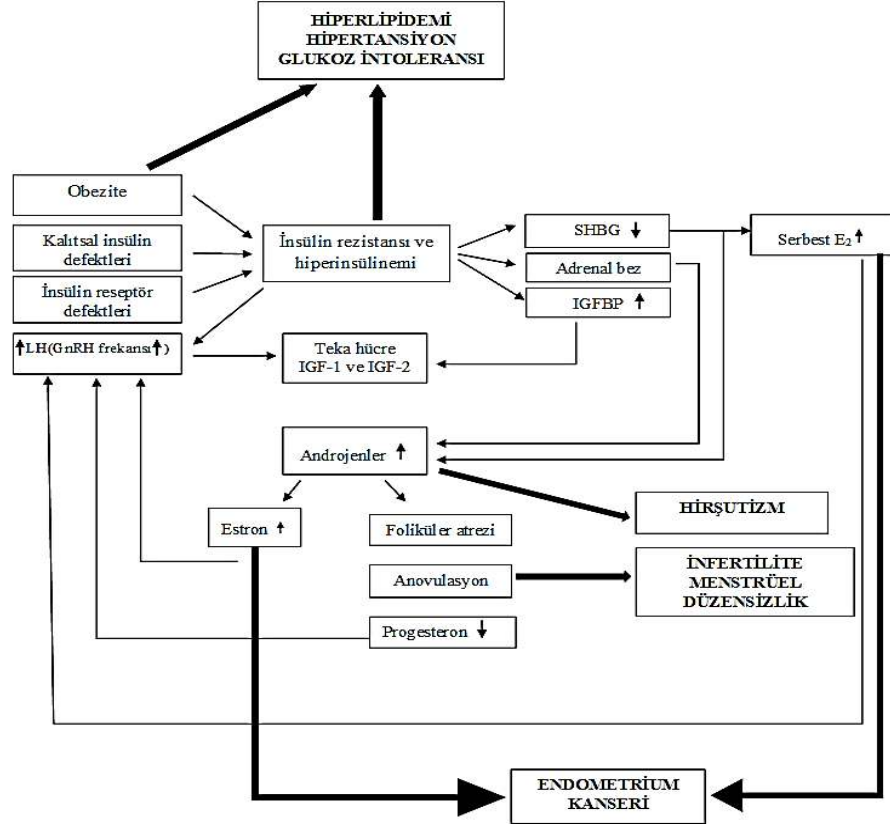
3.9.4.2. Meme Kanseri

Meme kanserinin patogeneğinde de PCOS'un semptomları arasında yer alan hiperandrojenizm, infertilite ve obezite mevcuttur (101). Hiperandrojenik kadınlarda serum testosteron, plazma SHBG düzeyinde azalma ve serbest östrojenlerin artması meme kanserini artıran nedenlerdir. Son yapılan çalışmalarda insülin direnci ve hiperinsülineminin meme kanseri için bir risk etmeni olabileceği belirtilmiştir (102). PCOS'da meme kanseri görülme riski tartışma konusu olsa da androjen hormonlarının yüksek olduğu kadınlarda plazma SHBG seviyesinde azalma, serum testosteron ve östrojenin artmasının sonucu olarak meme kanseri riskinin artmış olduğu düşünülmüştür (103).

3.9.4.3. Over Kanseri

Androjen aktivitesinin aşırı artması, over kanserinin etiyolojisinde yer almaktadır. Dolayısıyla PCOS'da görülen hiperandrojenizm overlerin malignite riskini artırmaktadır (104). PCOS'lu kadınlarda, over kanseri riskinin artışı erken menarş, nulliparite, geç menopoz gibi nedenlerden ileri gelmektedir. PCOS ve over kanseri ile ilgili çok az sayıda çalışma vardır ve bu çalışmalar çelişkili sonuçlar

içermekte ve tasarımımda problemi olan çalışmalardır (105).



Şekil 7. PCOS'un patofizyolojisi, klinik semptomları ve uzun dönem risklerinin şematik gösterilmesi

3.10. Polikistik Over Sendromu ve İnfertilite

İnfertilite, çiftlerin en az bir yıl süreyle korunma olmadan düzenli cinsel ilişki sonucu gebeliğin olmaması durumuna denir (106). PCOS'un primer nedeni anovulasyon sonucu oluşan infertilitedir (Şekil 7). Yapılan çalışmalarda PCOS'taki LH konsantrasyonunun yüksek olması sonucu bozulmuş oosit ve embriyo kalitesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. LH sebebi nedeni belli olmayan bir mekanizmayla döllenme ve erken dönemde gebelik kayıplarıyla bağlantılıdır (107,108,109). Kilo artışı ile beraber düşük riski de artmaktadır. Genel olarak PCOS'lu kadınlarda görülen düşük riski PCOS görülmeyen kadınlara göre daha

yüksek orandadır. Yapılan araştırmalarda PCOS'lu kadınlarda yüksek LH konsantrasyonuna bağlı olarak bozulmuş oosit gelişimlerinden kaynaklı yumurtlama sorunu tedavi edildikten sonra gebelik oluşabildiği gözlemlenmiştir (110).

3.11. Polikistik Over Sendromu ve Obezite

Obezite, PCOS'lu hastalarda çok rastlanan bir durumdur. Bu durum genetik faktörler, fiziksel aktivite ve diyetle alakası vardır. Erkeğe benzer vücut tipi obezite ve kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir ve obeziteden daha önemli bir belirleyicidir (Şekil 7). PCOS'u ve yumurtlama sorunu olan kadınlarda obezite %50'nin üzerindedir (111). Normal ovulasyonu olan kadınlarda obezite vücutta üç soruna neden olmakta ve bu sorunlar zayıflama ile düzelebilmektedir;

1. Serbest östradiol ve testosteron seviyelerinin yükselmesine neden olan SHBG seviyelerinde azalma.
2. Periferde androjenlerin östrojenlere aromatisasyonunda artış.
3. Overlerin stroma dokusundaki androjenlerin sentezini uyarak insülin seviyesinde yükselme

Erkek tipi obezite, visseral mezenterik ve abdominal bölgede yağ birikimi sonucu oluşmaktadır. Erkek tipi obezite ovulasyonu olmayan hiperandrojenemik kadınlarda sık görülen bir bulgudur. Bu yağ dokusu katekolaminlere karşı duyarlı insüline karşı duyarsız olduğundan metabolik bakımdan daha aktiftir. Yağ dokusunun bu artışı ile beraber insülin düzeyine artış, diyabet, glukoz toleransında bozukluk ve androjenlerin artışı görülmektedir. Androjenlerin bu şekilde artışı SHBG seviyesini düşürerek E2 ve serbest testosteron seviyesinin artışına neden olmaktadır (112). Vücutta obezitenin görülmesi durumunda olumsuz lipid,

lipoprotein profillerinde bozukluk ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler bakımdan risk faktörlerinin olduğu görülmektedir. Kalp ve damar hastalıklarından korunmada HDL-2 düzeyleriyle uyumlu bel/kalça oranı olduğu belirlenmiştir (113). Eğer bel/kalça oranı 0,85'den fazla ise erkek tipi bir yağlanma görülür. Ergenlik döneminde aşırı kilonun olumsuz etkisi de yağ birikiminin daha çok merkezi bölgelerde olması ile açıklanabilir (114). Var olan kilonun %5'inden daha fazla kilo kaybı hem androjen yüksekliğini hemde yüksek insülin düzeylerini azaltmaktadır (115). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) obezitenin tanısı ve sınıflandırılmasında VKİ değerinin kullanılmasını önermektedir. WHO kriterlerine bakıldığında VKİ ile obezitenin değerlendirilmesi Tablo 3'de gösterilmiştir (116).

$$\text{VÜCUT KİTLE İNDEKSİ (VKİ)} = \frac{\text{Ağırlık (Kilonuz)}}{\text{Boy (metre)} \times \text{Boy (metre)}}$$

Şekil 8. Vücut kitle indeksi (VKİ) değeri

Vücut Kitle İndeksi	kg/m ²
Normalden düşük ağırlıklı	≤ 18,5
Normal	18,5 – 24,9
Normalden fazla	25-29,9
Obezite	30 – 39,9
İleri obezite	≥ 40

Tablo 3. WHO'nun Obezite sınıflandırması (116)

3.12. Polikistik Over Sendromu ve İnsülin Rezistansı

Polikistik over sendromu görülen kadınlarda hastalığın nedeni üzerinde yapılan çalışmalarda kabul gören bir görüş olmasa da artmış androjen seviyeleri ve buna ek olarak insülin rezistansının çok önemli bir fonksiyona sahip olduğunu kanıtlanmıştır (117). İnsülin direnci ile birlikte hiperinsülinemi, teka hücrelerinde androjen sentezinin artışına neden olmakta ve karaciğerden SHBG üretimini

azaltmaktadır (118). Achard ve ark. hem diyabet görülen hemde hirsutizmli bir kadını rapor etmişlerdir (119). 1976 yılında ise Kahn ve ark. üç zayıf ergen kadında son derece önemli insülin direnci ve akantozis nigrikansın beraber görüldüğünün belirtmişlerdir (120).

İnsülin reseptörü geninde görülen mutasyonlar sonucu oluşan insülin direnci ve akantozis nigrikansın beraber görülmelerine Tip A insülin direnci adı verilmektedir. Bu sendroma hiperandrojenizmin eklenmesiyle de "HAIR-AN Sendromu" adı verilir (121). Tip A sendromu ve HAIR-AN sendromunda insülin reseptör geninde mutasyonlar görülse de PCOS'da insülin reseptör geninde mutasyonlar görülmemiştir (122). İnsülin reseptör genindeki mutasyonlara ek olarak insülin reseptörüne karşı oluşan otoantikorlar da insülin direncinin oluşumuna neden olmaktadır. Bu tip insülin direncine de Tip B insülin direnci denir (120). Tip B insülin direnci görülen kadınlarda da akantozis nigrikans ve hiperandrojenizm görülmektedir. PCOS'da ise insülin reseptörlerine karşı gelişen otoantikorlar olmakla birlikte sık görülmemektedir (123).

İnsülin *in vitro* olarak kendi reseptörü ve IGF-1 reseptörüyle overlerde androjen sentezini artışına neden olmaktadır (124). İnsülin 17 alfa hidroksilaz ve 17,20 desmolaz enzim sistemi (P450c17) üzerinde uyarıcı bir etkisi olduğu *in vivo* olarak gösterilmiştir (125).

İnsülin, androjen düzeylerinin dolaylı olarak da etkileyebilir. Örneğin GnRH'a karşı LH, FSH'ın yanıtını artırmasıyla androjen seviyeleri de artabilir (126). Bununla beraber insülin, SHBG'nin karaciğerde oluşumunu azaltarak serbest testosteronun dolaşımdaki miktarının artırır bu da hiperandrojenizme neden olur (127). İnsülin, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-1 (IGFBP-1)'in

karaciğerde oluşumuna engel olurken overlerde IGF-1'in bağlanmasını artırabilir (128,129). LH'nın overlerde androjen üretimi üzerindeki etkisini ve androjen salınımını IGF-1 artırmaktadır. PCOS'da adrenaller ve overlerde bulunan P450c17 enziminin liyaz aktivitesinde artışa neden olduğu düşünülmektedir (124). P450c17 enziminin aktivitesiyle beraber serin fosforilasyonu artar (130). Böylece serin fosforilasyonunun insülin rezistansı gelişiminde ve androjen üretiminin artmasında temel bir rol oynadığını öne sürmüştür (123).

Genellikle PCOS'lu olgularda açlık kan glukozu ve glikolize hemoglobin (HbA1c) değerleri normal düzeylerdedir. Bir gece açlık sonunda 75 gram standart glukoz kullanılması ile yapılan 2 saatlik oral glukoz tolerans testi (OGTT) sonrası (2.saat glukoz $\geq$ 140 mg/dl) PCOS'lu kadınların yaklaşık olarak %40'ında bozulmuş glukoz toleransı belirlenmiştir (131,132).

Genç yaştaki ya da zayıf olan PCOS'lu hastalarda glukoz intoleransı yaygınlığı yüksek olsa da ailede diyabet öyküsü, obezite, ilerlemiş yaş ve özellikle erkek tipi yağlanma risk faktörlerini oluşturmaktadır (131,132). PCOS görülen kadınlarda insülin direncini ortaya koymak için kullanılabilecek birçok sayıda test vardır. Bu testlerden en yaygın ve standart olarak kullanılan test öglisemik klemp tekniğidir. Ancak bu testin uygulanma zorluğu nedeniyle kullanılmamıştır (133). Açlık glukoz testi ile glikolize hemoglobin ölçümünün değeri de bulunamamıştır (131,132). PCOS'lu kadınlarda insüline karşı duyarlılığı bulmada açlık glukoz/açlık insülin oranının yararlı ve çok daha pratik olduğu belirtilmiştir (134). Birçok araştırmacının önerdiği ve kullandığı yöntem 75 gr glukoz ile 2 saatlik OGTT tekniğidir. Ayrıca bu yönteme ilaveten bazı araştırmacılar açlık ve 60.dakika insülin seviyelerine bakmayı önermişlerdir (133).

3.12.1. İnsülin Rezistansı ve İnsülin Sensitivitesinin Değerlendirilmesi

Obezite ve obezite görülmeyen PCOS'lu kadınlarda yüksek insülin düzeylerine sahiptirler fakat tüm hiperandrojenik olan PCOS'lu kadınlar yüksek insülin seviyelerine sahip değildirler. Obezite görülen kadınlarda yüksek insülin seviyeleri, yüksek androjenik etkiler ise daha yoğun görülmektedir. Obezite görülmeyen fakat yüksek insülin düzeyleri görülen kadınlarda diyabet oluşma riski düşük ve ileriki yaşlarda ortaya çıkmaktadır (135). Hiperinsülinemik-öglisemik klemp tekniği, insüline karşı duyarlılığı değerlendirmek için en güvenli yöntemdir. Yapılan diğer testlerin duyarlılığı ve özgüllüğünü belirtmek için kullanılan bu yöntem; zor uygulanması, tecrübe gerektirmesi, zaman alması ve uğraştırıcı olması sebebiyle pratik olarak uygulanmamakta ve bu yüzden de tercih edilmemektedir (115). Testlerin böyle olumsuz yönlerine destek olmak için alternatif testlere ihtiyaç duyulmuştur. İnsülin sensitivitesinin değerlendirilmesindeki testler;

Sık damara girmeyi gerektirmeyen, kullanışlı testler;

1. Oral glukoz tolerans testi (OGTT)
2. Açlık insülin düzeyi (Aİ)
3. Homeostatik model değerlendirme (HOMA)
4. Açlık glukoz / Açlık insülin oranı (AG/Aİ)
5. Kantitatif insülin sensitivite indeksi (QUICKI)

Sık damara girmeyi gerektiren ve dolayısıyla pratik olmayan testler;

1. Sık örneklenen intravenöz (İV) glukoz tolerans testi
2. İnsülin tolerans testi (ITT)
3. İnsülin sensitivitesi testi (IST)
4. Sürekli glukoz infüzyonuyla model değerlendirme (CIGMA)

3.12.1.1. Açlıkta uygulanan testler

3.12.1.1.1. Açlık insülin (Aİ)

Hastalar arasında farklılık göstermekle beraber açlık insülin değeri 24 µU/ml'nin üstünde olan hastalar, insüline karşı dirençli olduğu kabul edilir (136). Bununla birlikte 13 µU/ml değerinin üzerinde olan değerler de insülin direnci bakımından kabul edilmektedir. Yapılan bazı araştırmalarda, farklı vakitlerde üç kez ölçümü yapılan açlık insülin değeri ortalamasının daha değerli olduğu yönünde görüşlerini bildirmişlerdir (137).

3.12.1.1.2. Açlık glukoz (AG)/ Açlık insülin (Aİ) oranı

1998 yılından beri PCOS'lu kadınlarda insülin direncinin tespitinde kullanılan, duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olduğu bilinen AG (mg/dl) / Aİ (µU/ml) oranı çok sık kullanılan basit bir testtir. İnsülin direnci ile bu değer ters orantılı ve değer düştükçe insülin direncinin derecesi artmaktadır. Birçok araştırmada 4,5'un altında bulunan değerlerin PCOS'lu hastalarda insülin direncinin teşhisini koymak için %95 duyarlılık ve %84 özgüllük gösterdiği bildirilmiştir (138). Glukozun birimi mmol/l olarak alındığında 0,33'ün altında bulunan değerler insülin direncini göstermektedir. Hiperglisemik olan olgularda duyarlılık düşer.

3.12.1.1.3. Homeostatic Model Assessment (HOMA-IR)

HOMA-IR indeksi = (açlık glukoz x açlık insülin) / konsantrasyon olarak hesaplanır. Glukoz birim olarak mg/ dl olarak alınırsa konsantrasyon 405 alınmalı eğer glukoz birimi mmol/l olarak alınırsa konsantrasyon 22,5 olarak alınmalıdır. HOMA indeksinin değeri insülin direnciyle doğru orantılıdır ve indeks değeri ne kadar yüksekse insülin direnci de bir o kadar yüksektir. Hiperglisemik hastalarda HOMA-IR indeksinin doğru ve anlamlı sonuç göstermesi, AG/Aİ değerine göre

önemli bir üstünlük sağlamaktadır. HOMA-IR değerinin 3,8'in üzerinde olması insülin direncini göstermektedir (139,140). Sağlıklı bireylerde HOMA-IR değeri 2,7'den küçük olmalıdır. Yapılan bazı çalışmalarda Türk toplumunda HOMA-IR'nin 2,4-2,7 değerinin üzerindeki değişik dereceler insülin direncini gösterir (138).

3.12.1.1.4. Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI)

QUICKI= $1 / [\log (AG) + \log (AI)]$ olarak hesaplanır. HOMA-IR indeksi gibi hem hiperglisemik hem de normoglisemik hastalarda kullanılan bir testtir. QUICKI, insülin direncinin belirlenmesinde iyi bir duyarlılık ve özgüllük gösteren standart değeri belli olmayan, değerlendirme aşamasında olan bir indekstir. Bu indeks insülin direnciyle ters orantılıdır ve indeks düştükçe insülin direncinin derecesinde artış gözlenmektedir (141).

3.12.1.2. Klemp teknikleri ve insülin yükleme testleri

3.12.1.2.1. Hiperinsülinemik-öglisemik klemp tekniği

Bir koldan sabit bir hızda insülin infüzyonu yapılırken diğer koldan da glukoz infüzyonu yapılır ve 30 dakika aralıklarla plazma glukoz düzeyine bakılarak belirli bir seviyede tutulmaya çalışılır (139). İnsülin direnç derecesi işlem sırasına göre dokuların glukoz alım gücüyle ters orantılıdır. Yani, işlem sırasında dokularla alınan glukoz ne kadar düşük ise, insülin direnci bir o kadarda yüksektir.

3.12.1.2.2. İnsülin sensitivite testi

İnsülin, glukoz ve somatostatin, önceden belirlenmiş sabit oranlarda 150-180 dakika boyunca sürekli olarak damara infüze edilir. Testin son 30 dakikasında ölçülen bireyin ortalama plazma glukoz değeri insülin direnci derecesini yansıtır. Bu test diğer testlere kıyasla daha fazla zaman almakta ancak daha az sayıda damara

giriş gerektirmektedir. Yapılan bu testte, glukojenik hormonların düzeyleri artacağından yanlış sonuçlar olabilir, bu durumu önlemek için somatostatin eklenebilir.

3.12.1.2.3. İnsülin tolerans testi

Kısa etkili olan insülin direk damardan (bolus) yapıldıktan sonra, plazma glukoz değerinin düşme hızına bakılır. Bolus yapıldıktan sonra ilk 15 dakika içinde insülin ve glukoz değerlerine birkaç kez bakılmaktadır.

3.12.1.3. Sadece glukoz yüklemesi gerektiren testler

3.12.1.3.1. Sık örneklenen İV glukoz tolerans testi (FSIVGTT)

İntravenöz glukoz tolerans testi yapılarak elde edilen glukoz ve insülin değerlerinden glukoz duyarlılığını belirleyebilen testtir. Yapılan bu testte glukoz damardan glukoz verilir ve 3 saat içerisinde plazma glukoz düzeyine yaklaşık olarak 25 kez bakılır. Uygulanma zorluğu nedeniyle kullanışlı bir test değildir.

3.12.1.3.2. Sürekli glukoz infüzyonuyla model değerlendirme testi (CIGMA)

Glukoz intoleransı, insülin rezistansı ve beta hücre fonksiyonu hakkında bilgi veren bir testtir. Sabit bir hızda damardan glukoz verilerek yapılır; 0, 50, 55 ve 60. dakikalarda glukoz, C-peptid ve insülin seviyelerine bakılıp ortalamaları alınarak insülin direnci ve β hücre fonksiyonu değerlendirilir.

3.12.1.4. Oral glukoz tolerans testi

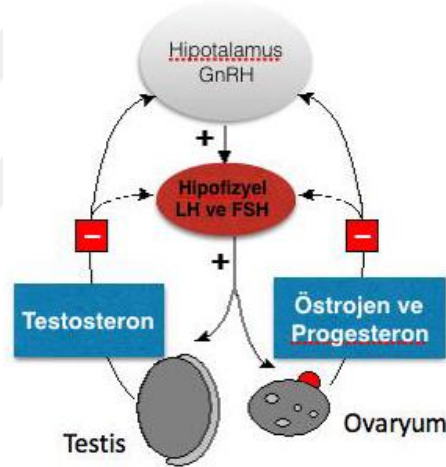
75 veya 100 gr glukoz oral olarak verildikten sonra 2-4 saat içinde farklı aralıklarda glukoz ve ilaveten insülin değeri bakılır. Bu testte kriter olarak 0, 30, 60 ve 90. dakikadaki glukoz değerleri alınabilir, glukoz ve insülin oranına bakılabilir veya belli bir denkleme göre 0. ve 120. dakikadaki glukoz, insülin değerleri dikkate

alınarak insülin sensitivite indeksi (İSİ 0,120) çıkartılabilir (140, 142).

3.13. Polikistik Over Sendromu ve Hormonlar

3.13.1. Folikül Stimulan Hormon (FSH)

FSH, α ve β zincirlerinden oluşan glikoprotein hormon ailesinin bir üyesidir ve hipofizin ön lobundan sentezlenmektedir (143). 89 aminoasitten oluşan FSH'nin α zinciri aktif değildir. Spesifik olarak biyolojik aktivite görülen β zinciri ise 115 aminoasitten oluşmaktadır. Hipotalamustan salgılanan GnRH, hipofizin ön lobundan FSH, LH ve PROG salınımını uyarak kan dolaşımına geçer (Şekil 9). Bu hormonlar hedef organdaki reseptöre bağlanır ve hücrel aktiviteyi başlatır.



Şekil 9. FSH ve testosteronun hormonal düzenlenmesi (144)

FSH, üremede önemli bir role sahiptir. Dişi üreme sisteminde, ovaryumun ağırlığının artmasıyla foliküllerin gelişimini ve östrojen salınımını sağlar. Ayrıca ovulasyondan da sorumludur. Erkek üreme sisteminde ise testislerdeki Sertoli hücrelerinin androjen bağlayan protein (ABP) üretmesini sağlayarak üreme zamanlarını düzenler (145).

PCOS görülen hastaların serum FSH seviyeleri normal insanlara göre düşük, LH seviyeleri ise yüksektir. Bu nedenle LH/ FSH oranı PCOS hastalarında

genellikle 3:1 olduğu görülür (146,147). PCOS hastalarının overlerinde kalıcı androjen seviyesi baskın folikül oluşturmasa bile overlerde bulunan bu küçük foliküller E2 salgılayabilir. Kanda androstenediondan oluşan estron artışı, b   k miktarlarda östrojen salgılanmasını sağlar ve belirli bir seviyede E2, hipotalamus ve hipofiz bezi üzerinde olumlu bir geri bildirim etkisi olan LH’a etki ederek artar. LH seviyesi daima yüksektir ve bu da foliküller membranının uyararak artışı androjenler üretir. Böylece LH’nin östradiol salgılanmasını artırmadaki rolünü engelleyerek PCOS hastalarında yumurta olgunlaşma bozukluğuna neden olabilir (148).

3.13.2. Lüteinleştirici Hormon (LH)

LH, hipofizin  n lobundan salgılanan protein yapılı bir hormondur. 92 aminoasit içeren bu hormon bir α ve bir β alt biriminden oluşarak işlevsel proteini oluştururlar (149).

LH, dişilerde b   m ş olan foliküllerin yırtılarak olgunlaşan yumurtanın atılması (ovulasyonu başlatır) ve yırtılan folikülün sarı cisme (korpus luteum) dönüşmesini sağlar. Korpus luteumdan progesteron ve östrojen salınımı uyarır. Foliküllerin olgunlaşmasından ovulasyona kadar LH ve FSH birlikte etki gösterirler. Erkeklerde ise testisin Leydig hücrelerinin fonksiyonlarını artırarak prostatın b   mesini ve androjen salınımı uyarır. LH, Leydig hücrelerinde testosteron üretimini sağlar (150).

PCOS görülen kadınlarda, çoğunlukla serum LH düzeyleri daha yüksek bunun aksine FSH düzeyleri düşük veya normalin alt sınırındadır. Böylece LH/FSH oranı da artmaktadır (151).

3.13.3. Progesteron (PROG)

Progesteron, 21 karbonlu ve ovaryum orjinli bir steroid hormondur. Bu hormon ovulasyondan sonra olgun folikülün yerinde oluşan korpus luteum'dan salgılanır. Progesteron, rahim içi duvarı kalınlaşmasını ve buradaki bezlerin gelişimini sağlayarak daha fazla salgı yapmalarına neden olur. Progesteron, hipofizin ön lobundan salgılanan LH'nin etkisiyle salgılanır (150).

Progesteron gebeliğin sürdürülmesi için gerekli bir ana hormondur. Uterus kas dokusunun uyarılarını azaltıp kasılmasını zorlaştırır, bu kasılma kas doku salgısının artmasını sağlar. Uterus ağzında bulunan bezlerin salgısının özelliklerini ve birleşimini değiştirir. Böylece döllenmiş yumurtanın uterusu kolay bir şekilde tutunması için gerekli ortamı hazırlar. Ayrıca progesteron diğer hormonlarla beraber meme dokusunu geliştirerek doğum sonrasında dokudan süt salgılanmasını da sağlar (152).

PCOS'lu kadınlarda FSH sentezinin yetersiz, LH sentezinin de yüksek olmasından GnRH salgısını azaltmak için yüksek PROG seviyelerine ihtiyaç duymaktadır. Fakat FSH'nin az sentezlenmesi ovulasyon yokluğuna neden olduğundan PROG seviyeleri düşük seyreder (153).

3.13.4. Dehidroepiandrosteron (DHEA)

DHEA, daha çok adrenal bezlerden salgılanan androjenik bir hormondur. Kadınlarda az miktarda da overlerde salgılanmaktadır. Çoğunlukla adrenal bezlerden dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-SO₄) şeklinde, geriye kalan küçük bir kısmı ise serbest formda salgılanır. DHEA-SO₄'ın konsantrasyonu, serbest formunun yaklaşık 100 katı kadardır. DHEA ve DHEA-SO₄ formları arasında bir korelasyon olduğundan, serbest olan formun ölçümüne nadiren ihtiyaç duyulur.

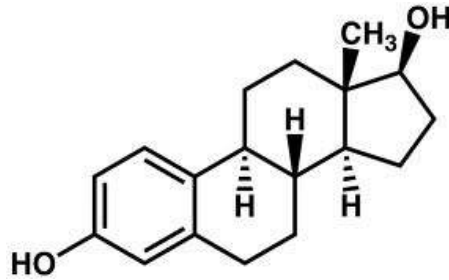
DHEA, düşük androjenik aktiviteye sahip olmasına rağmen, periferik dokularda değişikliklere uğrar ve yüksek androjenik hormonlara, androstenodion, testosteron ve dihidrotestosterona dönüştürülür. DHEA-SO₄, aynı zamanda periferik dokularda östrojene de dönüşebilmektedir (154).

Erkeklerde DHEA hormonu sayesinde kıllanma meydana gelir. Kadınlarda ise DHEA, kadınlık hormonuna dönüşmektedir. Eğer kadınlarda kellik, aşırı kıllanma, kısırlık, akne ve mensden kesilme gibi durumlar görüldüğünde DHEA hormonu seviyelerine bakılır. Yani DHEA düzeyleri testosteron ve östrojen seviyelerini etkilemektedir. DHEA bu hormonların öncülüdür.

PCOS'lu kadınların sağlıklı kadınlara göre daha yüksek DHEA düzeylerine sahiptir. Yüksek olan DHEA seviyeleri %20-50 oranında daha belirgindir. Uzun süreli GnRH antagonist tedavisi ile DHEA seviyelerinde azalma meydana gelmiştir (155).

3.13.5. Östrojen

Östrojen, kadınların menstrual döngüde önemli rol oynayan steroid yapılı bir cinsiyet hormondur. Yapısındaki iki hidroksil grubunda dolayı estradiol (E2) olarak simgelenmiştir (Şekil 10). Ovaryumdaki folikül hücreleri tarafından salgılanır. Kaynağı ovaryum olduğundan plazmada SHBG'e bağlanarak taşınmaktadır. Üreme çağındaki kadınların serumlarında östrojen baskındır (150).



Şekil 10. Estradiol' ün açık formülü

Kadınlarda farklı dönemlerde salgılanan üç ana östrojen; östradiol (E2), östriol (E3) ve östron (E1)' dur. Menarş ile menopoz arasında etkin olan estradiol'dur. Östrojen kadında, sesin incilmesi, kalça bölgesinde yağlanma ile birlikte meme büyümesi ve meme başının renginde koyulaşma, genital bölgede kıllanma gibi ikincil seks karakterlerini geliştirir. Ergenlik dönemindeki kızlarda vücut hatları yuvarlaklaşır. Östrojen yumurtalıkların hacmini artırır, rahimi iç ve dıştan kalınlaştırır, vajinanın boy olarak uzamasına ve içindeki hücreler kayganlığı sağlayan mukus maddesinin salgılanmasını sağlar. Hipofizden salgılanan FSH ve LH hormonları ergenlik çağındaki genç kızlarda overleri uyararak östradiol salgısını başlatır. FSH ve LH, yumurtlayan kadınlarda östrojen üretimini düzenlemektedir. Östrojen sadece üreme ve cinsiyet fonksiyonları dışında kemik gibi diğer organlar üzerine de önemli etkilere sahiptir (156).

PCOS'lu kadınlarda yüksek LH düşük FSH şeklindeki anormallikten dolayı GnRH salgısının artışından dolayı androjen sentezi hızlanır (158). Daha artan androjen sentezi ile birlikte androjenin östrojene dönüşümü artar ve SHBG sentezini baskılar. Böylece LH seviyesindeki yükselme östradiol seviyesindeki yükselmeye neden olmaktadır (157).

3.13.6. Testosteron (T)

Testosteron hem erkekte hem de kadında bulunan androjen steroid yapılı bir hormondur. Testosteron erkeklerde birincil olarak testis Leydig hücrelerinde, dişilerde ise yumurtalıklarda üretilir. Çok az bir miktarda ise böbreküstü bezlerinden de salgılanmaktadır. Birincil erkek cinsiyet hormonudur (159,160).

Testosteron, FSH ile birlikte etki göstererek erkek ve dişi üreme hücreleri oluşumunu sağlamaktadır (161). Kan dolaşımında bulunan testosteron serum

proteinlerinden SHBG ve albümine bağlanır. Büyük bir kısmı bu proteinlere bağlanarak taşınır. Yalnız %1-2'si kanda serbest halde bulunur (162).

PCOS'lu kadınlarda obezite özellikle abdominal yağ ve yüksek glukoz intoleransı insidansı yüksek testosteron seviyeleri ile ilişkilidir (163). Ayrıca PCOS'lu kadınların yumurtalıklarında insülin direnci ve hiperandrojenizmin testosteron üretimini artırmaktadır. Yüksek testosteron seviyeleri anovulasyonlu ve hirsutizmli kadınlarda görülür (164).

3.13.7. Prolaktin (PRL)

Prolaktin, hipofiz bezinin ön lobu tarafından salgılanan 199 aminoasitlik bir peptid hormonudur. Laktasyonda etkilidir ve annelik duygusunun gelişimini sağlar. Laktasyonun yanı sıra, gonadotropin salgılanması, menstrual siklus ve üreme fonksiyonları üzerine, böbreklerden su, sodyum ve potasyumun dışarı atılmasını da etkiler. Genetik bir bozukluk varsa hiperprolaktinemi gözlenir (165). Prolaktin salgılanmasında artış olduğunda menstrual siklus bozulmakta ve bazen kanama tamamen kesilebilmekte ya da kanamada artış görülebilir. Normal bir menstrual siklusa foliküller fazdan luteal faza doğru seviyesi giderek yükselmektedir.

PCOS'lu kadınların %10-%30'unda prolaktin seviyesi yüksek görülebilir. Artan prolaktin seviyesi, galaktore, GnRH salgısını azaltarak oligomenore-amenore ve adrenal bezi uyararak DHEA'da artış ile beraber sekonder hirsutizme neden olabilmektedir (166).

3.14. Polikistik Over Sendromu ve Protein Yapılı Hormonlar

3.14.1.İnsülin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3)

İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein (IGFBP), insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) taşımada sorumlu olan bir proteindir (167). Ayrıca

IGFBP'ler IGF reseptör sinyallemesini tetiklemeden içsel biyoaktivite uygulayabilir. IGFBP-1 ve IGFBP-3 glukoz homeostazında rol oynamaktadır (168). IGFBP-3 ile retinoid X reseptörü (RXR)- α transkripsiyon faktörü glukoz homeostazında önemli bir yere sahiptir (169). Bu sebeple IGFBP-3, glukoz homeostazını değiştirebilir. RXR- α , çeşitli glukoz ve lipid metabolizması enzimlerinin transkripsiyonel regülasyonunda yer alan nükleer bir protein olan peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör γ (PPAR γ) için önemli bir bağlanma ortağıdır. PPAR γ yağ dokusunun çoğalması, glukoz homeostazı, karsinogenez, hücre döngüsü kontrolü, damar sertliği ve inflamasyonda önemli fonksiyonu olan düzenleyici bir proteindir. Başlıca meme bezi, yağ doku ve bağırsakta bulunmaktadır. Ayrıca damar endoteli, düz kas hücresi, kan hücrelerinde kullanılmaktadır. PPAR γ , bir RXR-aktif heterodimere dönüştürüldüğünde ve bir hedef gen yanıtlayıcısı ile etkileşime girdiğinde, endotel hücrelerinde ve düz kasta *Nuclear Factor kappa B* (NF-kB) ekspresyonunu inhibe eder ve sitokin sentezini azaltır. Yağ dokuda bulunan ve insülin rezistansı ile ilişkili bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- α 'nın neden olduğu glukoz alımındaki kısıtlanma ve ribonükleik asit (RNA) ekspresyonundaki artışına karşı ters etki gösterir. Ayrıca, glukoz taşıyıcısı tip 4 (GLUT4)'ün PPAR γ tarafından ekspresyonu, hücre içine glukoz alım süreci için gereklidir. İskelet kasında ise yağ asidi parçalanmasına neden olmakta ve glukoz alımı ile birlikte glikojen sentezini uyarmaktadır.

PPAR γ , PCOS'lu kadınların görülen insülin direncinde çeşitli roller oynar ve IGFBP-3 ile ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte, PCOS'lu kadınlarda IGFBP-3 ile insülin direnci arasındaki ilişkiyi araştıran az sayıda çalışma vardır (170).

3.14.2.Epiregulin (EREG)

Epiregulin (EREG), epidermal büyüme faktörü (EGF) ailesinin bir üyesi olup 46 aminoasit kalıntısından oluşur. Epiregulin 5280,1 g/mol formül ağırlığına sahip polipeptit yapısında bir moleküldür. EREG, EGF protein ailesinin bir üyesini kodlar ve bu kodlanan protein, EGFR bir ligandı olarak ve ERBB4 (v-erb-b2 reseptörü tirozin kinaz 4'ün onkogen homolog) bir ligandı olarak da işlev görebilir (171).

EREG, oosit olgunlaşması ve gelişimi, pre-implantasyonun yanı sıra embriyonun uterusu gömülmesi, plasantasyon için gebe uterusun yeniden şekillenmesi, hücre çoğalması ve farklılaşması ile ilgilenir (172).

PCOS'lu kadınlarda, EREG seviyeleri normal siklusa sahip kadınların EREG seviyelerine göre daha yüksektir, bu da PCOS'un sürdürülmesinde EREG'in rol oynadığını düşündürülebilir. EREG, östrojen sentezini baskılayarak EGF'nin antral folikül büyümesini engellemekte bu da PCOS hastalarında folikül yokluğuna neden olabilir. Bu nedenle, PCOS'lu kadınlarda EGF sentezinin düzenleyici mekanizmalarındaki bozulmanın anovulatuvar infertiliteye neden olabileceği varsayılmaktadır (173).

3.14.3.İnhibin (İNH)

İnhibin (İNH), kadınlarda over granüloza hücrelerinde, erkekte testisin sertoli hücrelerinden sentezlenen ve salgılanan bir peptid hormondur. Ayrıca beyin, kemik iliği, hipofiz, plasenta ve böbrekte de az miktarda salgılanır. İnhibin, birbirinden farklı disülfid bağlarıyla birleşmiş alfa ve beta birimleri denilen iki peptitten oluşmaktadır. β alt grubu İnhibin A ve İnhibin B olarak ayrılmaktadır. Fizyolojik olarak aktif şekilleri bu iki dimerik formlardır. Kadınlarda her iki izoform bulunurken erkeklerde ise dominant olarak İnhibin B yapılıdır (174).

İnhibin gamet oluşumunu düzenler. Bu düzenlemede hipofizden salgılanan FSH ile negatif bir feedback ilişkisi vardır. Ergenliğe kadar düşüktür, ergenlikte yükselir ve menopozda tekrar düşer (175). FSH granüloza hücrelerinden İnhibin salgısını artırır ve FSH salgılanması İnhibin tarafından baskılanır. Yani FSH, İnhibinin yapımını ve sekresyonunu inhibe eder (174).

PCOS'lu kadınların overleri sağlıklı kadınların overlerinden daha fazla İnhibin salgılayabilir. İnhibin salgılama potansiyeli PCOS'lu kadınlardaki yüksek östrojen seviyeleri ile LH-FSH seviyelerindeki dengesizlikten de sorumlu olabilir. Bu nedenle PCOS'lu kadınlardaki İnhibin A ve İnhibin B seviyeleri sağlıklı kadınlara göre yüksek görülmüştür (175).

3.14.4.Kininojen (KNG1)

Kininler için öncü proteinler olan kininojenler (KNG1), kan pıhtılaşması, vazodilatasyon, düz kas kasılması, kardiyovasküler ve böbrek sistemlerinin düzenlenmesinde rol oynayan biyolojik olarak aktif polipeptitlerdir (176).

KNG1, inflamasyonun önemli bir düzenleyicisi olarak da işlev görmektedir. Vasküler geçirgenliği ve inflamatuvar mediyatörlerin salınımını artırabilir. PCOS oluşumunda ve gelişiminde kronik inflamasyonun rol oynayabileceği bilindiğinden KNG1'nin üreme hastalıklarının oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkisi olduğu bulunmuştur. PCOS hastalarında KNG1 seviyesinin düşük fakat yumurtalık granüloza hücrelerindeki KNG1 oluşumu ise yüksektir (177).

3.15. Polikistik Over Sendromu ve İnflamasyon Biyobelirteçler

3.15.1. İnterlökin-18 (IL-18)

IL-18, insanlarda IL18 geni tarafından kodlanan bir protein olup IL-1 süper ailesine ait proinflamatuvar bir sitokindir (178). Hem kan hücreleri üreten hem de

kan üretmeyen birçok hücre, IL-18 üretebilme potansiyeline sahiptir (179). IL-18 ilk olarak karaciğerdeki yerleşik makrofajlar olan Kupffer hücrelerinde görüldü. Aynı zamanda IL-18, endotel hücreleri, keratinositler ve intestinal epitel hücreleri yapısal olarak oluşturur (180). IL-18 hem doğuştan hem de sonradan kazanılmış bağışıklığı düzenleyebilir ve düzensizliği ise inflamatuvar veya otoimmün hastalıklara da sebep olabilir (181). IL-12 ile birleşimiyle interferon gama (IFN- γ) üretimini başlatmak için CD4⁺, CD8⁺ T hücreleri ile doğal katil hücreler (NK) üzerinde de etki etmektedir. Tip II interferon ile diğer hücreleri aktif hale getirmede ise önemli bir fonksiyona sahiptir.

IL-18, insülin direnci başta olmak üzere metabolik sendrom ile yakından ilişkili olup uzun vadede ise kardiyovasküler hastalıkların da önemli bir belirleyicidir. Bu nedenle PCOS'lu kadınlar kardiyovasküler hastalıklara karşı daha da duyarlıdır (182).

IL-18 seviyeleri, PCOS'u olan obez kadınlarda zayıf kadınlara oranla çok daha yüksektir (134). PCOS'lu obez kadınların endometriyumunda daha yüksek IL-18 seviyesinin gözlemlendiğini ve bunun sonucunda ise PCOS'lu kadınlarda embriyonun rahime tutunmasında başarısızlığa ve düşüğe neden olmaktadır (183).

3.15.2. İnterlökin-13 (IL-13)

IL-13, yaklaşık 10 kDa ağırlığında olup glikolize olmayan bir proteindir. IL-13, T hücrelerinden köken alan bir sitokindir.

Mast hücreleri, eozinofiller, bazofiller tarafından salgılanan IL-13, goblet hücrelerin çoğalması, IgE sentezi, hava yolu duyarlılığı ve aşırı mukus salgılanmasını da düzenlemektedir. Ayrıca astım ve alerjik inflamasyon gibi çeşitli hastalıkların da aracısıdır (184).

PCOS'lu kadınların IL-13 seviyeleri normal yumurtalayan kadınlara göre daha yüksektir (185).

3.15.3. İnterlökin-1 β (IL-1 β)

IL-1 β , proinflamatuvur etkili bir sitokin olup endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırmasıyla akut faz yanıtı aktive eder. IL-1 β hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve programlaştırılmış hücre ölümünü içeren inflamatuvar cevabın önemli araçlarından biridir. IL-1 β , yağ doku enflamasyonunu modüle ederek obezitedeki karaciğer yağlanması üzerinde düzenleyici bir etkisi vardır (186).

IL-1 β , tirozin kinaz yolağına bağlı bir mekanizma ile insülin reseptör substrat-1 ekspresyonunu azaltarak adipositlerde bulunan diğer sitokinler ile birlikte insülin rezistansının oluşmasına neden olmaktadır (187). Gonadotropinler, IL-1 β 'yı uyararak foliküler teka ve granüloza hücreleri tarafından LH, FSH ile uyarılmış östradiol ve progesteron salgılanmasını inhibe ederek cAMP üretimini etkiler, bu da folikül aşamasına bağımlı düzenleyici bir rol önerir. IL-1 β seviyesi PCOS'lu kadınların serumlarında artış göstermektedir (188).

3.15.4. İnterferon Gama (IFN- γ)

IFN- γ ya da tip II interferon viral, bakteriyel ve bazı tek hücreli canlıların oluşturduğu enfeksiyonlara karşı doğuştan veya sonradan kazanılmış bağışıklık için önemli olan bir sitokindir. Ayrıca makrofajların önemli bir aktivatörü olup majör histo-uyumluluk kompleksi sınıf II molekül oluşumunun indükleyicisidir. IFN- γ insan lenfositlerinde, NK, CD4⁺ ve CD8⁺ hücreleri tarafından doğuştan gelen bağışıklığın bir yanıtı olarak bağışıklık oluşuktan sonra üretilmektedir (189).

IFN- γ , çoğunlukla yumurtalıklarda bulunan foliküller sıvılarında ve

lenfositlerde de yerleşik olarak bulunmaktadır (190). IFN- γ , granüloza hücreleri, yumurta hücreleri için büyüme ve besin düzenleyicileri sağlar. Buna karşılık, merkezde bulunan yumurta hücresi, granüloza hücrelerinin büyümesini ve farklılaşmasını sağlar (191). Yumurta ve granüloza hücreleri arasındaki bu çift yönlü etkileşim, folikül olgunlaşmasını sağlamaktadır. Granüloza hücreleri içinde meydana gelen programlaştırılmış hücre ölümü, folikülogenezin ayrılmaz bir parçasıdır (192).

PCOS'lu kadınların granüloza hücrelerinde daha fazla programlaştırılmış hücre ölümü indisansı görülmektedir. Bu hücrelerde meydana gelen bu hücre ölümleri inflamatuvar sitokinlerinin de oluşturduğu birçok faktör tarafından aktif hale gelen kompleks bir süreçtir. Bu nedenle PCOS' lu kadınların serumlarında IFN- γ seviyelerinde artış görülmektedir (192).

3.16. Polikistik Over Sendromu ve Enzimatik Antioksidanlar

Antioksidanlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin zararlı etkilerini enzimatik veya nonenzimatik yollarla engelleyen yapılar olarak bilinmektedir. Bu antioksidan sistemlerin etkileri; indirgenmiş şekilde bulunan metallerle şelat oluşturmak, serbest dolaşan radikallerin etkilerini engellemek, diğer antioksidanların ortaya çıkmasında rol oynamak, gen ekspresyonunda pozitif yönde rol üstlenmek, doku ve biyolojik sıvılarda fizyolojik olarak etki gösterebilecek seviyelerde bulunabilmektir. Fizyolojik olarak en etkili *in vivo* antioksidan enzimler Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidaz (GPx)'dir (193).

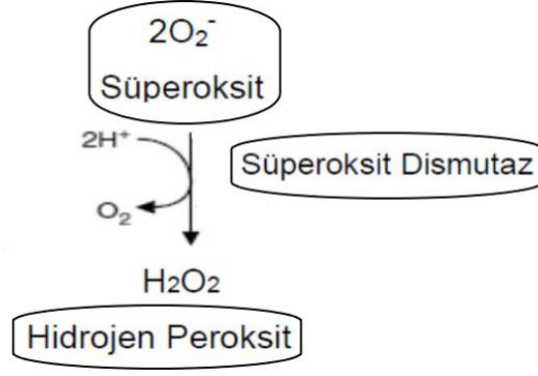
PCOS'un azalmış antioksidan konsantrasyonları ile ilişkisi vardır ve bu da oksidatif bir durum kabul edilir. Artan reaktif oksijen türlerinin üretimi ile birlikte

mitokondriyal O_2 tüketimi ve GSH düzeylerindeki azalma, PCOS kadınlarda mitokondriyal bir bozukluk olduğunu açıklamaktadır. PCOS görülen kadınların hücreleri, hiperglisemiye ve C-reaktif proteine verilen yüksek yanıttan kaynaklanan bu inflamatuvar durumda artar. Hiperglisemi, mononükleer hücrelerden yüksek seviyelerde reaktif oksijen türlerini üretir, bu da Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF- α) salınımını aktive ederek inflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF-kB'yi artırmaktadır. Sonuçta, insülin direnci aracısı olarak bilinen TNF- α konsantrasyonları daha da artar. Bu oluşan sistem de insülinin artmasına neden olan inflamatuvar dirence ve hiperandrojenizme katkıda bulunur (194).

3.16.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eden bir metalloenzimdir. Serbest olarak dolaşan oksijen radikallerinin toksisitesine karşı savunma mekanizmalarını oluşturur. Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunmaktadır. SOD'ın substratı olarak bilinen süperoksit radikali vücudun sitozol, mitokondri ve ekstraselüler kısımlarında bulunur.

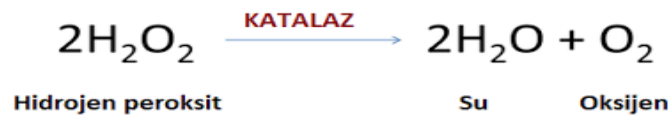
Bu enzim vücutta serbest radikallerin oluşmasını engel olmakla beraber lipid peroksidasyonunun başlamasını da önlemektedir. Vücutta oluşan süperoksit anyonu süperoksit dismutaz enzimi tarafından H_2O_2 'ye dönüştürülür. H_2O_2 'nin kendisi serbest radikal olmamasına karşın OH^- radikalinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu oluşum toksik etki gösterebilir bu nedenden dolayı H_2O_2 'de glutatyon peroksidaz ve katalaz tarafından zararlı etkisi olmayan bileşiklere çevrilirler (195) (Şekil 10).



Şekil 11. Süperoksit Radikalinin SOD Tarafından Dismutasyonu

3.16.2. Katalaz (CAT)

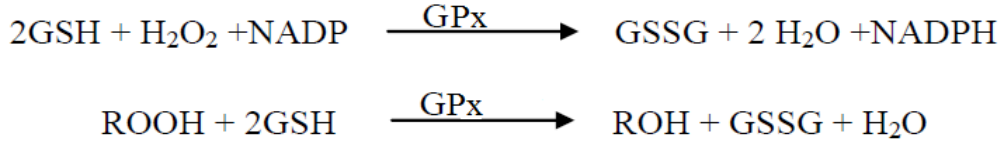
Aktif bölgesinde 4 hem grubu ile ferriprotoporfirin halkası bulunan 240 kDa ağırlığında olan katalaz hemoprotein ailesinden tetramerik yapıda bir antioksidan enzimdir. Ayrıca her alt birimde NADPH içermekte, bu da enzimin kararlılığında rol oynamaktadır. Aynı zamanda redoks tepkimelerinde de önemli rol oynar. Katalaz, tüm oksijenli solunum yapan sitokrom sistemi hücrelerinde bulunmaktadır. Peroksizomlar başta olmak üzere sitozolde ve endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. Böbrek, miyokard, karaciğer, eritrositler ve çizgili kaslarda etkinliği yüksektir. Görevi, hidrojen peroksidi su ve oksijene kadar parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine ilave olarak; bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi hem elektron verici elektron alıcısı olarak kullanabilir (196).



3.16.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Hücrenin sitoplazmasında ve mitokondrisinde bulunan GPx oksidatif hasarın oluşmasını engelleyen enzimlerin biridir. GPx, tetramerik yapıda olup aktif bölgelerinde 4 adet selenyum atomu içerir. Hücrenin sitoplazmasında bulunup

H₂O₂'nin sebep olduğu oksidatif hasara karşı hücreleri korumaktadır. Böylelikle H₂O₂'den OH radikalının oluşmasını engeller. GPx' ın fagositik hücrelerde de etkin görevleri almaktadır. Diğer antioksidanlardan SOD ve CAT ile beraber GPx, solunum patlaması esnasında oluşan serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin bu patlamadan etkilenmesini ve zarar görmesini önler (197).



GPx, glutatyonu (GSH) elektron kaynağı olarak kullanarak H₂O₂'yi ve organik hidroperoksitleri uzaklaştırılmasında görev alan önemli bir enzimdir. İnsan vücudunda hemoglobinlerin meydana getirdiği oksidatif yıkımlarına karşın eritrosit membranlarını korur. GPx, eritrositlerde de oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (198).

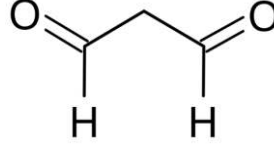
3.17. Polikistik Over Sendromu ve Oksidan Parametre

3.17.1. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit, CH₂(CHO)₂ nominal formülüne sahip organik bir bileşiktir. Malondialdehit renksiz bir sıvı olup, bir enol olarak oluşan reaktif bir bileşiktir. Oksidatif stres için bir markör olan MDA doğal olarak oluşmaktadır (Şekil 11). Birçok inflamatuvar oluşumda hücre metabolizması ile oluşan serbest radikallerin sayısında artış olur. Bu nedenle vücuttaki antioksidan savunma sistemleri yetersiz kalır ve hücre membranındaki yağ asitleri serbest radikaller ile reaksiyona girerek peroksidasyona uğrarlar. Peroksidasyona uğrayarak poliansatüre yağ asitlerini oluşturan reaktiflerden biri olan üç karbonlu bir ketoaldehit malondialdehiddir (199).

Organizmada, serbest radikallerin sebep olduğu ve membrandaki doymamış

yağ asidi zincirinden bir hidrojen koparılmasıyla lipid peroksidasyonu başlayarak bu ortam içerisinde MDA miktarının artmasına sebep olur. MDA karsinojenik, genotoksik ve mutajenik özelliktedir (199).



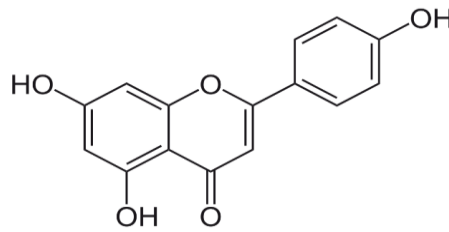
Şekil 12. MDA kimyasal görünümü

Vücuttaki lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde bu peroksidasyon reaksiyonunun son ürünü olan MDA düzeyi kullanılır (200). Kan plazmasında kolay bir şekilde tayin edilebildiği gibi idrar gibi numunelerde de tespit edilebilmektedir (199).

3.18.Kullanılan Tedavi Ajanları

3.18.1. Apigenin (AGN)

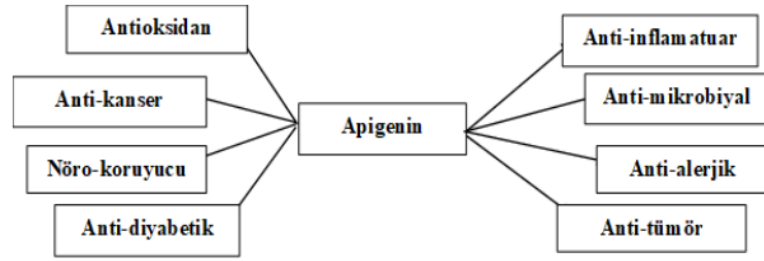
Apigenin, kimyasal olarak 4, 5, 7-trihidroksiflavon moleküler formülü ise $C_{15}H_{10}O_5$ 'dir (Şekil 12). Birkaç glikozitin aglikonu olan flavon sınıfına ait doğal bir ürün olan apigeninin moleküler ağırlığı 270,24 g/mol 'dur (201).



Şekil 13. Apigenin'in kimyasal yapısı

Apigenin birçok sebze ve meyvede bulunur. Maydanoz, kereviz ve papatya çayı en yaygın bulunan bitkisel kaynaklardır. Apigenin, aynı zamanda greyfurt, portakal, bitki türevli içecekler gibi yaygın meyvelerde ve soğan, çay, mısır, pirinç, buğday filizi gibi sebzelerde ve bazı baharatlarda bol miktarlarda bulunmaktadır.

Apigenin, birçok hastalığa karşı terapötik özellik göstermektedir. Bunlar, antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-tümör, anti-alerjik, nöro-koruyucu, anti-mikrobiyal olmak üzere birçok biyolojik faydası bilinmektedir. Apigenin'in kanser önleyici etkisi anti-inflamatuvar ve antioksidan aktivitelerinden kaynaklanır (Şekil 13). Aynı zamanda apoptozda baskılayarak kanser oluşumunun önlenmesinde de etkilidir. Apigenin, doğal fitoöstrojenik ve toksik olmayan bir flavon sınıfına ait doğal bir üründür (202,203).



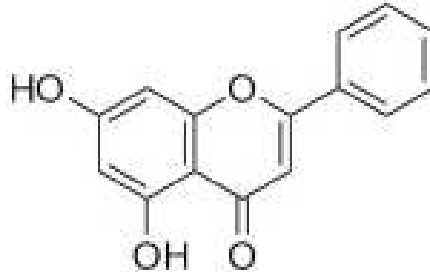
Şekil 14. Apigenin'in Terapötik Etkisi

PCOS, yüksek seviyelerde inflamatuvar sitokinler ve yumurtalıkta oluşan oksidatif stres indeksleri olan kronik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Apigenin anti-inflamatuvar ve antioksidan özelliği sayesinde LH/FSH, testosteron ve östrojen oranında azalma, FSH düzeylerinde artış ve inflamatuvar sitokinler de azalmaya neden olmaktadır (204).

Apigenin, serum progesteron ve estradiol hormonlarının yaklaşık olarak normal değerlere dönmesine, yumurtalık kistlerinin sayısında azalmaya ve korpus luteumda artışa neden olduğunda, yumurtlama sürecinin ve normal büyümenin gerçekleşmesini sağlamaktadır. Bu nedenle apigenin, PCOS'un bazı belirtilerini azaltmada doğal bir ürün olarak kullanılabilir (205).

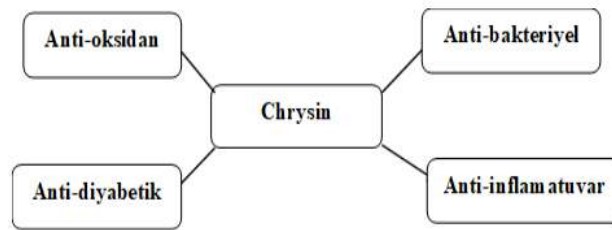
3.18.2. Chrysin (CH)

Chrysin, kimyasal olarak 5,7-dihidroksiflavon moleküler formülü ise $C_{15}H_{10}O_4$ 'dür (Şekil 14). Chrysin, en çok tükettiğimiz besinlerden olan maydanoz, kekik, dolma biber, kereviz, bal ve propoliste bulunmaktadır.



Şekil 15. Chrysin'in kimyasal yapısı

Bu doğal ajanın antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-diyabetik, anti-bakteriyel ve anti-tümör özellikler sergilediği bilinmektedir. Chrysin'den en çok etkilenen mekanizmalar oksidatif stres, inflamatuvar yanıtlar, otofaji ve apoptozdur (Şekil 15). Chrysin meme, mesane, erkek ve dişi üreme sistemleri, cilt, göz, beyin, kan kanserlerini iyileştirici yönde etkisi vardır (206).



Şekil 16. Chrysin'in terapötik etkisi

Propolis ve bal gibi gıdalarda bulunan ve doğal ajan olan Chrysin östrojen üretimini azaltmaktadır. Chrysin, FSH seviyesini yükseltmekte böylece foliküler olgunlaşmayı uyarmaktadır. Aynı zamanda Chrysin overlerin normal morfolojisini

korumaktadır. Chrysin reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu baskılar ve böylece çeşitli organlarda antioksidan savunmalarını düzenleyerek dokulardaki ROS temizleyicilerinin oluşumunu teşvik ederek antioksidan etkilerini düzenlemekte ve SOD, CAT, GPx aktivitelerini azaltmaktadır (207).

Çalışmanın amacı; DHEA ile PCOS oluşturulan sıçanlarda Apigenin ve Chrysin'in potansiyel tedavi edici etkilerini araştırmak, PCOS patofizyolojisindeki hormonal, inflamatuvar ve oksidatif stres etkilerini ortaya koymaktadır. Bu amaçla, çalışma kapsamında DHEA ile PCOS oluşturulan Wistar Albino dişi sıçanlarda tedavi ajanlarının tek tek ya da birlikte uygulanması ile hormonal (FSH, LH, PROG ve LH/FSH), inflamatuvar ve oksidatif stres yollarında tedavi edici etkisinin olup olmadığı biyokimyasal olarak araştırmak hedeflenmiştir.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1.Gereç

4.1.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Çalışmada; 21 günlük toplam 48 adet yaklaşık 100-150 gram ağırlığında *Wistar-Albino* ırkı dişi sıçan kullanıldı. Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan araştırma için etik kurul izni (Protokol No:2020/05 sayılı karar) alınarak araştırmaya başlandı. Deney hayvanları; Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden (FÜDAM) temin edilmiş olup hayvanlar optimal şartlarda sabit sıcaklık ($21\pm1^{\circ}\text{C}$) ve nem altında ($\%60\pm5$), aydınlık/karanlık (12/12 saat) sikluslarının olduğu otomatik olarak klimatize edilen odalarda özel kafeslerde korunarak standart yem ile beslendi ve musluk suyu *ad-libitum* sağlandı (Tablo 4). Hayvanların günlük olarak altları temizlenerek bakımları yapıldı.

Tablo 4. Standart Yem Bileşenleri

Yem Bileşeni	Yüzdesi
Su (en çok)	%12
Ham protein (en az)	%24
Ham selüloz (en çok)	%7
Ham kül (en çok)	%8
HCl’de çözünmeyen kül (en çok)	%2
NaCl (en çok)	%1
Mineral Karması*	%1,25
Vitamin Karması**	%1,25
Metabolik Enerji	2650 kcal/kg

*Mineral Karması: Kalsiyum (%1,0-2,8), Fosfor (%9), Sodyum (%0,5-0,7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

**Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit D₃ (1000 IU/kg), Vit E (60 mg/kg, Vit B₂ (4mg/kg)

4.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler, üretici firmaları ve ürün kodları Tablo 5’te gösterilmiştir.

Tablo 5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde	Üretici Firma ve Ürün Kodu
Dehidroepiandrosteron (powder)	Chem-Impex Int’l Inc. (Cat No: 21923)
Rat FSH ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201110183)
Rat LH ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201110180)
Rat Progesteron ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201110742)
Rat KNG1 ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201116657)
Rat IL-18 ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201110118)
Rat IL-1 β ELISA Kit	SinoGeneClon Biotech (Cat No: SG-20260)
Rat IL-13 ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201110113)
Rat IFN- γ ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201110104)
Rat Epregeulin ELISA Kit	SinoGeneClon Biotech (Cat No: SG-22401)
Rat İnhibin ELISA Kit	SinoGeneClon Biotech (Cat No: SG-20754)
Rat IGFBP3 ELISA Kit	Sunred Biological Tech. Company (Cat No: DZE201110714)
Rat İnsülin ELISA Kit	AndyGene Biotechnology Co., Ltd., (Cat No: AD1691Ra)
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Merck KGaA (K47795943 623)
Etanol	Merck KGaA (Cas No: 64-17-5)
Chrysin	CAYMAN CHEMICAL (Cat No:17402)
Apigenin (%97)	BIOSYNTH Carbosynth (FA160991802)
Mısır yağı	

4.1.3.Kullanılan Gereçler

Çalışmada kullanılan cihazlar, laboratuvar malzemeleri ve üretici firmaları Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. Kullanılan cihazlar ve laboratuvar malzemeleri

Kullanılan Cihazlar	Üretici Firma
Soğutmalı Santrifüj Cihazı	Heraeus D-37520, Germany
Derin dondurucu -80°C	Hettich FREEZER HS4486, Germany
pH metre	Portugal pH 211 microprocessor pH meter.
Hassas terazi	SARTORIUS, max: 110g, Germany
Etüv	Nüve EN400, Türkiye
Benmari	D-3162 Üelze- hAnigsen/W, Germany
Homojenizatör	Ultra-Turrax, T25, Germany
Distile su cihazı	PV-PP(AQUA) water system, Italy
Vorteks	VELP SCIENTIFICA, F20220176, Europe
ELİSA Cihazı	Biotek ELX 800
Magnetik Karıştırıcı	Snijders hotplate magnetic stirrer 34532
UV/ VisibleSpektrofotometre	T60 UV-Visiblespectrophotometer
Otomatik yıkayıcı	Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA)

4.1.4.Kullanılan Kimyasalların Hazırlanışı

Hastalık ajanı olan DHEA 6mg/100g olacak şekilde 0,02 ml %95 etanol içerisinde çözdürüldü ve 0,18 ml mısır yağı ile karıştırıldı. Tedavi ajanlarından AGN ve CH, 50 mg/kg dozajında 0,5 mL DMSO içerisinde çözüldürülerek kullanıma hazır hale getirildi. Tedavi ajanları uygulama yapılan günlerde taze hazırlanıp günlük olarak uygulanmıştır.

4.1.5. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Çalışma gruplarını oluşturan 21 günlük 48 adet Wistar Albino türü dişi sıçan öncelikle her bir grupta en az 8 sıçan olacak (deney protokolü nedeni ile

oluşabilecek sıçan kayıplarını önlemek ve istatistiksel değerlendirmelerin sağlıklı bir şekilde yapılmasını sağlamak amacı ile) şekilde 5 farklı gruba ayrıldı. Çalışmanın başlangıcında, çalışma süresi boyunca haftada bir kez ve çalışma sonunda sakrifiye edilmeden önce tüm gruplardaki hayvanların vücut ağırlıkları ölçüldü.

SHAM Grubu: 0,02 mL %95'lik etanol, 0,18 mL mısır yağı (toplam 0,2 mL) 28 gün boyunca subkutan olarak uygulandı, ardından 0,5 mL DMSO haftada 2 kez bir ay boyunca oral gavaj yoluyla verildi.

PCOS Grubu: 28 gün boyunca DHEA (6mg/100g vücut ağırlığı dozunda 0,02 ml %95 etanol içerisinde çözülerek ve 0,18 ml mısır yağı ile karıştırıldı) subkutan olarak uygulandı, ardından 0,5 mL DMSO haftada 2 kez bir ay boyunca oral gavaj yoluyla uygulandı.

PCOS+AGN Grubu: 28 gün boyunca DHEA (6mg/100g vücut ağırlığı dozunda 0,02 ml %95 etanol içerisinde çözülerek ve 0,18 ml mısır yağı ile karıştırıldı) subkutan olarak uygulandı. Daha sonra 1 ay boyunca haftada 2 kez (Salı ve Cuma günleri) 50 mg/kg dozajında AGN, 0,5 ml DMSO içerisinde çözdürüldü oral gavaj yoluyla uygulandı.

PCOS+CH Grubu: 28 gün boyunca DHEA (6mg/100g vücut ağırlığı dozda 0,02 ml %95 etanol içerisinde çözülerek ve 0,18 ml mısır yağı ile karıştırıldı) subkutan olarak uygulandı. Daha sonra 1 ay boyunca haftada 2 kez (Salı ve Cuma günleri) 50 mg/kg dozajında CH, 0,5 ml DMSO içerisinde çözdürüldü oral gavaj yoluyla uygulandı.

PCOS+ KOMBİN Grubu: 28 gün boyunca DHEA (6mg/100g vücut ağırlığı dozda 0,02ml %95 etanol içerisinde çözülerek ve 0,18 ml mısır yağı ile karıştırıldı)

subkutan olarak uygulandı. Daha sonra 1 ay boyunca haftada 2 kez (Salı ve Cuma günleri) 50 mg/kg dozajında AGN ile 50 mg/kg dozajında CH 0,5 ml DMSO içerisinde çözdürüldü ve oral gavaj yoluyla uygulandı.

4.1.6. Kan Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Saklanması

Deney periyodu sonunda sıçanlar ketamin-ksilazin anesteziyle, sterilizasyon işlemi yapılmış aletlerle sakrifiye edildi, kan ve doku örnekleri alındı. Çalışmadaki biyokimyasal analizlerin tayini için K3-Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (K3-EDTA) içeren tüplere alınan kan örnekleri 5 dk 4000 rpm'de santrifüj edilerek plazmalarına ayrıldı. Çalışılacak plazma örnekleri, eppendorf tüplere porsiyonlanarak analizler yapılınca kadar -80°C'de muhafaza edildi. Plazma ve doku örneklerinde; FSH, LH, PROG, KNG1, IL-18, IL-1 β , IL-13, IFN- γ , EREG, İNH, IGFBP3 düzeyleri Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) uygun olan ticari kitlerle prosedürüne uygun olarak ölçüldü. Doku ve plazma SOD, CAT, GPx aktiviteleri ve MDA düzeyleri manuel spektrofotometrik yöntemlerle tayin edildi.

4.1.7. Doku Örneklerinin Alınması, Hazırlanması ve Homojenizasyonu

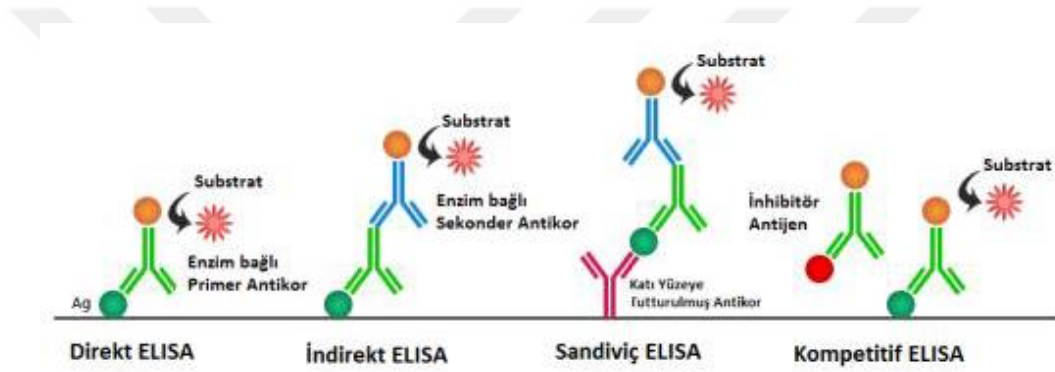
Over dokusu eksize edilerek çıkartıldıktan sonra bir kısmı histopatolojik incelemeler için ayrılırken kalan diğer kısmı da %0,9'luk soğuk (+4°C) sodyum klorür (NaCl) ile yıkama işlemi yapıldı ve kurutma kağıdıyla kurutulan dokular daha sonra homojenizatörle 0,01M'lık PBS (1/10) çözeltisi içinde, 3 dakika 16000 rpm'de uygun şartlarda homojenizasyon yapıldı. Homojenat 5000xg'de 1 saat (+4°C'de) santrifüj yapılarak süpernatantları ayrıldı, eppendorf tüplere porsiyonlanarak analizi yapılınca kadar -80°C'de saklandı.

4.2.Yöntemler

4.2.1. Biyokimyasal Yöntemler

4.2.1.1. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Enzime bağlı immünosorbent ölçüm (ELISA) metodu biyolojik numunelerdeki antijen, antikor ve proteinleri ölçmek için kullanılan immünokimyasal bir ölçüm tekniğidir. Bu yöntem ile özgül antijen kullanılarak antikor miktarı, özgül antikor kullanılarak da antijen miktarı tayin edilebilir. ELISA türleri Şekil 16’da şematize edilmiştir.



Şekil 17. ELISA çeşitleri

ELISA’nın temel bileşenlerini şu şekilde sıralayabiliriz:

a. Katı faz (matris): Genellikle 48 ya da 96 kuyucuktan oluşan mikropalaklardır.

b. Antikor: IgG parçalarıdır.

c. Enzim ve substratlar: En sık kullanılan konjugat işaretleyicileri horseradish peroksidaz (HRP) ve alkalen fosfat (AP) enzimleridir. HRP aktivitesinin kolorimetrik tespiti için ise tetramethylbenzidine (TMB), AP aktivitesinin kolorimetrik tespiti için 5-bromo-4-chloro-3-fosfat indolyl/Nitro mavi tetrazolium (BCIP/NBT) kullanılır.

d. Yıkama: Ortamda antikor-antijen kompleksi dışında oluşan maddelerin

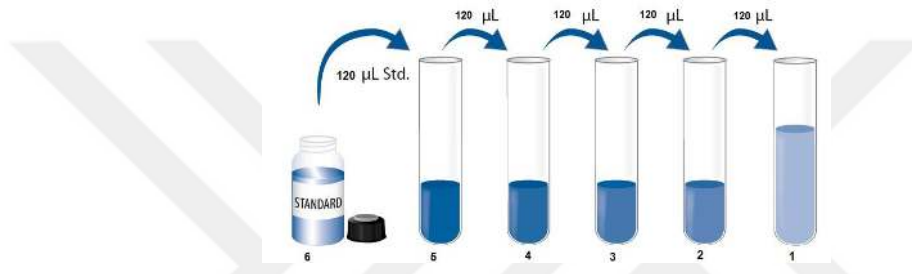
uzaklaştırılması için fosfatlı tampon solüsyonu (PBS) ile yıkama işlemi yapılır.

e. Durdurma: Bu aşamada devam eden reaksiyonu sonlandırmak için asidik veya bazik çözeltiler (H_2SO_4 , HCl , $NaOH$) kullanılır.

Genel Test Prosedürü

1.Standart Çözeltilerin Hazırlanması

Üretici firma tarafından kullanıma hazır olarak gönderilen stok standart çözeltisi seri dilüsyona tabi tutularak standartlar hazırlandı (Şekil 17).

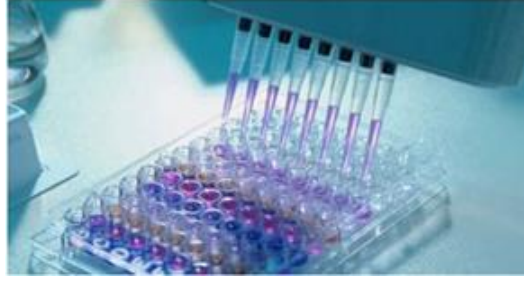


No.5	Standart	120µl Orjinal Standart + 120µl Standart dilüent
No.4	Standart	120µl Standart No.5 + 120µl Standart dilüent
No.3	Standart	120µl Standart No.4 + 120µl Standart dilüent
No.2	Standart	120µl Standart No.3 + 120µl Standart dilüent
No.1	Standart	120µl Standart No.2 + 120µl Standart dilüent

Şekil 18. Standart Dilüsyonu

2.Örneklerin ekimi

Kör kuyucuğu, sadece Kromojen A ve B çözeltileri ile stop solüsyonu eklendi. Standart kuyucuklarına 50µl standart çözeltisi ve 50 µl kit kutu içeriğinde kullanıma hazır halde gönderilmiş Streptavidin-HRP çözeltisi eklendi. Örnek kuyucuklarına ise her bir plazma örneğinden 40µl eklendi, ardından her bir kite ait kullanıma hazır antikorlardan 10µl ve 50µl Streptavidin- HRP çözeltisinden eklendi (Şekil 18). Ardından platelerin üzeri kapatıldı ve 60 dakika boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı.



Şekil 19. Plate örnek ekimi

3. Yıkama çözeltisinin hazırlanması: (30X) Konsantrasyonda kutu içinde bulunan yıkama çözeltisi kullanıma hazır hale getirilmek için distile suyla seyreltildi.

4. Yıkama İşlemi: 60 dakikalık inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra yıkama işlemi yapılmak üzere Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) marka ELISA yıkayıcısına alındı ve plate üzerinde bulunan her bir kuyucuğa 350 µl yıkama solüsyonundan eklenerek 5 kez yıkama işlemi yapıldı.

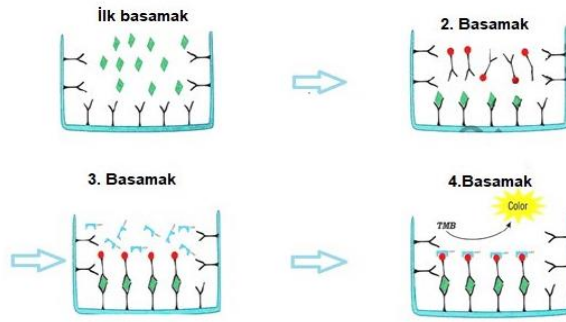
5. Renk gelişimi: Plate üzerinde bulunan her kuyucuğa önce 50µl kromojen A çözeltisi ardından 50µl kromojen B çözeltisi eklendi. Karıştırmak için hafifçe çalkalandı. Işıktan korumak şartıyla renk gelişimi için 37 °C de 10 dakika inkübe edildi.

6. Reaksiyonun durdurulması: Reaksiyonu durdurmak için plate üzerinde bulunan her kuyucuğa 50µl stop solüsyonu eklendi ve mavi rengin anında sarıya döndüğü gözlemlendi (Şekil 19).



Şekil 20. Reaksiyonun durdurulması ile renk dönüşümü

7. Absorbans ve konsantrasyonların tayini: Stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde plate de bulunan standartların ve örneklerin 450 nm dalga boyundaki absorbanları ve bu absorbansa karşılık gelen konsantrasyonları EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) ELISA plate okuyucusunda okutularak tayin edildi (Şekil 20).



Şekil 21. ELISA işleminin şematik diyagramı

4.2.1.1.1. Plazma ve Süpernatant FSH Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant FSH düzeyleri, sıçan FSH ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-0183, Shangai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar IU/L olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%9, inter-assay CV değeri <%11, ölçüm aralığı 0,25 IU/L-60 IU/L ve sensitivitesi 0,202 IU/L idi.

4.2.1.1.2. Plazma ve Süpernatant LH Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant LH düzeyleri, sıçan LH ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-0180, Shangai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek

Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar mIU/ml olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%9, inter-assay CV değeri <%11, ölçüm aralığı 0,3 mIU/ml-60 mIU/ml ve sensitivitesi 0,206 mIU/ml idi.

4.2.1.1.3. Plazma ve Süpernatant PROG Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant PROG düzeyleri, sıçan PROG ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-0742, Shangai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar ng/ml olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%9, inter-assay CV değeri <%11, ölçüm aralığı 2 ng/ml-300 ng/ml ve sensitivitesi 1,115 ng/ml idi.

4.2.1.1.4. Plazma ve Süpernatant KNG1 Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant KNG1 düzeyleri, sıçan KNG1 ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-6657, Shangai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar ng/ml olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%10, inter-assay CV değeri <%12, ölçüm aralığı 5 ng/ml-1200 ng/ml ve sensitivitesi 3,965 ng/ml idi.

4.2.1.1.5. Plazma ve Süpernatant IL-18 Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant IL-18 düzeyleri, sıçan IL-18 ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-0118, Shanghai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar ng/ml olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%8, inter-assay CV değeri <%10, ölçüm aralığı 0,5 ng/L- 150 ng/L ve sensitivitesi 0,472 ng/L idi.

4.2.1.1.6. Plazma ve Süpernatant IL-1 β Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant IL-1 β düzeyleri, sıçan IL-1 β ELISA kiti (SinoGeneClon Biotech, Katalog no: SG-20260, Hangzhou) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar ng/L olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%8, inter-assay CV değeri <%10, ölçüm aralığı 0,8 ng/L- 40 ng/L ve sensitivitesi 0,3 ng/L idi.

4.2.1.1.7. Plazma ve Süpernatant IL-13 Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant IL-13 düzeyleri, sıçan IL-13 ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-0113, Shanghai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik

olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar ng/L olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%8, inter-assay CV değeri <%11, ölçüm aralığı 2 ng/L-300 ng/L ve sensitivitesi 1,131 ng/L idi.

4.2.1.1.8. Plazma ve Süpernatant IFN- γ Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant IFN- γ düzeyleri, sıçan IFN- γ ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-0104, Shanghai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar ng/L olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%9, inter-assay değeri CV <%11, ölçüm aralığı 2 ng/L-300 ng/L ve sensitivitesi 1,25 ng/L idi.

4.2.1.1.9. Plazma ve Süpernatant EREG Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant EREG düzeyleri, sıçan EREG ELISA kiti (SinoGeneClon Biotech, Katalog no: SG-22401, Hangzhou) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar pg/mL olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%8, inter-assay CV değeri <%10, ölçüm aralığı 37,5 pg/ml-1000 pg/ml ve sensitivitesi 7,5 pg/ml idi.

4.2.1.1.10. Plazma ve Süpernatant INH Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant INH düzeyleri, sıçan INH ELISA kiti (SinoGeneClon Biotech, Katalog no: 20754, Hangzhou) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar pg/mL olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%8, inter-assay CV değeri <%10, ölçüm aralığı 37,5 pg/ml-1000 pg/ml ve sensitivitesi 7,3 pg/ml idi.

4.2.1.1.11. Plazma ve Süpernatant IGFBP-3 Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant IGFBP-3 düzeyleri, sıçan IGFBP-3 ELISA kiti (Sunred Biological Tech. Company, Katalog no: 201-11-0714, Shanghai, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak yıkandı. Sonuçlar ng/L olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%10, inter-assay CV değeri <%12, ölçüm aralığı 0,3 ng/L-72 ng/L ve sensitivitesi 0,269 ng/L idi.

4.2.1.1.12. Plazma ve Süpernatant İnsülin Düzeylerinin Belirlenmesi

Plazma ve Süpernatant İnsülin düzeyleri, sıçan İnsülin ELISA kiti (AndyGene Biotechnology Co., Ltd., katalog no; AD1691Ra) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plateler Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) otomatik yıkayıcı kullanılarak

yıkandı. Sonuçlar ng/L olarak kaydedildi. Kitin intra-assay CV değeri <%8, inter-assay CV değeri <%10, ölçüm aralığı 10 ng/L-200 ng/L ve sensitivitesi 1,0 ng/L idi.

4.2.2. Doku Protein Düzeylerinin Tayini

Süpernatantlardaki protein düzeyleri Lowry metoduna göre (208), tayin edildi. Lowry metodunun temel prensibi; alkali ortamda proteinlerin Folin-Fenol ayıracı ile mavi bir renk oluşturmaya dayanmaktadır.

Ayırıcılar:

1. Alkali Bakır Ayıracı: 10 gr sodyum bikarbonat (Na_2CO_3), 0,1 gr Potasyum tartarat ($\text{C}_4\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_6$) ve 0,05 gr Bakır sülfat (CuSO_4) 0,5 N Sodyum hidroksit (NaOH) içinde çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı (Bu çözelti oda ısısında 30 gün dayanıklılığı korumaktadır).

2. Fenol Ayıracı: 3,75 ml 2.0 N Folin-Ciocalteu-Fenol ayıracı 63,75 ml distile suya ilave edilir.

İşlem:

	KÖR	STANDART	ÖRNEK
Alkali bakır ayıracı (ml)	0,25	0,25	0,25
BSA standartı (ml)	-	0,25	-
Süpernatant (ml)	-	-	0,25
Distile su (ml)	0,25	-	-
Tüpler iyice karıştırılır ve 10 dk sarsmadan oda ısısında inkübe edildi.			
Fenol ayıracı(ml)	1,0	1,0	1,0

Tüpler karıştırıldıktan sonra 55°C'de 5 dk bekletildi. İnkübasyon sonrası vakit kaybetmeden soğutma işlemi yapıldı. Soğutan standart ve örnek tüplerinin absorbansları 650 nm'de köre karşı okutuldu ve kaydedildi. Kaydedilen sonuçlar

aşağıdaki işlemle örneklerin toplam protein düzeyleri tayin edildi. Sonuçlar 100'e bölünerek g/mL olarak hesaplandı.

Hesaplama:

$$\text{Toplam Protein Düzeyi (g protein/mL)} = \frac{\text{Örnek abs. x Standart konsantrasyonu}}{\text{Standart abs. x 100}}$$

4.2.3. Doku Numunelerinde Oksidan-Antioksidan Parametrelerin Belirlenmesi

4.2.3.1. Doku MDA Düzeyinin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA'nın over dokusundaki düzeyini saptamak için Ohkawa ve ark. (209), tarafından ortaya konulan yöntem kullanıldı ve spektrofotometrik olarak tayin edildi. Bu yöntemin amacı; aerobik şartlar altında, asidik ortamda (pH: 3,5) ve belirli bir sıcaklığın etkisiyle lipid peroksidasyonu sonucu numunelerden ortaya çıkan MDA'nın, Tiyoarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüm esasına dayanmaktadır. Standart çalışma eğrisi ve numunelerin konsantrasyonları aşağıdaki formüle göre hesaplandı ve sonuçlar protein konsantrasyonlarına bölünerek nmol/g protein cinsinden verildi.

Hesaplama:

$$\text{MDA (nmol/g protein)} = \frac{\text{Örnek O.D. x Std. Konsantrasyonu}}{\text{Std. O. D. x Toplam protein konsantrasyonu (g/mL)}}$$

4.2.3.2. Doku SOD Aktivitesinin Belirlenmesi

Over dokusundaki SOD aktivitesinin tayin edilmesinde; Sun ve arkadaşları tarafından (210), tarif edilen yöntem kullanıldı ve ölçüm spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. Yöntem olarak ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan O_2^- (süperoksit radikali)'nin, nitroblue tetrazolium (NBT)'u indirgeyerek kırmızı renkli formazon kromojeni oluşturma esasına dayanmaktadır. Ortamdaki kırmızı rengin 505 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okutulmasıyla SOD aktivitesi ölçülür. Oluşan kırmızı rengin şiddeti ile SOD aktivitesi ters orantılıdır.

Hesaplama:

$$\text{SOD aktivitesi (U/g protein)} = \frac{(\Delta A_{\text{kör}}) - (\Delta A_{\text{örnek}}) \times 2 \times \text{D.F.}}{(\Delta A_{\text{kör}}) \times \text{Total Protein (g/mL)}}$$

$\Delta A_{\text{kör}}$: Körün 180.sn'deki okunan Absorbansı (A_2)'ndan, körün 0.sn'deki okunan Absorbans (A_1) farkının, geçen süre (dk cinsinden)'ye oranı ile elde edildi. $(A_2 - A_1) / 3\text{dk}$

$\Delta A_{\text{örnek}}$: Örneğin 180.sn'deki okunan Absorbansı (A_2)'ndan, örneğin 0.sn'deki okunan Absorbans (A_1) farkının, geçen süre (dk cinsinden)'ye oranı ile elde edildi. $(A_2 - A_1) / 3\text{dk}$

2: %50'sindeki inhibisyonu

D.F: Dilüsyon faktörünü göstermektedir

4.2.3.3. Doku CAT Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz, hidrojen peroksidin, su ve moleküler oksijen oluşturmak üzere dismutasyonunu katalizlemede görev alır. Çalışmada CAT aktivitesini tayin etmek için Aebi (211), tarafından ortaya konulmuş bir metot kullanıldı. Prensip olarak

H₂O₂ konsantrasyonunda birim zamandaki azalmanın 240 nm’de spektrofotometrik olarak izlenmesi esasına dayanmaktadır.

Hesaplama:

$$\text{CAT aktivitesi (k/g protein)} = \frac{2,3 \times \text{Log} (A_1/A_2) \times 10}{\Delta t \times \text{Toplam Protein m (g/mL)}}$$

A₁: 240 nm deki 0. sn’deki (ilk okunan) absorbans değeri

A₂: 240 nm deki 60. sn’deki (son okutulan) absorbans değeri

10: Dilüsyon Faktörü

Δt: Son absorbans ve ilk absorbans okunması arasında geçen süre (dk)

4.2.3.4. Doku GPx Aktivitesinin Belirlenmesi

Doku örneklerinde, GPx aktivite tayini Paglia ve Valentina (212) tarafından ortaya konulan spektrofotometrik yöntemle analiz edildi. Yöntemin amacı; ortamda bulunan hidrojen peroksidin, GPx glutatyonun oksidasyonunu katalizlenmesi yani redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) formuna yükseltgenmesini sağlamaktır. GSSG ise glutatyon redüktaz (GSH-Rx) ve NADPH yardımıyla tekrar GSH’ye indirgenir. NADPH’ın NADP⁺’ya yükseltgenmesi esnasındaki absorbans azalmasının 340 nm dalga boyunda okunması, ortamdaki GPx aktivitesini tayin etmeye dayanmaktadır.

Hesaplama:

$$\text{GPx aktivitesi} = \text{U/L (mikromol/min/L)} = \frac{(\Delta A/t) \times V_T \times 10^6}{E \times V_N \times \lambda} \times 10$$

$\Delta A/t$: 3 dk'daki absorbans farkı $[(A_{0,dk}-A_{3,dk})/3]$

V_T : Küvetin son hacmi (1,495 mL)

10^6 : Molü mikromole dönüştürme sabiti

E: NADP'nin ekstinksiyon katsayısı ($6,22 \times 10^3$)

V_N : Küvette bulunan numunenin hacmi (0,010 mL)

λ : Küvetin çapı (1 cm)

10: Seyreltme faktörü

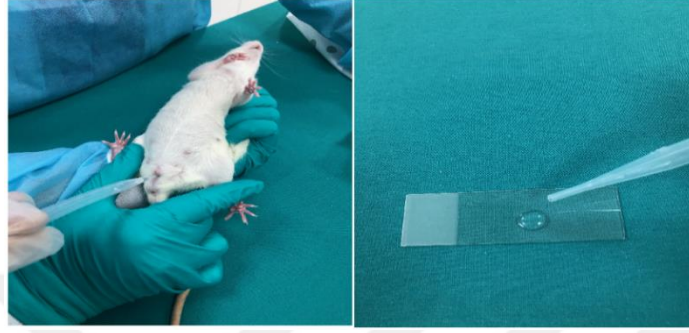
$$G Px \text{ aktivitesi (U/gr protein)} = \frac{U/L}{1000 \times \text{Total protein (g/mL)}}$$

4.2.4. Vajinal Smear Takibi

PCOS modelinin kontrolü için, deneyin 10. gününden 28. gününe kadar smear takibi yapıldı. Günlük olarak elde edilen vajinal smearlarda baskın hücre tipi mikroskopik analiz ile incelenerek belirlendi. Baskın hücre tipini mikroskopta belirlemek için tahmini 0,2 ml serum fizyolojik pastör pipetine çekildi, smear yapılacak olan hayvanın sırt kısmından sıkıca tutarak karnı yukarı bakacak şekilde pastör pipet ucu vajinaya yerleştirilerek serum fizyolojik içeri püskürtüldü. Pipet ucunu dışarı çıkarılmadan vajinaya püskürtülen sıvı tekrar pipetin içine çekildi ve daha önceden hazırlanmış olan temiz lamın üzerine alındı. Alınan sıvı boyama yapılmadan, ışık mikroskopunda incelenerek epitel hücre, kornifiye hücre ve lökosit hücre varlığı ve oranına bağlı olarak siklus dönemleri tespit edildi. Herhangi bir boyama işlemi yapılmadan ışık mikroskopunda incelenerek östrus fazları kaydedildi.

Her gün yapılan vajinal smear takibinde diöstrus evresinde olan hayvanlar

cerrahi işlemler uygulanarak o hayvanlar için deney sonlandırıldı. Diöstrus evresinde olmayan hayvanların ise siklusları devam eden günlerde takip edilerek vajinal smearları değerlendirilmiş diöstrus evresinde olan hayvanlar için deney sonlandırıldı.



Şekil 22. Vajinal Smear Yöntemi

4.3. Histopatolojik Analizler

Dekapitasyonun ardından çıkarılan over dokuları hızlıca %10'luk formaldehit solüsyonu içerisine alındı. Yaklaşık 48 saatlik fiksasyon işleminin ardından akan musluk suyu altında yıkanıp rutin histolojik takip serilerinden (Tablo 7) geçirilen dokular parafine gömüldü (Sigma-Aldrich Paraplast Embedding Media, U.S.A). Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom aracılığıyla 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan preparatlara Hematoksilen- Eozin (H&E) boyaması uygulandı. Over folikül sayımı (primordiyal, primer, sekonder foliküller ve Graff folikülleri) Souza ve ark. (1986)'nın yöntemiyle değerlendirildi. Foliküllerin klasifikasyonu aşağıdaki şekilde yapıldı (213).

Primordial folikül: Oosit kısmen veya tamamen yassı granüloza hücreleriyle çevrilidir.

Primer folikül: Oosit yassı granüloza hücreleri arasında bir veya çok sıra kübik hücre ile çevrilidir.

Sekonder folikül: Oosit iki sıra granüloza hücre tabakası veya en az bir

tabaka granüloza hücresi ve ikinci tabakada en az bir granüloza hücresi içerir. Granüloza hücreleri arasında antral boşluklar oluşmaya başlamıştır.

Graff folikülü: Oosit ikiden fazla granüloza hücre tabakası ile çevrilidir ve antrum oluşmuştur.

Over kesitlerine yapılan H&E boyamasının değerlendirilmesinde ve fotoğraflanmasında Leica DM500 görüntüleme sistemi (DFC295; Leica, Wetzlar, Almanya) kullanıldı.

Tablo 7. Histolojik Doku Takip Basamakları

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1 saat
3	%96 Alkol	1 saat
4	%96 Alkol	1 saat
5	%100 Alkol	1 saat
6	%100 Alkol	1 saat
7	Ksilol	1 saat
8	Ksilol	1 saat
9	Sert Parafin (Etüv içerisinde)	Gece boyu
10	Gömme	

4.4. İstatistiksel Analizler

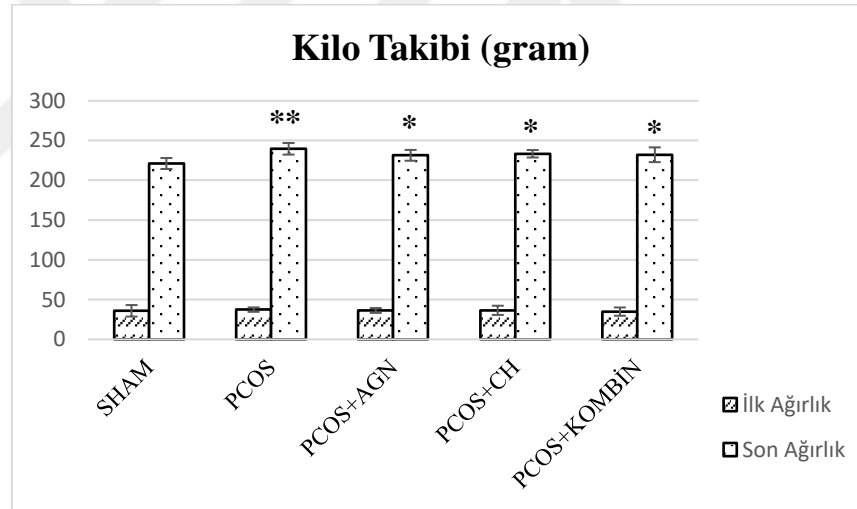
Bu tez çalışmasında istatistiksel değerlendirme; Fırat Üniversitesine lisanslı olan IBM SPSS Statistics 22 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Analiz aşamasında kullanılacak yöntemin belirlenebilmesi için veri setinde ilgilenilen değişkenin normal dağılımdan gelip gelmediğinin tespit edilmesi için Shapiro-Wilk testi uygulanmıştır. İkiden fazla grubun sürekli ölçümlerinin genel

karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Tek Yönlü Varyans Analizi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Bu karşılaştırmalarda anlamlı bulunan durumlar için grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanması durumunda grup içi varyansların homojen olup olmamasına göre Tukey testleri, grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanmaması durumunda ise Bonferroni düzeltmesi yapılmış Mann Whitney U testi uygulandı. Sürekli ölçümler ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum-maksimum) olarak ifade edildi. $p<0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Çalışma grubundaki sıçanların kilo takipleri ve büyüme oranları

Çalışma gruplarını oluşturan sıçanların ağırlıkları haftalık olarak deneyin başlangıcından sonlandırılmasına kadar düzenli bir şekilde tartıldı ve kaydedildi. Elde edilen verilere göre deney gruplarındaki sıçanların ilk tartım ağırlıkları birbirlerine yakındı ve aralarında istatistiksel olarak bir farklılık görülmedi ($p>0,05$). Deney sonunda sıçanların sakrifiye edilmeden önceki kiloları değerlendirildiğinde ise PCOS indüklemesi yapılmış gruplarda SHAM grubuna göre istatistiksel olarak bir artış görüldü ($p<0,001$; sadece PCOS oluşturulan grup için; $p<0,05$ tedavi protokolü uygulanan tüm gruplarda) (Şekil 22).



Şekil 23. Çalışma Gruplarının Kilo Takibi

* $p<0,05$; SHAM grubuna göre; ** $p<0,001$; SHAM grubuna göre
Deney hayvanlarının büyüme oranları aşağıdaki formül baz alınarak hesaplandı:

$$\text{Büyüme Oranı} = (\text{Son ağırlık} - \text{İlk ağırlık}) / \text{Toplam deney süresi}$$

Elde edilen bulgulara göre; PCOS indüklenen grupların büyüme oranları SHAM grubuna göre daha fazlaydı. Bununla birlikte büyüme oranı en fazla sadece PCOS oluşturulan grupta artış gösterdi ($p<0,001$ SHAM grubuna kıyasla).

PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN tedavinin uygulandığı gruplarında büyüme oranları SHAM grubuna istatistiksel olarak anlamlılık ifade etmekteydi ($p<0,05$; her iki grup için).

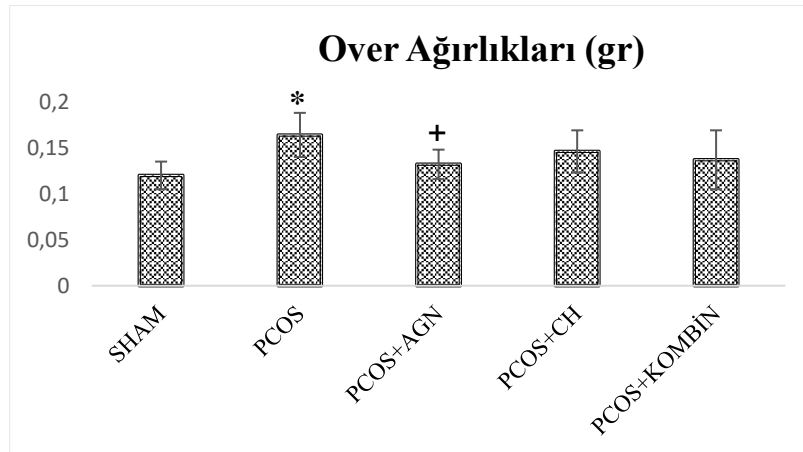
Tablo 8. Çalışma gruplarındaki büyüme oranları

	SHAM	PCOS	PCOS+AGN	PCOS+CH	PCOS+KOMBİN
Büyüme Oranı	3,19±0,13	3,48±0,11**	3,36±0,96	3,39±0,71*	3,40±0,22*

* $p<0,05$; SHAM grubuna göre; ** $p<0,001$; SHAM grubuna göre

5.2. Çalışma Gruplarının Over Doku Ağırlıkları

Çalışma gruplarının over ağırlıklarının ölçümünden elde edilen değerler incelendiğinde PCOS grubuna ait deneklerin ortalama over ağırlıklarının SHAM grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi, bu durum sadece PCOS oluşturulan grupta istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Ortalama over ağırlıkları PCOS oluşturulan gruplar arasında incelendiğinde ise, PCOS+AGN tedavisinin uygulandığı grupta sadece PCOS oluşturulan grubuna nazaran ortalama over ağırlığının istatistiksel olarak bir azalma olduğu gözlemlendi ($p<0,05$; PCOS grubuna kıyasla) (Şekil 23).



Şekil 24. Deneklerin ortalama over ağırlık değerleri

* $p<0,005$; SHAM grubuna göre; + $p<0,05$; PCOS grubuna göre

5.3. Tedavi Ajanların Seçilen ELISA Parametreleri Üzerine Etkisi

Apigenin ve Chrysin'in plazma ve süpernatant FSH, LH, LH/FSH, progesteron düzeylerine etkisini değerlendirdiğimiz bu bölümde elde edilen sonuçlar Tablo 9'da sunulmuştur.



Tablo 9. Plazma ve Süpernatant FSH, LH, FSH/LH ve Progesteron Düzey Değişimleri

Parametreler	SHAM	PCOS	PCOS+AGN	PCOS+CH	PCOS+KOMBİN
Plazma FSH (IU/L)	1,50±0,31	1,87±0,26	1,78±0,15	1,80±0,40	1,79±0,27
Plazma LH (mIU/ml)	1,72±0,48	2,67±0,34**	2,25±0,11*+	2,23±0,97*+	2,23±0,96*+
Plazma LH/FSH	1,12±0,17	1,21±0,13*	1,15±0,06	1,14±0,12	1,18±0,12
Plazma PROG (ng/ml)	4,86±0,88	2,71±0,47**	3,10±0,51**	2,97±0,76**	3,07±0,73**
Süpernatant FSH (mIU/mg protein)	31,75±2,55	39,54±5,79*	37,25±6,36	36,72±5,41	37,19±4,31
Süpernatant LH (mIU/mg protein)	34,30±3,03	45,91±8,30**	40,76±4,82	41,48±4,98	42,74±4,01*
Süpernatant LH/FSH	1,08±0,89	1,17±2,41	1,11±0,21	1,14±0,13	1,15±0,11
Süpernatant PROG (ng/mg protein)	112,81±15,24	79,87±16,25**	86,47±13,96**	82,48±10,27**	82,52±11,14**

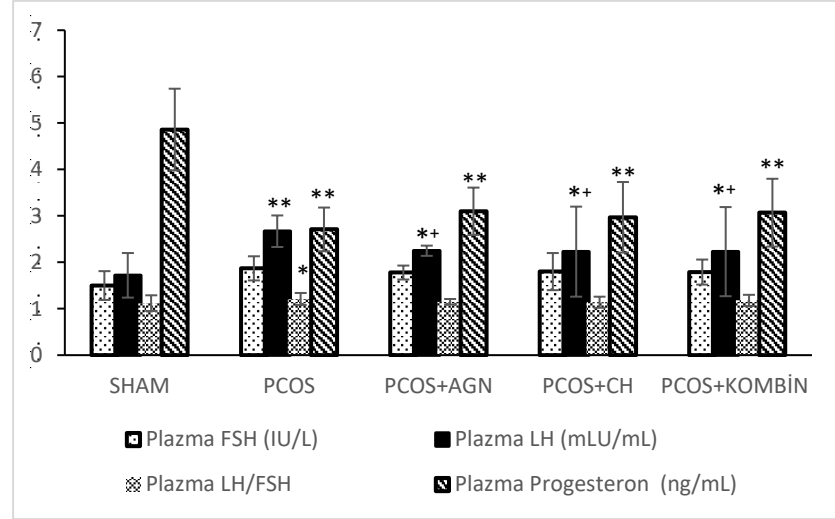
*p<0,05; SHAM grubuna kıyasla, **p<0,001 SHAM grubuna kıyasla; +p<0,05 PCOS grubuna kıyasla

Tüm çalışma gruplarında FSH, LH, LH/FSH ve PROG düzeyleri hem plazma hem de süpernatant örneklerinde değerlendirilmiştir. Plazma FSH düzeyleri PCOS indüklenen gruplarda SHAM grubuna yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla plazma FSH düzeylerinde istatistiksel olmayan bir azalma saptandı.

PCOS indüklenmiş tüm çalışma gruplarında plazma LH düzeylerinde istatistiksel olarak bir artış gözlemlendi, en fazla artış sadece PCOS grubu oluşturulmuş grupta saptandı ($p<0,001$; PCOS grubunda, $p<0,05$; tedavi ajanı uygulanan tüm gruplarda-SHAM grubuna kıyasla). Tedavi ajanı uygulanmış gruplarda plazma LH düzeylerinde bir azalma gözlemlendi ki bu azalış sadece PCOS+AGN tedavisi yapılan grupta ve PCOS+KOMBİN tedavinin uygulandığı grupta istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$; her iki tedavi uygulanan grup için).

Plazma LH/FSH oranı PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla yüksekti, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Tedavi uygulanan gruplardan PCOS+CH grubu PCOS grubuna kıyasla plazma LH/FSH oranında istatistiksel olmayan bir düşüş gözlemlendi ($p>0,05$).

Son olarak plazma PROG düzeylerinde PCOS indüklenmiş grupta ve tüm tedavi gruplarında; PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında istatistiksel olarak bir azalma gözlemlendi ($p<0,001$; tüm PCOS indüklenmiş gruplarda) (Şekil 24).



Şekil 25. Plazma FSH, LH, LH/FSH ve PROG değerleri

*p<0,05; SHAM grubuna kıyasla, **p<0,001; SHAM grubuna kıyasla, +p<0,05; PCOS grubuna kıyasla

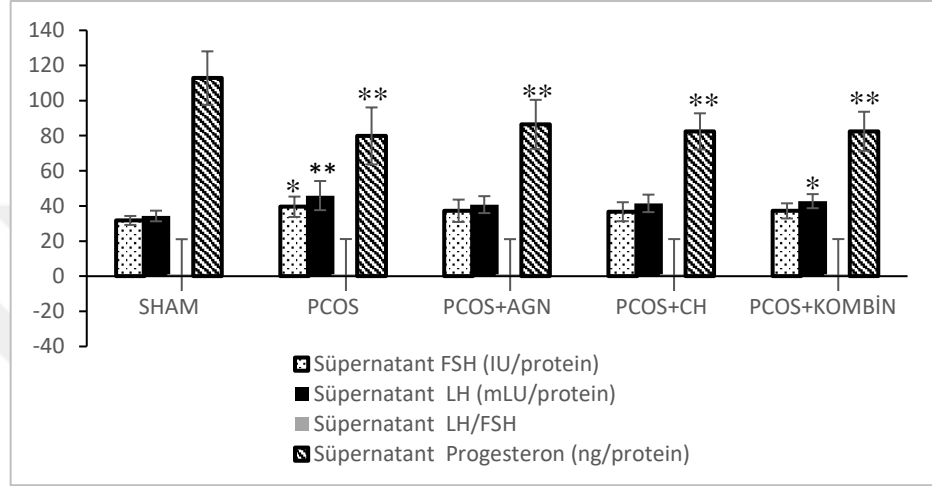
Süpernatant örneklerinde de plazma örneklerinde olduğu gibi FSH düzeyleri SHAM grubuna kıyasla yüksekti ve bu yükseliş PCOS grubunda istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05; SHAM grubuna kıyasla). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre süpernatant FSH düzeylerinde bir azalış kaydedildi ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05).

Süpernatant LH düzeyleri SHAM grubuna kıyasla PCOS ile indüklenen grupta istatistiksel olarak daha yüksek gözlemlendi (p<0,05), tedavi ajanı uygulanan gruplardan PCOS+KOMBİN grubunun PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir azalış gözlemlendi (p<0,05).

Süpernatant LH/FSH oranı PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubu ile kıyasla artış saptandı fakat bu artış matematiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). Tedavi uygulanan gruplardan PCOS+AGN grubu PCOS grubuna kıyasla süpernatant LH/FSH oranında istatistiksel olmayan bir azalma gözlemlendi (p>0,05).

Süpernatant progesteron düzeyleri tüm PCOS indüklenmiş gruplarda

istatistiksel olarak SHAM grubuna nazaran istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0,001$; tüm PCOS indüklenmiş gruplar için). Tedavi ajanı uygulanan gruplarda; PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında ise PCOS grubuna göre progesteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma söz konusuydu ($p>0,05$; tüm tedavi gruplarında PCOS grubuna kıyasla) (Şekil 25).



Şekil 26. Süpernatant FSH, LH, LH/FSH ve PROG değerleri

* $p<0,05$; SHAM grubuna kıyasla, ** $p<0,001$; SHAM grubuna kıyasla

5.4. Tedavi Ajanların Seçilen Diğer ELISA Parametreleri Üzerine Etkisi

Apigenin ve Chrysin'in plazma ve süpernatant KNG1, EREG, İnhibin β A, IGFBF-3 ve IFN- γ düzeylerine etkisini değerlendirdiğimiz bu bölümde elde edilen sonuçlar Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo 10. Plazma ve Süpernatant KNG1, EREG, İnhibin β A, IGFBF-3 ve IFN- γ Düzey Değişimleri

Parametreler	SHAM	PCOS	PCOS+AGN	PCOS+CH	PCOS+KOMBİN
Plazma KNG1 (ng/ml)	33,99 $\pm$ 2,16	26,51 $\pm$ 3,15**	30,11 $\pm$ 2,53* ⁺	28,48 $\pm$ 1,78**	29,03 $\pm$ 3,25*
Plazma EREG (pg/ml)	405,85 $\pm$ 25,59	278,40 $\pm$ 26,76**	297,61 $\pm$ 27,61**	286,40 $\pm$ 31,17**	286,74 $\pm$ 44,05**
Plazma İnhibin β A (pg/ml)	322,38 $\pm$ 11,79	295,07 $\pm$ 13,04**	304,95 $\pm$ 11,87*	299,83 $\pm$ 9,59*	301,86 $\pm$ 12,38*
Plazma IGFBP-3 (ng/L)	9,07 $\pm$ 2,66	17,16 $\pm$ 2,90**	12,17 $\pm$ 1,56 ⁺	15,20 $\pm$ 6,14*	13,40 $\pm$ 1,51
Plazma IFN- γ (ng/L)	13,96 $\pm$ 0,79	7,80 $\pm$ 0,97**	9,11 $\pm$ 1,28**	8,03 $\pm$ 0,96**	8,11 $\pm$ 0,97**
Süpernatant KNG1 (ng/mg protein)	586,40 $\pm$ 44,86	489,91 $\pm$ 28,45**	547,19 $\pm$ 40,27 ⁺	492,552 $\pm$ 37,60**	501,75 $\pm$ 34,15**
Süpernatant EREG (pg/mg protein)	3856,07 $\pm$ 171,69	3455,12 $\pm$ 237,94*	3761,40 $\pm$ 310,07	3672,06 $\pm$ 311,06	3723,86 $\pm$ 278,56
Süpernatant İnhibin β A (pg/mg protein)	7560,27 $\pm$ 335,70	6853,71 $\pm$ 174,28**	7054,68 $\pm$ 178,14**	6957,35 $\pm$ 110,95**	7012,19 $\pm$ 124,31**
Süpernatant IGFBP-3 (pg/mg protein)	88,19 $\pm$ 3,65	183,79 $\pm$ 9,10**	131,18 $\pm$ 8,33*** ⁺⁺	113,06 $\pm$ 7,22*** ⁺⁺	118,87 $\pm$ 4,66*** ⁺⁺
Süpernatant IFN- γ (pg/mg protein)	399,29 $\pm$ 43,73	325,13 $\pm$ 27,59**	391,81 $\pm$ 16,79 ⁺⁺	365,00 $\pm$ 15,86 ⁺	367,12 $\pm$ 22,96 ⁺

**p<0,001; SHAM grubuna göre, *p<0,05; SHAM grubuna göre, +p<0,05; PCOS grubuna göre, ++p<0,001; PCOS grubuna göre

Plazma KNG1 düzeyleri PCOS indüklenen gruplarda SHAM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha azalma görüldü ($p<0,001$; PCOS ve PCOS+CH grubu için; $p<0,05$ PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN grubu için). Tedavi gruplarında ise PCOS grubuna kıyasla sadece PCOS+AGN tedavi uygulanan grupta KNG1 düzeylerinde istatistiksel bir artış saptandı ($p<0,05$; PCOS grubuna kıyasla).

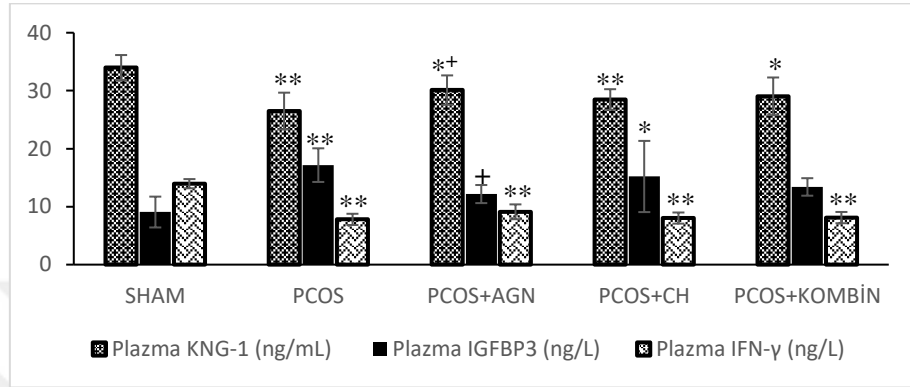
Plazma EREG düzeyleri PCOS indüklenen gruplarda SHAM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ($p<0,001$; tüm PCOS indüklenen gruplar için). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna nazaran EREG düzeylerinde bir artış görüldü fakat bu artış hiçbir tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$; tüm tedavi grupları için).

Plazma İnhibin βA seviyeleri PCOS oluşturuluş tüm gruplarda SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştı ($p<0,001$; PCOS grubu için; $p<0,05$ ve PCOS+CH, PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN grupları için). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla İnhibin βA düzeylerinde bir artış gözlemlendi ki bu artış hiçbir tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$; tüm tedavi grupları için).

Plazma IGFBP-3 düzeyleri PCOS ve PCOS+CH gruplarında SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksekti ($p<0,001$; PCOS grubu için; $p<0,05$; PCOS+CH grubu için). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre IGFBP-3 düzeylerinde bir azalış gözlemlendi ancak bu azalış sadece PCOS+AGN grubunda istatistiksel olarak anlamlıydı ($p>0,05$; PCOS grubuna kıyasla).

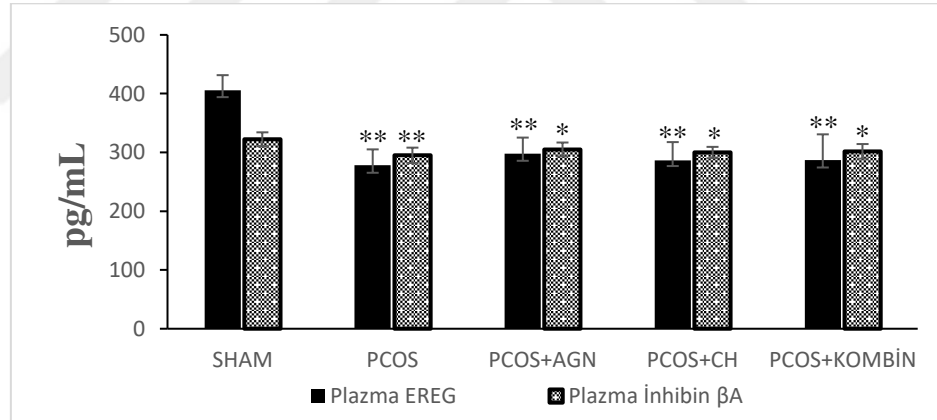
Plazma IFN- γ düzeyleri de PCOS ile indüklenmiş tüm gruplarda SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük görüldü ($p<0,001$; tüm

PCOS indüklenmiş grupları için). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla IFN- γ düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu artış PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$; tüm tedavi grupları için) (Şekil 26-27).



Şekil 27. Plazma KNG1, IGFBP-3 ve IFN- γ değerleri

** $p<0,001$; SHAM grubuna göre, * $p<0,05$; SHAM grubuna göre, + $p<0,05$; PCOS grubuna göre



Şekil 28. Plazma EREG ve İnhibin β A değerleri

** $p<0,001$ SHAM grubuna göre * $p<0,05$; SHAM grubuna göre

Süpernatant KNG1 düzeyleri PCOS indüklenen gruplarda [(PCOS+AGN) grubu hariç] SHAM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü ($p<0,001$; PCOS ve PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN grubu için). Tedavi ajanı uygulanan gruplardaki KNG1 düzeyleri PCOS grubuna kıyaslandığında ise tüm tedavi gruplarında bir yükselme kaydedildi ancak bu yükseliş sadece PCOS+AGN

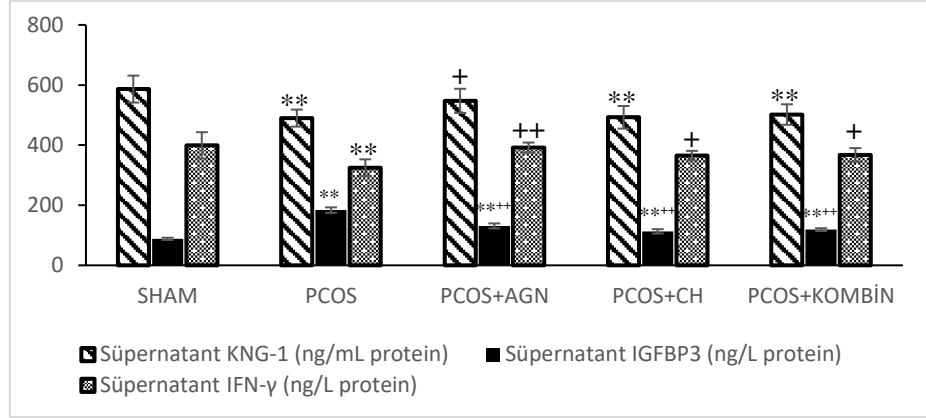
grubunda istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$; PCOS+AGN grubu için).

Süpernatant EREG düzeyleri SHAM grubuna göre PCOS grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük görüldü ($p<0,05$; PCOS grubu için). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna nazaran EREG düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu artış PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$; tüm tedavi grupları için).

Süpernatant İnhibin β A seviyeleri PCOS oluşturuluş tüm gruplarda SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,001$ tüm PCOS indüklenen gruplarda). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla İnhibin β A düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu artış PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$; tüm tedavi grupları için).

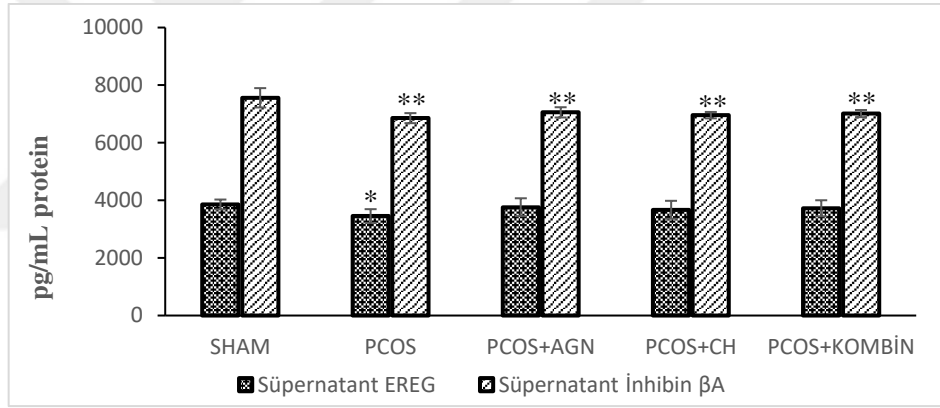
Süpernatant IGFBP-3 düzeyleri PCOS ve PCOS+CH gruplarında SHAM grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak daha yüksekti ($p<0,001$; PCOS indüklenen tüm gruplarda). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre IGFBP-3 düzeylerinde istatistiksel bir azalış gözlemlendi ($p<0,001$; tüm tedavi gruplarında).

Süpernatant IFN- γ düzeyleri SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0,001$; PCOS grubunda). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla IFN- γ düzeylerinde bir artış saptandı ve bu tüm tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$; PCOS+AGN grubuna; $p<0,05$ PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında) (Şekil 28-29).



Şekil 29. Süpernatant KNG1, IGFBP-3 ve IFN-γ değerleri

**p<0,001; SHAM grubuna göre, *p<0,05; SHAM grubuna göre, +p<0,05; PCOS grubuna göre, ++p<0,001; PCOS grubuna göre



Şekil 30. Süpernatant EREG ve İnhibin βA değerleri

**p<0,001; SHAM grubuna göre, *p<0,05; SHAM grubuna göre

5.5.Tedavi Ajanların İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi

Apigenin ve Chrysin'in plazma ve süpernatant IL-18, IL-1β, IL-13 düzeylerine etkisini değerlendirdiğimiz bu bölümde elde edilen sonuçlar Tablo 11'de sunulmuştur.

Tablo 11. Plazma ve süpernatant inflamasyon parametreleri düzey değişimleri

Parametreler	SHAM	PCOS	PCOS+AGN	PCOS+CH	PCOS+KOMBİN
Plazma IL-18 (ng/L)	8,34±1,91	19,12±1,79**	13,57±1,42***	15,32±2,05***	12,31±1,050***
Plazma IL-1β (ng/L)	9,74±2,46	16,63±03,71**	13,53±2,56	14,12±1,17*	13,52±2,61
Plazma IL-13 (ng/L)	8,91±0,99	18,40±1,89**	14,08±2,45***	15,25±1,73***	14,42±2,78***
Süpernatant IL-18 (ng/protein)	138,11±21,22	230,99±28,34**	187,83±23,47**	193,91±34,88***	194,54±15,28***
Süpernatant IL-1β (ng/protein)	184,46±29,22	287,62±75,41**	242,27±20,76	232,45±29,77+	228,71±24,97+
Süpernatant IL-13 (ng/protein)	213,53±24,42	294,21±29,40**	275,02±27,35**	283,75±27,38**	278,11±31,93**

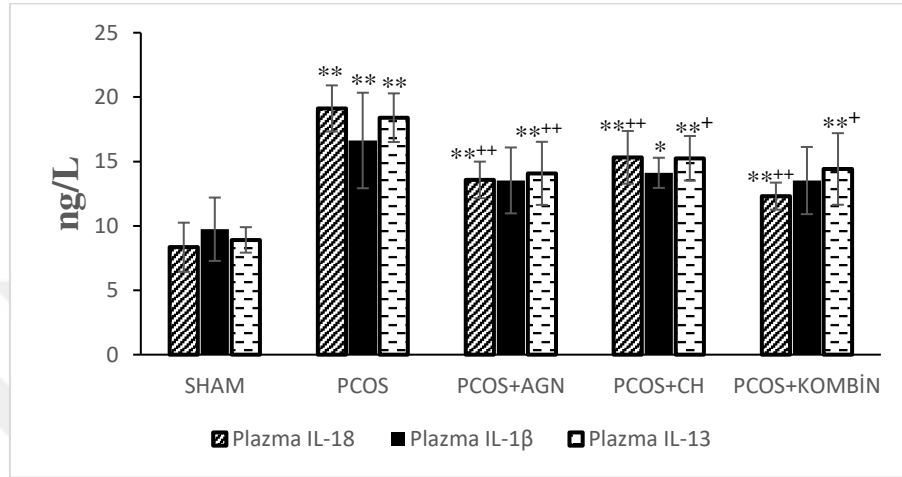
**p<0,001; SHAM grubuna göre, *p<0,05; SHAM grubuna göre, +p<0,05; PCOS grubuna göre, ++p<0,001; PCOS grubuna göre

Plazma IL-18 düzeyleri PCOS indüklenmiş gruplarda SHAM grubuna göre kıyasla istatistiksel olarak daha da yüksekti (p<0,001; tüm PCOS indüklenmiş gruplarda). Tedavi uygulanan gruplardan; PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında ise PCOS grubuna göre IL-18 düzeylerinde istatistiksel olarak bir azalma gözlemlendi (p<0,001; tüm tedavi gruplarında PCOS grubuna kıyasla).

Plazma IL-1β düzeyleri SHAM grubuna göre PCOS ve PCOS+CH gruplarında istatistiksel olarak daha yüksekti (p<0,001; PCOS grubu için; p<0,05; PCOS+CH grubu için). Tedavi uygulanan tüm gruplarda; PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında IL-1β düzeylerinde PCOS grubuna kıyasla bir azalma gözlemlendi ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05; tüm tedavi gruplarında).

Plazma IL-13 düzeyleri PCOS indüklenmiş gruplarda SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksekti (p<0,001 tüm PCOS indüklenmiş

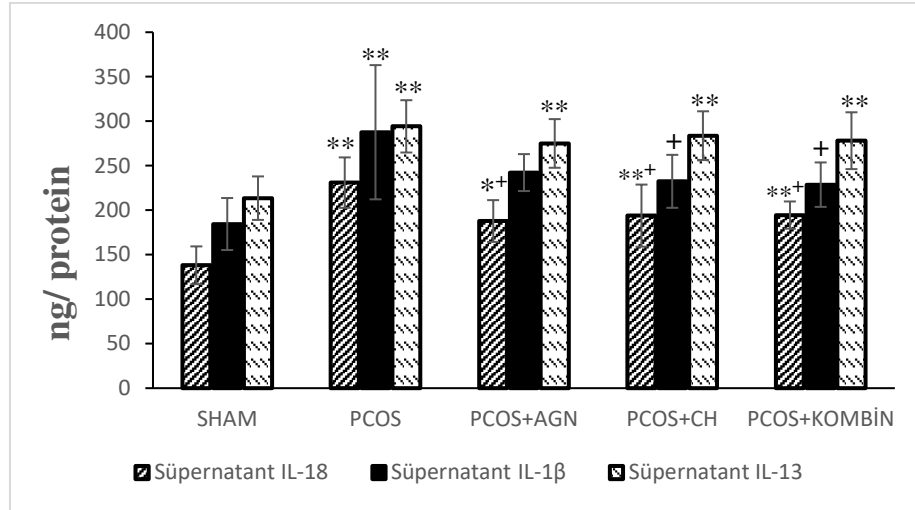
gruplarda). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre IL-13 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma kaydedildi ki en önemli azalış PCOS+AGN tedavisinin uygulandığı grupta gözlemlendi ($p<0,001$; PCOS+AGN grubunda, $p<0,05$; PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN grubunda) (Şekil 30).



Şekil 31. Plazma IL-18, IL-1β, IL-13 değerleri

** $p<0,001$; SHAM grubuna göre, * $p<0,05$; SHAM grubuna göre, + $p<0,05$; PCOS grubuna göre, ++ $p<0,001$; PCOS grubuna göre

Süpernatant IL-18, IL-1β ve IL-13 düzeyleri PCOS grubu SHAM grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak yüksekti ($p<0,001$; tüm parametreler için). Tedavi uygulanan gruplarda süpernatant IL-18 düzeylerinde PCOS grubuna göre istatistiksel olarak bir azalma kaydedildi ($p<0,05$; tüm tedavi gruplarında). IL-1β düzeylerinde PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir azalma kaydedildi ($p<0,05$). Son olarak tedavi ajanı uygulanan tüm gruplarda süpernatant IL-13 düzeylerinde PCOS grubuna kıyasla bir azalma kaydedildi ancak bu azalış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$) (Şekil 31).



Şekil 32. Süpernatant IL-18, IL-1β, IL-13 değerleri

**p<0,001; SHAM grubuna göre, *p<0,05; SHAM grubuna göre, +p<0,05; PCOS grubuna göre

5.6. Tedavi Ajanların Antioksidan Parametreleri Üzerine Etkisi

Apigenin ve Chrysin'in plazma ve süpernatant antioksidan parametre düzeylerine etkisini değerlendirdiğimiz bu bölümde elde edilen sonuçlar Tablo 12'de sunulmuştur.

Gruplar	SOD aktivitesi	CAT aktivitesi	GPx aktivitesi	MDA düzeyi
SHAM	42,99±4,72	1,39±0,41	2729,87±332,88	2,28±0,45
PCOS	33,37±1,92**	1,30±0,42	2174,29±266,58**	2,57±0,37
PCOS+AGN	35,24±2,86**	1,32±0,19	2294,65±277,34*	2,40±0,60
PCOS+CH	36,43±2,25**	1,37±0,10	2313,09±278,25*	2,45±0,54
PCOS+KOMBİN	34,20±2,56**	1,35±0,27	2243,86±216,74*	2,47±0,29

Tablo 12. Plazma Oksidatif Stres Parametrelerinin Düzey Değişimleri

*p<0,05 SHAM grubuna göre **p<0,001 SHAM grubuna göre

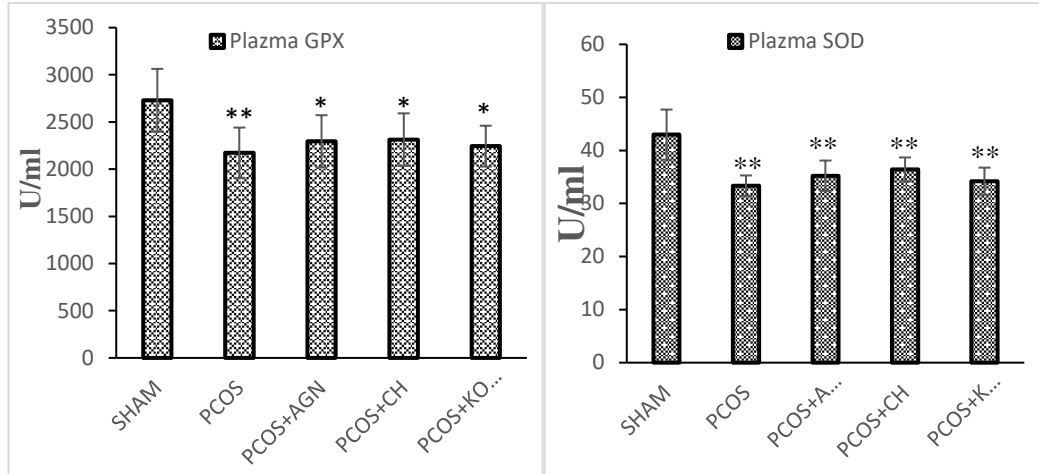
Tüm çalışma gruplarında SOD, CAT, GPx aktiviteleri ve MDA düzeyi hem plazma hem de süpernatant örneklerinde değerlendirilmiştir. Plazma SOD aktivitesi PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla düşüktür ve istatistiksel olarak

anlamlıdır ($p<0,001$). Tedavi uygulanan PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla plazma SOD aktivitesi yüksektir buda istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

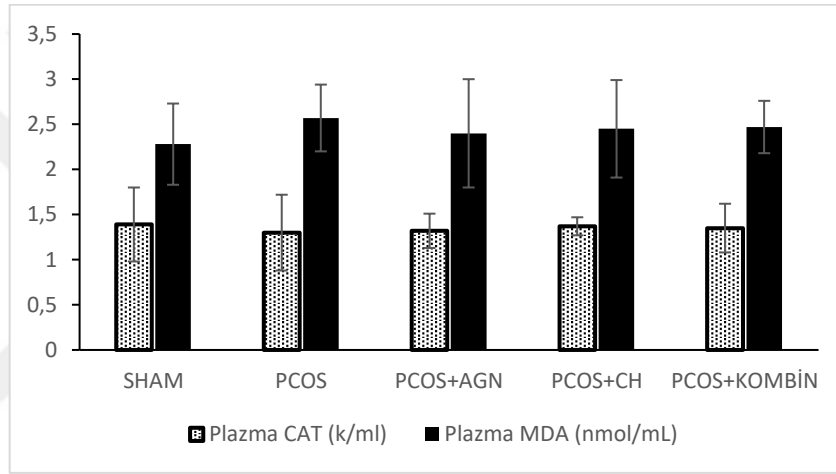
Plazma CAT aktivitesi PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna göre düşük bulundu, bu azalış da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p<0,001$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında PCOS grubuna kıyasla plazma CAT aktivitesinde istatistiksel olmayan bir artış saptanmıştır.

Plazma GPx aktivitesi PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla düşüktür ki bu düşüş de istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında ise SHAM grubuna kıyasla plazma GPx aktivitesinde artış gözlenmiştir. Bu artış PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN grupları için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$; tüm gruplar için).

Plazma MDA düzeyi PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla artış bulunmuştur fakat bu artışta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p<0,05$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında ise PCOS grubuna kıyasla düşük fakat SHAM grubuna kıyasla yüksek olduğu tespit edilmiştir ki bu da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p<0,05$) (Şekil 32).



*p<0,05 SHAM grubuna göre **p<0,001 SHAM grubuna göre



Şekil 33. Plazma SOD, CAT, GPx ve MDA değerleri

Tablo 13. Süpernatant Oksidatif Stres Parametrelerinin Düzey Değişimleri

Gruplar	SOD Aktivitesi	CAT Aktivitesi	GPx Aktivitesi	MDA Düzeyi
SHAM	93,55±6,50	6,69±1,16	5179,23±364,92	13,96±2,51
PCOS	71,65±7,80**	4,96±1,07*	4822,02±682,64	19,68±3,02**
PCOS+AGN	84,83±9,57+	5,82±1,21	5124,46±488,66	16,94±1,86
PCOS+CH	82,00±12,12	5,18±1,36	5303,70±655,25	17,60±2,40*
PCOS+KOMBİN	91,07±12,03++	5,33±0,73	5070,61±559,81	16,62±2,57

*p<0,05 SHAM grubuna göre; **p<0,001 SHAM grubuna göre

+p<0,05; PCOS grubuna göre; ++p<0,001 PCOS grubuna göre

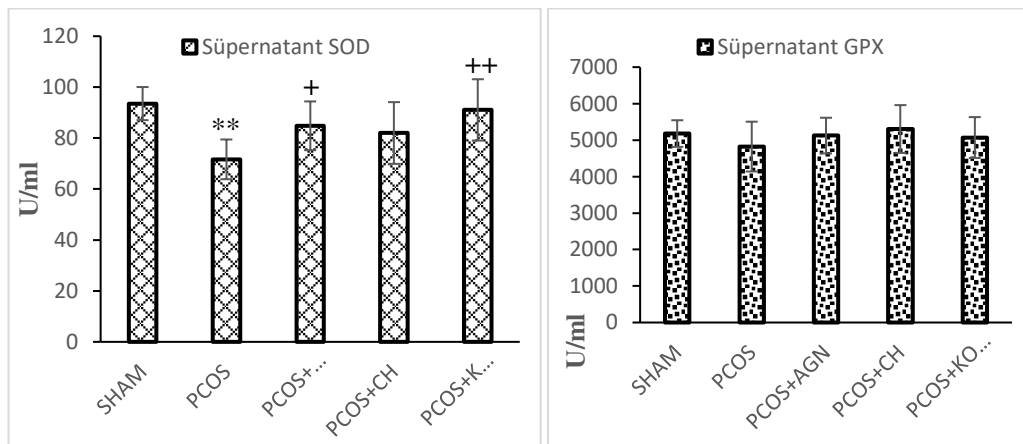
Süpernatant SOD aktivitesi SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak düşüktü ($p<0,001$), PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN grupları ise PCOS grubuna kıyasla PCOS+AGN ($p<0,05$) ve

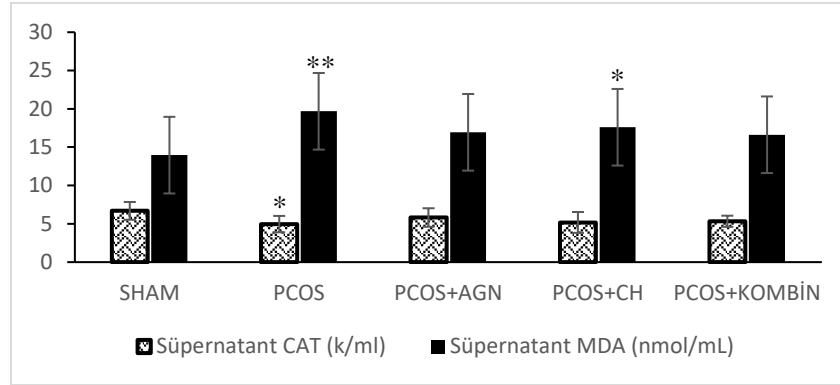
PCOS+KOMBİN ($p<0,001$) grubunda istatistiksel olarak artış gözlenmiştir. Bu da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu belirlenmiştir.

Süpernatant CAT aktivitesi SHAM grubunda PCOS grubuna göre istatistiksel olarak düşüktü ($p<0,05$). PCOS+ AGN ve PCOS+CH gruplarında istatistiksel olarak artış gözlenmiştir. PCOS+KOMBİN grubunda PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Süpernatant GPx aktivitesi SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak düşük bulundu ve bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir. PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarının PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak artış gözlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Süpernatant MDA düzeyinde SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak artış gözlenmiştir ($p<0,001$). Tedavi gruplarından PCOS+CH grubunun PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,05$). PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN grubunda PCOS grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 33).





Şekil 34. Süpernatant SOD, CAT, GPx ve MDA değerleri

*p<0,05 SHAM grubuna göre; **p<0,001 SHAM grubuna göre
 +p<0,05; PCOS grubuna göre; ++p<0,001 PCOS grubuna göre

5.7. Tedavi Ajanların Glukoz, İnsülin ve HOMA-IR Üzerine Etkisi

Apigenin ve Chrysin'in plazma glukoz, insülin ve HOMA-IR değişimlerini değerlendirdiğimiz bu bölümde elde edilen sonuçlar Tablo 14 sunulmuştur.

Tablo 14. Plazma glukoz, insülin ve HOMA-IR Değişimleri

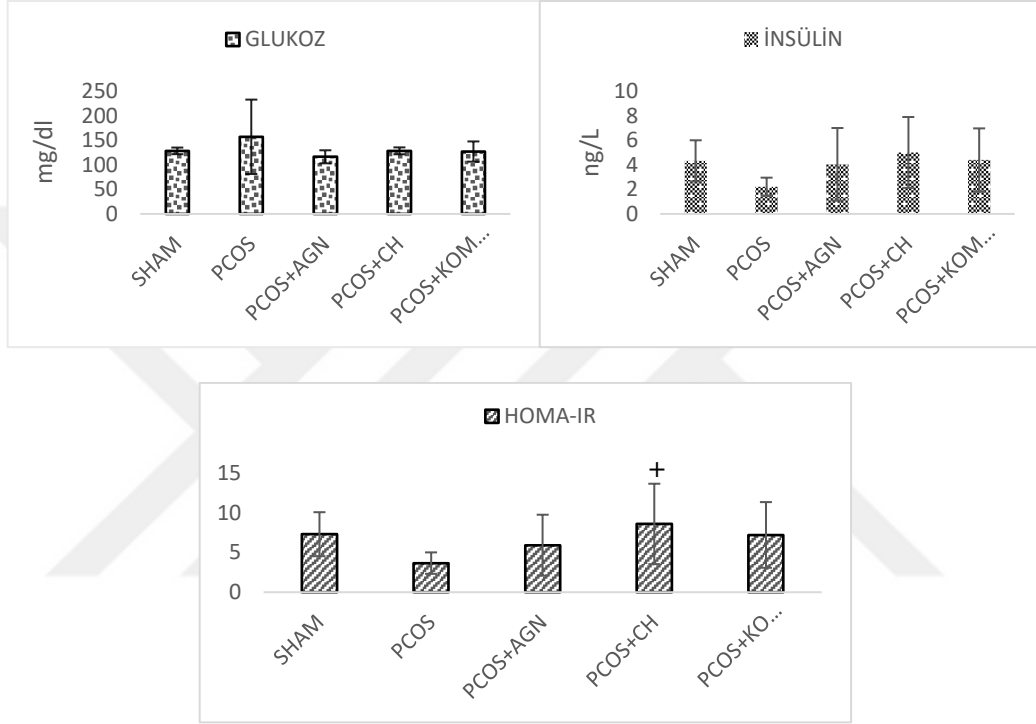
Parametreler	SHAM	PCOS	PCOS+AGN	PCOS+CH	PCOS+KOMBİN
Glukoz (mg/dl)	128,62±6,75	157,30±75,93	116,50±13,31	128,70±7,04	127,25±20,65
İnsülin (ng/dl)	4,33±1,68	2,22±0,74	4,05±2,96	5,02±2,89	4,40±2,58
HOMA-IR	7,32±2,77	3,67±1,35	5,93±3,84	8,61±5,07 ⁺	7,22±4,14

⁺p<0,05; PCOS grubuna göre

Plazma glukoz düzeyleri PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna göre daha yüksek, tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla matematiksel olarak daha düşük değerler saptanmasına rağmen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05).

Plazma insülin düzeyleri PCOS ile indüklenen grup ile SHAM grubu kıyaslandığında PCOS ile indüklenen grupta istatistiksel olarak daha düşüktü (p<0,05). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında PCOS grubuna kıyasla insülin düzeylerinde bir artış görülmesine karşın bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05).

HOMA-IR değerinde ise SHAM grubuna kıyasla PCOS ile indüklenen grupta anlamlı bir düşüş saptandı ($p<0,05$). Tedavi uygulanan gruplardan PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN, PCOS ile indüklenen grupta kıyasla artış görülmesine rağmen anlamlı değildi. PCOS+CH grubunda PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p<0,05$) (Şekil34).



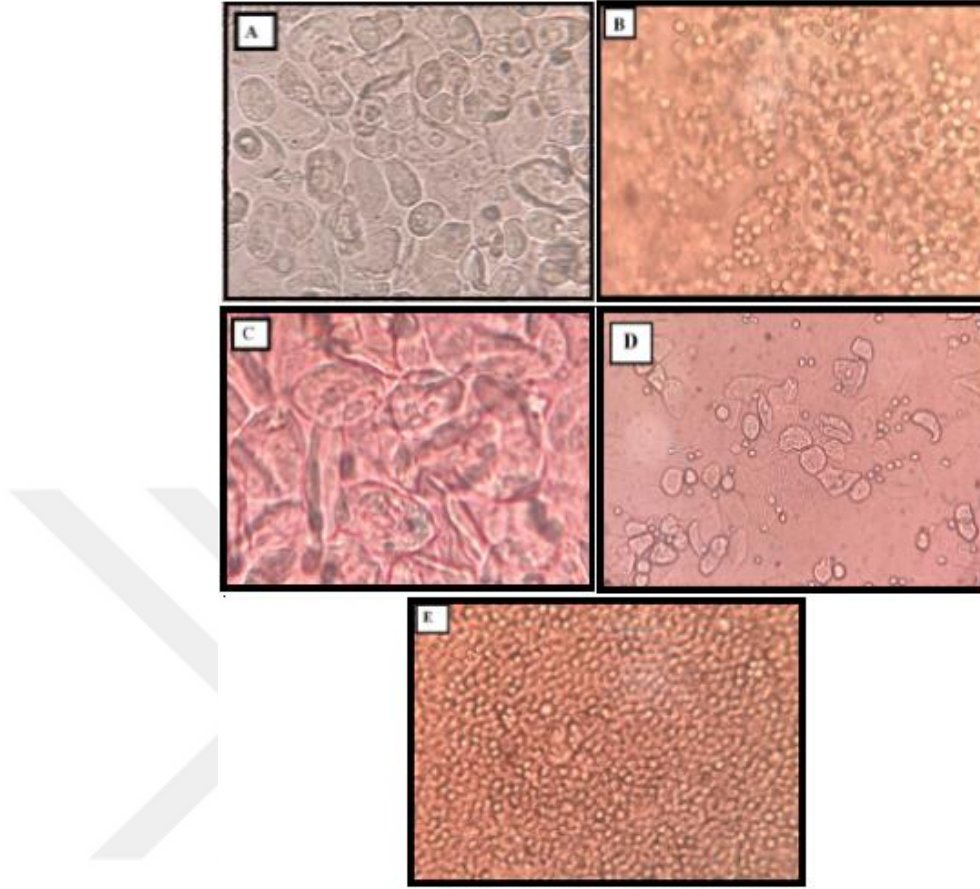
Şekil 35. Plazma glukoz, insülin ve HOMA-IR değerleri

⁺ $p<0,05$; PCOS grubuna göre

5.8. Vajinal Smear Değerlendirmeler

Yapılan vajinal smear bulguları DHEA ile PCOS'un başarılı bir şekilde oluştuğunu desteklemektedir. SHAM grubundaki sıçanlara baktığımızda düzenli bir östrus siklusu gösterirken, PCOS ve tedavi ajanı uygulanmış gruplardaki sıçanlarda östrus siklusunun bozulmuş, düzensiz ve uzamış olduğunu göstermiştir. PCOS oluşuktan sonra tedavi ajanı uygulanmaya başlanan gruplarda ise düzensiz olan siklusun düzelmeye başlayarak düzenli bir östrus siklus görülmüştür. Gruplara

ait vajinal smear örnekleri Şekil 35 gibidir.



Şekil 36. SHAM ve PCOS gruplarına ait vajinal smear örnekleri.

SHAM grubuna ait **A**, Proöstrus; **B**, Diöstrus; **C**, Östrus; **D**, Metöstrus örnekleri. **E**, PCOS grubuna ait Diöstrus örneği

5.9.Histolojik Değerlendirmeler

Sıçan over kesitleri ışık mikroskobu altında değerlendirildiğinde SHAM grubuna ait preparatlarda over korteksinde çok sayıda korpus luteum ve gelişimin farklı aşamalarında over folikülleri (primordiyal, primer, sekonder ve Graff) bulunmaktaydı. Granüloza hücreleri ve teka yapıları normal histolojik görünümdeydi. Korpus luteum yapıları normal ve sınırları belirgindi.

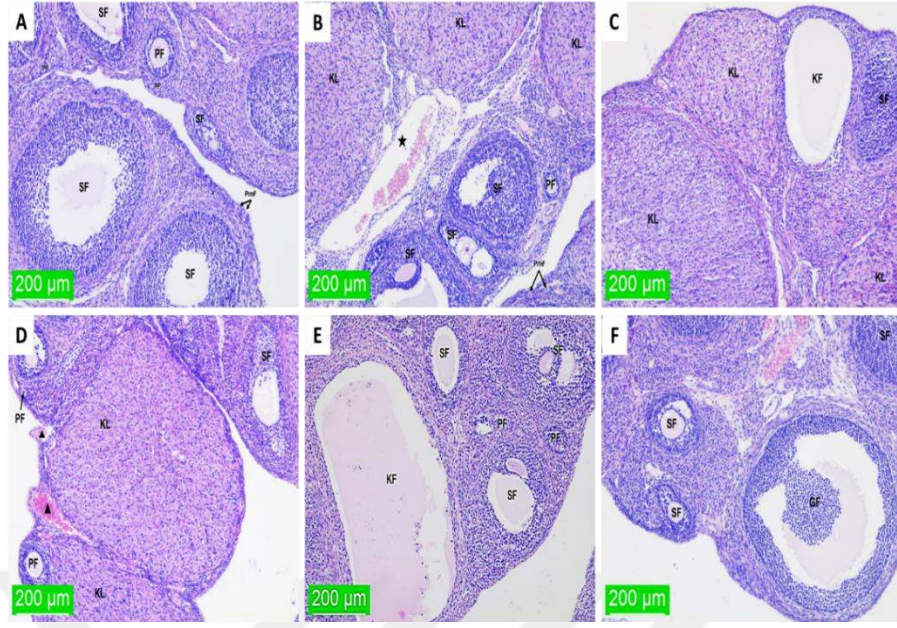
PCOS grubuna ait over kesitlerinde SHAM grubu ile benzer şekilde çok sayıda korpus luteum ve farklı gelişim evrelerinde foliküller izlendi. Ancak iki grup

karşılaştırıldığında bu grupta özellikle sekonder folikül sayısının önemli düzeyde arttığı tespit edildi ($p<0,05$). Yine bu grupta SHAM grubuna kıyasla primordiyal ve primer folikül sayılarının azaldığı, kistik folikül sayısının ise arttığı izlendi fakat bu değişiklikler istatistiksel açıdan önemsizdi ($p>0,05$). Yine PCOS grubunda kortikal stromada yer alan damarlarda aşırı dilatasyon dikkat çekmekteydi (Şekil 36). PCOS+AGN, PCOS+CH grubu ve PCOS+KOMBİN gruplarında PCOS grubuna kıyasla sekonder folikül sayılarının, SHAM grubuna kıyasla ise Graff folikülü sayılarının azaldığı görüldü. PCOS grubunda izlenen vasküler dilatasyonun tüm tedavi gruplarında azaldığı belirlendi. Ancak PCOS+AGN grubunda vasküler konjesyon dikkat çekmekteydi. Tüm gruplara ait folikül ve korpus luteum sayım sonuçları Tablo 15’de sunuldu.

Tablo 15. Over folikül sayımı

Gruplar	Primordiyal Folikül	Primer Folikül	Sekonder Folikül	Graff Folikülü	Korpus Luteum	Kistik Folikül
SHAM	9,50±0,64	8,25±2,05	17,75±1,47	1,50±0,95	13,75±2,86	0,25±0,25
PCOS	7,00±2,12	4,25±1,25	31,50±4,66 ^a	1,25±0,25	14,00±0,91	2,00±0,70
PCOS+AGN	2,25±0,85	4,25±1,49	14,25±3,94 ^b	0,00±0,00 ^a	10,00±2,34	1,50±0,86
PCOS+CH	4,25±2,32	6,75±3,35	19,50±2,32	0,00±0,00 ^a	13,50±1,89	1,00±0,40
PCOS+KOMBİN	8,25±2,65	3,75±0,62	10,00±1,63 ^b	0,50±0,28 ^a	8,50±0,93	0,50±0,28

^a: SHAM grubuna kıyasla, ^b: PCOS grubuna kıyasla $p<0,05$



Şekil 37. Over dokularının histolojik görünümü. **A:** SHAM grubu, **B-C:** PCOS grubu, **D:** PCOS+AGN grubu, **E:** PCOS+CH grubu ve **F:** PCOS+KOMBİN grubu. **KL:** Korpus luteum; **SF:** Sekonder folikül; **PF:** Primer folikül; **PrmF:** Primordiyal folikül; **GF:** Graff folikülü; **KF:** Kistik folikül. **Yıldız:** Vasküler dilatasyon; **Üçgen:** Konjesyon. x100, H&E.

6. TARTIŞMA

Polikistik over sendromu üreme çağındaki kadınlarda sık görülen, yaşam kalitesini negatif yönde etkileyen hormonal bir bozukluktur (214). Deney hayvanlarında PCOS modeli oluşturmak amacıyla genellikle östrodiol valerat, letrozol, dihidrotestosteron ve DHEA kullanılmaktadır (215). Çalışmada PCOS modeli oluşturmak için deney hayvanlarına 28 gün boyunca DHEA subkutan olarak uygulandı. PCOS modelinin oluştuğunu teyit etmek amacıyla vajinal smear takibi yapıldı. Homa ve ark., PCOS modelinde 6 haftalık östrus siklus boyunca DHEA uygulanan deney hayvanlarının çoğunda diöstrus evresinde olduğunu gözlemlemişlerdir (216). Bu çalışmada SHAM grubu dışında oluşturduğumuz tüm gruplarda sikluslarının bozulduğunu ve diöstrus evresinde kaldığını gözlemledik. Selenay ve ark. PCOS grubundaki sıçanların vücut ağırlıkları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve tedavi ajanının ağırlık değişimini azaltıcı etkileri olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Over ağırlıklarının PCOS grubunda kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak arttığı ve tedavi gruplarındaki sıçanların over ağırlığının PCOS grubuna göre anlamlı olarak azaldığını belirtmişlerdir. Tedavi grupları kendi içinde karşılaştırıldığında, resveratrol ile diğer tedavi grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlendi (217). Bizim çalışmamızda oluşturduğumuz deney gruplarındaki sıçan ağırlıklarının deneyin başlangıcından sonuna kadar her hafta aynı gün düzenli olarak tartıldı ve kaydedildi. Deney sonunda sıçanların kilolarına bakıldığında PCOS grubundaki sıçanların ağırlıkları SHAM grubundaki sıçanlara oranla arttığını gözlemledik. Tedavi ajanlarının kullanıldığı gruplardan PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN tedavi grubundaki sıçanların ağırlıklarındaki artış SHAM grubuna kıyasla anlamlıydı.

Çalışmamızdaki sıçanların ağırlıklarındaki artış ve sikluslarının bozulması DHEA ile deneysel PCOS modelinin başarıyla oluştuğunun göstergesidir. 28 gün boyunca DHEA enjeksiyonu yapılan bütün deney gruplarında vajinal smear takibi ile PCOS oluştuğu tespit edildikten sonra bir ay boyunca AGN, CH, KOMBİN tedavi ajanları oral gavaj yöntemiyle uygulandı. Çalışma gruplarının over ağırlıklarından elde ettiğimiz değerlere baktığımızda PCOS grubuna ait sıçanların over ağırlıklarının SHAM grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. PCOS grubu ile tedavi grupları arasında ortalama over ağırlıklarına bakıldığında ise, PCOS+AGN tedavisinin uygulandığı grupta sadece PCOS oluşturulan grubuna kıyasla ortalama over ağırlığının düşük olduğu saptandı.

LH, ovulasyondan sonra korpus luteum oluşumunu teşvik ederek progesteron sentezini uyarır (218). PCOS hastalarında LH konsantrasyonu yüksek olduğundan korpus luteum oluşturamaz. FSH, kadın üreme mekanizmasını düzenlemek için yumurtalıklarda bulunan granüloza hücrelerinde östrojen üretimini düzenler ve yumurtanın geliştiği foliküllerin olgunlaşmasını sağlar (219). Allen JJ ve ark. PCOS hastalarında LH konsantrasyonunu yüksek, FSH konsantrasyonunu ise düşük veya normalin alt sınırında olduğunu belirtmişlerdir. Düşük FSH seviyeleri ile birlikte zayıf yumurta gelişimine ve yumurtlama yetersizliğine neden olduğundan yumurtalık tarafından progesteron üretiminin göreceli eksikliklerine de yol açtığını belirtmişlerdir (220). Yapılan birçok çalışmada ise hem PCOS oluşturulmuş deney hayvanlarında ve PCOS görülen kadınlarda LH seviyesinin yüksek olduğunu gözlenirken, Tessaro ve ark. DHEA ile PCOS modeli oluşturulan farelerde ilk defa LH seviyesinin kontrole kıyasla daha düşük olduğunu belirtmişlerdir (221). DHEA ile PCOS oluşturduğumuz bu çalışmada PCOS grubundaki hayvanlarda plazma LH

düzeyleri SHAM ve PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarına kıyasla PCOS grubunda yüksek gözlenirken, tedavi ajanı uygulanmış gruplardan AGN ve KOMBİN uygulandığı grupta PCOS grubuna kıyasla düşük olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Süpernatant LH düzeyleri SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda daha yüksekti, tedavi ajanı uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla KOMBİN tedavisinin uygulandığı grupta bir azalma gözlemlendi. PCOS patofizyolojisinde görülen hiperandrojenizm ve insülin direnci direk olarak hipotalamus-hipofiz bezi ekseninin daha fazla LH üretmesine neden olmaktadır. Yüksek insülin seviyesi hipotalamus-hipofiz eksenini daha fazla bozarak LH'ın daha fazla yükselmesine yol açar. Çalışmamızda PCOS grubu overlerinde bulunan teka hücrelerindeki insülinin aşırı androjen sentezini başlatmasıyla LH'ın çok salgılanmasından kaynaklanmaktadır.

PCOS görülen kadınlarda ve PCOS oluşturulmuş deneysel hayvan modellerinde FSH seviyesinin düşük olduğunu gözlenmiştir. Catteau-Jonard S. ve arkadaşları PCOS'lu kadınların PCOS görülmeyen kadınlara göre serum FSH düzeylerinin düşük olduğunu gözlemlemişlerdir (222). Çalışmamızda plazma ve süpernatant örneklerinde FSH düzeyleri SHAM grubuna göre PCOS grubunda yüksekti ($p<0,05$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN grupları ile PCOS grubu kıyaslandığında tedavi uygulanan gruplarda göre plazma FSH düzeylerinin düşük olduğu gözlenmiştir ($p>0,05$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna süpernatant örneklerinde ise plazma örneklerinde olduğu gibi FSH düzeyleri SHAM grubuna nazaran diğer gruplarda daha yüksekti. Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre süpernatant FSH düzeylerinde bir azalma kaydedildi ($p<0,05$). PCOS' da FSH düşüklüğünün nedeni polikistik overlerde ve

dolaşımdaki androjenlerin LH'ı arttırması nedeniyle olur. Bu artış ise periferde östrojene dönüşerek negatif feed-back mekanizmasıyla hipotalamustan GnRH salgılanmasını sağlayarak FSH'ın baskılanmasına neden olur.

PCOS hastalarında LH seviyesinin yüksek FSH seviyesinde düşük olmasından dolayı PROG seviyeleri düşüktür (220). Bu durum ovulasyonda bir disfonksiyona neden olmaktadır. Doldi ve ark.'nın yaptığı çalışmada PCOS'lu kadınlarda normal menstrual siklusa sahip olan kadınlara kıyasla PROG seviyelerinin yüksek olduğunu saptamışlardır (223). Çalışmamızda Doldi ve ark.'nın yaptığı çalışmanın aksine plazma PROG düzeyleri PCOS grubunda SHAM grubuna düşük saptandı. Tedavi ajanı uygulanan PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında ise PROG düzeylerinde azalma görüldü ($p<0,001$). Süpernatant PROG düzeyleri ise PCOS grubunda SHAM grubuna kıyasla daha düşüktü ($p<0,001$). Tedavi ajanı uygulanan gruplarda ise PROG düzeylerinde bir azalma gözlemlendi ($p>0,05$). PROG'daki döngüsel artışlar, ovulasyon görülen kadınlarda LH, GnRH'ın tekrarlayan döngüsel salınımının yavaşlamasına neden olur. Bununla beraber PCOS'un özelliği olan anovulasyondur. PCOS'lu kadınlarda normal döngüye sahip olan kadınlarda görülen PROG'da yumurtlama sonrası artış görülmez. Bizim çalışmamızda PCOS grubunda görülen PROG düşüklüğünün yüksek LH düzeylerinin PROG seviyesini inhibe ettiği düşünülmektedir.

Birçok PCOS hastasında serumdaki LH seviyesindeki aşırı artış nedeniyle FSH'ın sentezlenmesinde anormalliğe neden olur. Bu durumda FSH'ın salgılanmasında bir azalmaya neden olmaktadır. LH/FSH oranının anormal endokrin bozukluk nedeniyle önemli bir ölçüde yüksektir. Foliküllerin anormal olarak büyümesi ve gelişmesi de yumurtalıklarda bulunan granüloza hücrelerinin

gelişimini engellemektedir. Zheng ve ark. yaptıkları çalışmalarında model grubu oluşturdıkları sıçanlarda LH seviyesi ve LH/FSH oranının önemli ölçüde azaldığını ve FSH seviyesinde arttığını göstermişlerdir (224). Çalışmamızda plazma LH/FSH oranı PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla yüksekti fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Tedavi uygulanan gruplardan PCOS+CH grubu PCOS grubuna kıyasla plazma LH/FSH oranında istatistiksel olmayan bir azalma gözlemlendi ($p>0,05$). Süpernatant LH/FSH oranı tüm PCOS indüklenmiş gruplarda istatistiksel olarak SHAM grubuna nazaran istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0,001$). Tedavi ajanı uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre LH/FSH oranında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma söz konusuydu ($p>0,05$). LH/FSH oranının yüksek LH seviyesinin artışı düşük FSH seviyesine neden olmaktadır. Buna PCOS’da görülen foliküler arrest, foliküler kist oluşumu anovulasyona ve bozulmuş östrus döngüsüne neden olmaktadır. Çalışmamızdaki sonuçlarda CH’ın PCOS grubuna göre LH’ı düşürebileceği böylece LH/FSH oranını önemli ölçüde azaltabileceğini göstermektedir.

İnflamasyon, yaralanma ile plazma ve dokularda artış gösteren KNG1 üreme hastalıklarının oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkili olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, büyüme faktörleri ve reseptörleri de yumurtalıklardaki üreme süreçlerinin düzenlenmesinde rol oynarlar. Darabi ve ark. PCOS’lu hastaların serumlarında KNG1 ekspresyonunun progesteron seviyeleri ile pozitif bir korelasyon gösterdiklerini belirtmişlerdir (225). Serumda KNG1, düşük progesteron seviyesine sahip olan hastalarda yeni ve spesifik potansiyel tanı biyobelirteçleri sağlayacaktır. Irma ve ark. ise KNG1, inflamasyonun önemli bir

düzenleyicisi olarak işlev gördüğünü ve vasküler geçirgenliği ve inflamatuvar mediyatörlerin salınımını artırabildiğini saptamışlardır. Ayrıca PCOS oluşmasında ve gelişiminde kronik inflamasyonun rol oynayabileceğini ve böylece üreme hastalıklarının oluşumu ve gelişimi yakından ilişkisi olduğunu bulmuşlardır (226). Irma ve ark.'nın yaptığı çalışmaya paralel olarak çalışmamızda plazma KNG1 düzeyleri PCOS, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında SHAM grubuna kıyasla göre daha düşüktür. Tedavi gruplarından PCOS+AGN grubunun PCOS grubuna kıyasla KNG1 düzeylerinde artış görüldü ($p<0,05$). Süpernatant KNG1 düzeyleri PCOS, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında SHAM grubuna göre daha düşüktü ($p<0,001$). Tedavi ajanı uygulanan gruplardaki KNG1 düzeyleri PCOS grubuna kıyaslandığında ise tüm tedavi gruplarında bir artış görüldü ($p<0,05$). Vazoaktif özelliğe sahip olan KNG1 inflamasyon, pıhtılaşma, diyabet ve doğuştan kazanılan bağışıklığa katıldığı bilinmektedir. KNG1'nin termojenik bir fonksiyona sahip olduğundan KNG1 kahverengi adipoz dokuda bozulmuş olan termogenezi uyarmaktadır. Yüksek KNG1 üretimi düzeyleri obezite görülen bireylerde adipoz dokusundaki bozulmuş olan metabolizmaya engel olmak için adaptif bir cevabın sonucu olabilir. Ayrıca KNG1 bazı sitokinler (TNF- α , IL-6) veya kemokinleri (IL-8 ve MCP-1) salmaya karşı uyarmaktadır. KNG1 antianjiyonik bir etki göstermekte ve endotel hücrelerinin çoğalması üzerinde inhibitör özellik göstermektedir.

EGF ailesinin bir üyesi olan EREG'nin oosit olgunlaşması, ovulasyon fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve embriyonun uterusu yerleşmesinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiş, fakat EREG'nin PCOS'daki rolü henüz net olarak belli değildir (227). Qin ve ark.'nın yaptıkları çalışmada PCOS'lu hastaların

serumunda EREG, progesteron seviyesinde olduğu gibi düşük seviyededir (228). Yapılan bu çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda plazma EREG düzeyleri PCOS indüklenen gruplarda SHAM grubuna göre daha düşüktü ($p<0,001$) Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla EREG düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu tedavi grubunda yeterli değildir ($p>0,05$). Süpernatant EREG düzeyleri SHAM grubuna göre PCOS grubunda daha düşüktü ($p<0,05$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyaslandığında EREG düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu artış yeterli görülmemiştir ($p>0,05$). Menstrual siklusda LH artışı, EREG geçici artışını uyarmaktadır ve EREG, LH benzeri etkiye sahiptir. EREG, LH sinyal yolunu bloke edebilmektedir. PCOS hastalarında EREG düzeyinin azaldığı ve PROG'un EREG salgılanmasını arttırdığı bilinmektedir. Ayrıca overlerde bulunan granüloza hücrelerinin çoğalması ve apoptozu EREG tarafından olmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız Apigenin ve Chrysin 'nin plazma ve süpernatantda EREG düzeyinin artmasıyla overlerdeki granüloza hücrelerinin çoğalma yeteneğini artırmış ve apoptozu engellediğini düşünmekteyiz.

İnhibinler, Transforming Growth Factor β (TGF β) ailesine aittir ve yumurtalık, testis, plasenta ve adrenal bezde eksprese edilirler. İnhibin β A, İnhibin A'nın alt birimidir, dolayısıyla serumdaki İnhibin β A düzeyleri, over granüloza hücreleri ve foliküllerinin gelişimini yansıtabilir. Ayrıca İnhibin β A'nın yumurtalık granüloza hücrelerinin proliferasyonu ve apoptozu üzerindeki etkileri de vardır (229). Tsigkou A ve ark. PCOS'lu kadınların serum İnhibin seviyesi sağlıklı kadınlara göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir (230). Dafopoulos ve ark. ise PCOS'lu kadınlarda İnhibin β A 'nin azaldığını ve İnhibin β A 'nin salgılanmasının FSH'ye bağlı olduğunu buldu. Bununla beraber, İnhibin β A' nın yumurtalık

granüloza hücrelerinin çoğalmasına da katkı sağladığı ve apoptozunu engellediğini savunmuşlardır. İnhibin βA 'nın yaptığı etkilere bakıldığında PCOS tespiti için potansiyel bir serolojik biyobelirteçler olabileceğini de düşünülmektedir (231). Çalışmamızda plazma İnhibin βA seviyeleri PCOS oluşturulmuş tüm gruplarda SHAM grubuna göre daha düşüktü ($p < 0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla İnhibin βA düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu artış hiçbir tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Süpernatant İnhibin βA seviyeleri PCOS oluşturulmuş tüm gruplarda SHAM grubuna göre düşüktü ($p < 0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla İnhibin βA düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu artış hiçbir tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Bu da Tsigkou A ve ark.'nın çalışmalarını destekler niteliktedir. Negatif feed-back mekanizmasıyla FSH tarafından karşılıklı olarak düzenlenen bir peptid olan İnhibin βA , androjen üretimi için esastır ve buna izin verir. PCOS hastalarında folikül sayısının azalmasıyla İnhibin βA seviyesindeki azalış PCOS'un semptomlarından biri olan hiperandrojenizmi açıklayabilir. İnhibin βA seviyeleri uzun süreli gonadotropin baskılanmasından sonrada FSH'a aşırı duyarlıdır.

IGFBP-3, karaciğerde bulunan Kupffer hücrelerinde üretilir, fakat adipositlerin farklılaşmasıyla da adipositlerinde dahil olduğu birçok dokuda üretilir (232). IGFBP-3, insan adipositlerini insülin ile uyarak glukoz alımını ve Akt fosforilasyonunu inhibe ederek insülin direncini başlatır (233). Bir fosfotirozin fosfatazin uyarılması ve daha sonra insülin reseptörünün fosforilasyonu, IGFBP-3 ile oluşan insülin direncine katkı sağlar. Bu oluşan mekanizmanın IGFBP-3 ve PCOS arasında bir ilişki olduğunu düşündürebilir (234). Lee ve ark.'nın yaptığı

çalışmada PCOS görülen kadınlarda kontrol ve obezite görülen kadınlara kıyasla IGFBP-3 seviyelerinde bir farklılık göstermediğini belirtmişlerdir. Ayrıca IGFBP-3 seviyelerinin PCOS'lu kadınlarda ve kontrollerde insülin direnci ile ilişkili olmadığını savunmuşlardır (235). Çalışmamızda Lee ve ark.'nın yaptıkları çalışmanın aksine bizim çalışmamızda plazma IGFBP-3 düzeyleri PCOS ve tedavi gruplarından PCOS+CH gruplarında SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksekti ($p<0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre IGFBP-3 düzeylerinde bir azalış gözlemlendi ancak bu azalış sadece PCOS+AGN grubunda istatistiksel olarak anlamlıydı ($p>0,05$). Süpernatant IGFBP-3 düzeyleri PCOS ve PCOS+CH gruplarında SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksekti ($p<0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre IGFBP-3 düzeylerinde istatistiksel bir azalış gözlemlendi ($p<0,001$). PCOS' da görülen insülin yüksekliği ve insülin rezistansı overdeki androjen metabolizmasında anormalliklere bozukluklara ve gonadotropin cevaplardaki değişikliğe neden olmaktadır. İnsülin yüksekliği PCOS'da overlerdeki LH salgısını direk uyararak androjen üretimini artırmaktadır. Ayrıca insülin, IGFBP-3 vasıtasıyla da SHBG salgılanmasını engelleyerek androjen üretime katkı sağlamaktadır. İnsülinin teka hücrelerindeki çoğalması, LH aracılı androjen salınımını ve overlerdeki LH ve IGF-1 reseptör düzeyini artırmasıyla IGFBP-3'ün artmasına neden olmaktadır. Çalışmamızdaki tedavi ajanlarının Apigenin ve Chrysin'in antioksidan ve anti-inflamatuvar özelliği sayesinde LH aracılı androjen salınımının azalması ve FSH salınımını artırmasıyla IGFBP-3'ü azaltarak insülin direncini de düşürmekte etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

İnsülin, pankreasın β hücrelerinden salgılanan yağ ve kas dokusu, karaciğer

gibi organlarda glukoz alınımlı uyararak yağ dokuda da yağ yıkımını sağlayan metabolik bir hormondur. İnsülin biyolojik yanıt olarak (karbohidrat, lipid ve protein metabolizması), mitoz bölünmenin uyarılması (büyüme, DNA sentezi, gen transkripsiyonun düzenlenmesi) gibi etkileri vardır (236). Taylor Ann E.'nin yaptığı çalışmada PCOS'lu kadınların adipoz doku, kas doku ve diğer dokularda insülinin etkisini araştırmak üzere yapılan birçok çalışmada insülin sinyalizasyonunda bir defekt olduğunu ileri sürmüştür (237). Overlerde hem insülin hem de IGF-1 reseptörleri vardır. İnsülin hem overlerdeki insülin reseptörlerini veya IGF-1 reseptörlerini uyararak steroidogenez, aromataz aktivitesi ve overlerdeki gonadotropin reseptörlerini artırır. Bu etki nedeniyle IGF-1 reseptörlerini uyararak IGF-1 sentezi artar. Bu artan IGF-1, LH reseptörlerinin artmasını sağlayarak, LH'ın bağlama kapasitesini artırır. İnsülin IGFBP-3'ü düzenler ve IGF-1'i bağlayarak etkisini azaltmaktadır. Artan insülin düzeyleri IGFBP-3'ü baskılar ve IGF-1'in LH ile birlikte teka hücrelerine aynı yönde etki göstermesine neden olur. Bu etki ile P450c17 alfa aktivitesi artarak, overlerden androjen salınımı artar (238,239). Çalışmamızda plazma insülin düzeyleri PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0,05$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında PCOS grubuna kıyasla insülin düzeylerinde bir yükseliş görülmesine karşın bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Yaptığımız çalışmada glukoz düzeyleri PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna göre daha yüksek, tedavi uygulanan grupları ile PCOS grubu kıyaslandığında daha düşük değerler olmasına rağmen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlılık yoktur ($p>0,05$). İnsülinin PCOS'lu kadınlarda GnRH ile uyarılan LH ve FSH salgısını uyardığı bilinmektedir. İnsülin GnRH'ye gonadotropin yanıtını

arttırmaz. PCOS’da insülin azalmasının LH seviyeleri üzerinde bilinmeyen etkileri vardır. Hiperinsülinemi artan androjen seviyeleri ile dolaylı olarak hipotalamik fonksiyonlarda önemli değişikliklere neden olmaktadır. Normal sıklusa sahip kadınlarda, insülinin LH’a yanıt olarak androjen salgılanmasını artırabileceğini ve bununla beraber insülinin teka hücrelerinden androjen üretimini açık bir şekilde arttırdığı bilinmektedir. Çalışmamızda insülin düzeylerinin PCOS grubunda düşük çıkmasının nedeni hem glukoz düzeylerinin hemde plazma ve süpernatant IGFBP-3 seviyesinin PCOS grubunda yüksek çıkmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. İnsülin Direncinin Homeostasis Modeli Değerlendirmesi (HOMA-IR), insülin direncini değerlendirmek için iyi bir araçtır. Kararlılığı ise glukoz klemp tekniğine göre değerlendirilmesi açısından iyi bir testtir (240). İnsülin direnci görülen PCOS’lu kadınlarda yumurtalık fonksiyonunu değerlendirmek amacıyla kolay ve hassas bir klinik test olarak HOMA-IR kullanılabilir. Traub., genellikle insülin direncinin teşhisi için HOMA-IR düzeyinin 2.5’in üzerinde olduğunu vurgularken (241), Wongwanaruk ve ark. ise minimum HOMA-IR değeri 2’yi kullanmışlardır (242). Yaptığımız çalışmamızda HOMA-IR değerinde ise SHAM grubuna kıyasla PCOS ile indüklenen grupta anlamlı bir düşüş saptandı ($p<0,05$). Tedavi uygulanan gruplardan PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN, PCOS ile indüklenen grupta kıyasla artış görülmesine rağmen anlamlı değildi. PCOS+CH grubunda PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p<0,05$). PCOS patogeneğinde adipoz doku artışına bağlı olarak insülin direnci gelişimi ve visseral yağlanma aracılık etmektedir. Ayrıca bu etmenler dışında serbest androjen, bel çevresi ve trigliserid de PCOS’lu kadınlarda insülin direncinin belirleyicileridir. PCOS’lu kadınlarda artan obezite ile birlikte SHBG düzeyinin azalması yüksek insülin

konsantrasyonu ve insülininde SHBG sentezi üzerinde etkisine bağlı gibi görünmektedir. Abdominal obezitesi olan PCOS'lularda yüksek insülin direncine sahip SHBG üretiminde bir azalmaya ve androjen seviyesinin artışına neden olmaktadır. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda PCOS grubumuzda HOMA-IR, SHAM grubuna göre düşük çıkması insülin seviyesinin düşük çıkmasından ve bozulmuş glukoz toleransının gelişiminden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

IL-18, NK hücreleri ve T hücreleri tarafından IFN- γ sentezi, hücrelerin artması, hücrel bağışıklık oluşması ve IFN- γ 'nın sitokin üretimini sağlayan birçok etkisi vardır. Ayrıca IL-18 hücrede yer alan immün cevabı tetikleyen efektör hücreler aktif hale getirerek patojenlere karşı aktivitelere yol açar. Murri M. ve ark.'nın çalışmasında hem insülin direnci hem de obezitenin varlığı ve yokluğunun bağımsız olarak değerlendirdiği PCOS hastalarının serum IL-18 konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. Bu da PCOS hastalarında tek başına IL-18 ile bir olasılık olduğu bunun ışığında insülin direnci ve obeziteye bağlı olmadığını bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada insülin direnci sahip ve obezite görülen PCOS hastalarında serum IL-18 konsantrasyonu insülin direnci ve VKİ ile pozitif korelasyon göstermiştir. Bu da insülin direncine sahip obez PCOS'lu hastaların serum IL-18 düzeylerinin hızla artabileceğini göstermiştir. Bu nedenle IL-18 düzeyi ile VKİ arasında görülen bu pozitif korelasyonun VKİ artışının sonucu olarak artan yağ doku tarafından üretebileceğini düşündürmüştür (243). Bu çalışmanın sonucuna paralel olarak Escobar ve ark. PCOS ve obezitenin, adipoz doku ve insülin direncine bağlı olarak IL-18 üretimini artırdığını gösterdi (244). Çalışmamızda plazma IL-18 düzeyleri PCOS indüklenmiş gruplarda SHAM grubuna göre istatistiksel daha olarak yüksekti ($p<0,001$). Tedavi uygulanan

gruplarda ise PCOS grubuna göre IL-18 düzeylerinde istatistiksel olarak bir azalma gözlemlendi ($p<0,001$). Süpernatant IL-18 düzeyleri PCOS grubunda SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksekti ($p<0,001$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOM gruplarında süpernatant IL-18 düzeylerinde PCOS grubuna göre istatistiksel olarak bir azalma kaydedildi ($p<0,05$). PCOS hastalarında IL-18 düzeyi yüksek, insülin direnci, obezite ve hiperandrojenizm ile ilişkilidir. PCOS hastalarının foliküler sıvısında düşük dereceli inflamasyonun, PCOS semptomlarından biri olan anovulasyona neden olabilmektedir. Artan IL-18 düzeyi folikogenez, oosit kalitesi ve implantasyon üzerinde olumsuz etkilerine ek olarak foliküllerin olgunlaşamamasına neden olabilmektedir. Çalışmamızda IL-18 düzeylerinin PCOS grubunda yüksek tedavi gruplarında da düşük çıkması verdiğimiz tedavi ajanları Apigenin ve Chrysin'in anti-inflamatuar ve anti-diyabetik özellikleri insülin direncine etki ederek inflamasyonu azalttığını düşünmekteyiz.

IL-1 β , üreme fizyolojisinde önemli bir rol oynar ve kritik bir düzenleyici faktör olarak ovulasyon, fertilizasyon ve embriyo implantasyonunda rol oynar. Rostamtabara ve ark. obez olan PCOS hastalarında serumda daha yüksek IL-1 β düzeyine sahip olduklarını göstermiştir (245). Ayrıca IL-1 β 'nin obezite ile ilişkili olarak insülin direncinin gelişiminde rol oynadığını belirtmişlerdir. İnsülin sinyali iletiminin inhibisyonu yoluyla da IL-1 β 'nin adipoz dokuda insülin duyarlılığına zarar verdiğini göstermişlerdir. PCOS hastalarının çoğunda insülin direnci görüldüğünden IL-1 β ve PCOS arasındaki bu bağlantı olabilir. Lira-Albarran ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise IL-1 β lipoprotein lipaz ekspresyonu ile beraber adipoz doku farklılaşmasını baskılar. Ayrıca IL-1 β , yağ asidi translokaz ve yağ asidi

taşıma proteininin ekspresyonunu engelleyerek lipolizi uyarır ve lipogenezi engeller. Böylece, IL-1 β 'nın kilo alımının başlaması ve ilerlemesinde etkin bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. IL-1 β 'nın PCOS'lu hastaların serumlarında arttığı ve PCOS insidansı ile pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir (246). Çalışmamızda plazma IL-1 β düzeyleri SHAM grubuna göre PCOS ve PCOS+CH gruplarında istatistiksel olarak daha yüksek gözlemlendi ($p<0,001$). Tedavi uygulanan tüm gruplarda IL-1 β düzeylerinde PCOS grubuna kıyasla bir azalma gözlemlendi ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Süpernatant IL-1 β düzeyleri PCOS grubunda SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda süpernatant IL-18 düzeylerinde PCOS grubuna göre istatistiksel olarak bir azalma kaydedildi ($p<0,05$). IL-1 β düzeylerinde PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir azalma kaydedildi ($p<0,05$). Lira-Albarran ve ark.'nın yaptığı çalışmayla bizim çalışmamız paralellik göstermektedir. Kronik düşük dereceli inflamasyon IL-1 β aktivitesi PCOS oluşumuna katkı sağlayabilir. IL-1 β sadece overlerde steroidogenezin düzensizliğinde anahtar bir rol oynamanın dışında metabolik sendrom özelliklerini yani insülin direnci, tip 2 diyabetin gelişimine ve artışına neden olmaktadır.

IL-13, çoğunun aksine IL-4 ile paylaşılan değiştirici fonksiyonlara sahip bir sitokindir. Makrofajik ve lenfosit aktivasyonunu engelleyerek interferon aktivatör faktörlerini durdurur ve endotel (VCAM-1) üzerindeki adezyon moleküllerinin üretimini artırır, prostaglandin ve E2 üretimini aşağı düzenler. Gallinelli ve ark.'nın çalışmasında PCOS'lu kadınlarda sağlıklı kadınlara göre foliküler sıvılarında IL-13 seviyelerinde önemli bir düşüş (247) Papay ZE ve ark.'nın

çalışmasında ise artmış IL-13 düzeylerinin PCOS oluşumu ve gelişimi ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (248). Coşkun ve ark. (249) aslında olgunlaşmamış foliküllere göre foliküler dönemde daha düşük foliküler sıvıda IL-13 seviyelerine bakmışlar, oysa Gazvani ve ark. (250) foliküler sıvıda IL-13 varlığı ile döllenme başarısızlığı oranı arasında belirgin bir ilişki olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda plazma IL-13 düzeyleri PCOS indüklenmiş gruplarda SHAM grubuna göre istatistiksel daha olarak yüksekti ($p<0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna göre IL-13 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma kaydedildi ki en önemli azalış PCOS+AGN tedavisinin uygulandığı grupta gözlemlendi ($p<0,05$). Süpernatant IL-13 düzeyleri PCOS grubunda SHAM grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksekti ($p<0,001$). Tedavi ajanı uygulanan tüm gruplarda süpernatant IL-13 düzeylerinde PCOS grubuna kıyasla bir azalma kaydedildi ancak bu azalış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). PCOS’da IL-13 düzeyinin artmasına bağlı overlerde oositlerin olgunlaşması ve bu oositlerin niteliksiz olması yani döllenmenin başarısız olmasına bunların sonucunda da gebelik şansının da azalmasına neden olmaktadır.

IFN- γ , bakteriyel ve virüse karşı doğuştan veya sonradan kazanılan bağışıklık için önemli olan bir proinflatuvar sitokindir. IFN- γ , makrofajların önemli bir aktivatörü ve majör histo-uyumluluk kompleksi sınıf II molekül ekspresyonunun indükleyicisidir. IFN- γ , IL-12 ve IL-18 tarafından üretilir. IL-12 ve IL-18, doğuştan kazanılan bağışıklık reaksiyonunda IFN- γ üretimi ile enfeksiyonu bağlamak için bir köprü görevi görür (251). PCOS, proinflatuvar bir durumdur ve bu durum metabolik anormalliklerin, yumurtalık disfonksiyonunun gelişiminde kronik inflamasyonun büyük bir rolü vardır.

Overdeki üreme fonksiyonunu etkileyebilen iki önemli proinflamatuvar sitokin olan IL-6 ve IFN- γ PCOS'lu kadınların serumunda ve foliküler sıvısında yüksektir. Bu gözlemler doğrultusunda Li ve ark. yaptığı çalışmada PCOS'lu hastalarında infertil ve sağlıklı kadınlara göre IFN- γ dolaşımdaki proinflamatuvar sitokin olan IFN- γ düzeylerinde büyük oranda artış olduğunu saptamışlardır (252). Çalışmamızda, plazma IFN- γ düzeyleri de PCOS ile indüklenmiş tüm gruplarda SHAM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü ($p<0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla IFN- γ düzeylerinde bir artış saptandı ancak bu artış PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Süpernatant IFN- γ düzeyleri SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak daha düşüktü ($p<0,001$). Tedavi uygulanan gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla IFN- γ düzeylerinde bir artış saptandı ve bu tüm tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). IFN- γ 'ın PCOS'un over fonksiyonları üzerindeki rolü PI3K/Akt sinyal yolunu aktive ederek, IFN- γ 'nın etkisiyle overlerdeki granüloza hücrelerinin apoptozu desteklediğini söyleyebiliriz. Ayrıca IFN- γ PCOS teşhisi ve tedavisinde de yeni bir biyobelirteç olabileceğini düşünmektedir.

MDA, oksidatif stresin bir göstergesi olup lipid peroksidasyonunun bir son ürünüdür. MDA'da hidroksil radikalleri bulunur. Karabulut ve ark.'nın çalışmasında PCOS hastalarında serum MDA seviyelerinin kontrollere kıyasla yüksek olduğunu belirtmişlerdir (253). Aynı doğrultuda Desai ve ark. yaptığı çalışmada da Karabulut ve ark.'nın yaptığı çalışmayla paralellik göstermektedir (254). Yapılan bu çalışmalardaki bulgular diğer çalışmaları da desteklemektedir (255,256). MDA, PCOS hastalarında patolojik olan kronik oksidatif durumların bir

belirtisidir. PCOS ile beraber ortaya çıkan dislipidemi, insülin direnci, obezite ve en önemlisi olan hiperandrojenizm büyük bir oranla MDA seviyelerini artırır bu da serumdaki antioksidan enzim seviyelerini düşürmektedir (253,254). Obez olan PCOS hastalarındaki MDA'nın miktarı süregelen lipid peroksidasyonu dokulardaki hasarın boyutunu yansıtmaktadır. Obez olmayan PCOS hastalarında bile kontrole kıyasla MDA seviyeleri yüksek bulunmuştur (254,257). Ayrıca MDA seviyesinin yüksekliği kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olabilir. Çalışmamızda, plazma MDA düzeyi PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla artış bulunmuştur fakat bu artışta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p<0,05$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında ise PCOS grubuna kıyasla düşük fakat SHAM grubuna kıyasla yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($p<0,05$). Süpernatant MDA düzeyi SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Tedavi gruplarından PCOS+CH grubunun PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p<0,05$). PCOS+AGN ve PCOS+KOMBİN grubunda PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Bizim çalışmamızda da yapılan birçok çalışma ile benzer şekilde artışlar göstermektedir. PCOS hastalarının overlerindeki MDA seviyelerindeki artış östrojen seviyesi ile ters ilişkilidir. Bu, testosteron sentezi aşırı ROS üretimi ile hiperandrojenik durumdan sorumlu olduğunu göstermektedir. Granüloza hücrelerinde görülen hiperandrojenizm, PCOS'da lipid peroksidasyonunu artıran bir neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı koruyucu fizyolojik mekanizmalar, antioksidan savunmalarıdır. Antioksidanlar, ROS oluşumunu engelleyen veya

baskılayan bileşiklerdir. SOD, CAT ve GPx gibi enzimler içermektedir. PCOS'un temel özelliklerinden biri olan oksidatif stres, ROS'u inhibe edebilen PCOS patogeneğinde rol oynadığı bilinmekte ve PCOS tedavisinde de faydalı olabilmektedir. PCOS'da görülen hiperandrojenizm ve insülin direncinin antioksidan aktivitesini azalttığı bilinmektedir. Bu düşük antioksidan enzim seviyeleri PCOS'da oksidatif strese neden olmaktadır. ROS kadın üreme sisteminde rol oynamaktadır. Foliküler gelişiminde ve ovulasyon süresinde çok yüksek seviyede ROS üretilir ve bu üretilen ROS'un etkileri antioksidanlar sayesinde sıfırlanmaktadır. Ayrıca oksidatif stresin oosit ve embriyo kalitesini etkileyerek fertilizasyonu bozmaktadır (258).

SOD, antioksidan savunma mekanizmasının en güçlü enzimlerinden biridir. SOD, hücre içi iç dengeyi sağlamak için serbest radikalleri ve lipid peroksitleri temizleyen antioksidandır. Reaktif oksijen türlerine karşı savunma oluşturan SOD, süperoksidin bir ara ürünü olan H_2O_2 'e dönüşümünü sağlamaktadır (259). Sabatini L. ve ark. (260) yaptıkları çalışmada foliküler sıvıdaki SOD aktivitesinin PCOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre SOD aktivitesini düşük bulmuşlar fakat döllenme veya embriyo kalitesi üzerinde anlamlı bir etkisini tespit edememişlerdir. Çalışmamızda, plazma SOD aktivitesi PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla düşüktür ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Tedavi uygulanan PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarda ise PCOS grubuna kıyasla plazma SOD aktivitesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Süpernatant SOD aktivitesi SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak düşüktü ($p<0,001$), PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN grupları ise PCOS grubuna kıyasla PCOS+AGN ($p<0,05$) ve

PCOS+KOMBİN ($p<0,001$) grubunda istatistiksel olarak artış gözlenmiş, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu belirlenmiştir. Sabatini L. ve ark. yaptıkları çalışma ile bizim çalışmamız aynı doğrultudadır. Artan oksidatif stresin PCOS'un patofizyolojisinde yer alan SOD aktivitesini düşürdüğü bu durumda PCOS'un semptomları arasında görülen hiperandrojenizm ve insülin direncinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

CAT, H_2O_2 'yi H_2O ve oksijene kadar parçalayarak hücreleri ROS'a karşı korumaktadır. Böylece hücresel hasarını önler. Düşük CAT aktivitesine sahip bireylerde, diyabet, dislipidemi, damar sertliği ve nörodejeneratif hastalıklar gibi oksidatif strese bağlı birçok hastalık oluşmaktadır (261). Shenta ve ark. yaptığı çalışmada, PCOS hastaları ve kontrol grubu kıyaslandığında serum CAT aktivitelerinin PCOS hastalarında düşük olduğu görülmüştür (262). Çalışmamızda, plazma CAT aktivitesi PCOS ile indüklenen grup SHAM grubu ile kıyaslandığında düşüktür ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p<0,001$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında PCOS grubuna kıyasla plazma CAT aktivitesinde istatistiksel olmayan bir artış saptanmıştır. Süpernatant CAT aktivitesi SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak düşük bulundu ($p<0,05$). PCOS grubuna göre PCOS+AGN ve PCOS+CH gruplarında istatistiksel olarak artış gözlenmiştir. PCOS+KOMBİN grubunda PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Çalışmamız Shenta ve ark.'nın yaptığı çalışmayı destekler niteliktedir. PCOS hastalarında azalmış CAT aktivitesinin oksidatif stresin başlamasında anahtar bir rol oynadığı bilinmektedir.

GPx, H_2O_2 ve lipid peroksitlerini lipid alkoller ve suya kadar indirgeyen ve GSH'ı GSSH'a oksitleyen antioksidan enzimdir. Maha AH Süleyman ve ark.

çalışmalarında PCOS grubunun kontrol grubuna göre GPx aktivitesinin yüksek olduğu görülmüştür (263). Özer ve ark. çalışmalarında ise PCOS grubunun PCOS olmayan gruptakilerine kıyasla GPx düzeyleri de bir önceki çalışmadaki gibi yüksek bulunmuştur. Kontrol grubundaki GPx düşüklüğü GPx'in peroksitlere karşı daha yüksek çekim gücüne sahip ve bu nedenle üretilmiş olan radikallerin büyük birçoğunu temizleyip ortan kaldırmasından kaynaklanmaktadır. Bu da iki çalışmanın sonuçlarının birbiri ile uyumlu olduğunu kanıtlamaktadır (264). Sabuncu ve ark. yaptığı çalışmada ise GPx'in PCOS grubu ile kontrol grubu arasında bir farklılık göstermediğini öne sürmüştür. Bir ortamda H₂O₂ artışıyla GPx'in de artması beklenmektedir. Fakat PCOS görülen kadınlarda GPx aktivitesinin artmamasının nedeni GPx'in substrat olarak kullandığı GSH'nin düşük olmasından kaynaklanmaktadır (260). Çalışmamızda, plazma GPx aktivitesi PCOS ile indüklenen grupta SHAM grubuna kıyasla düşük bulundu ki bu da istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarında ise SHAM grubuna kıyasla serum GPx aktivitesinde artış gözlenmiştir. Bu artış PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN grupları için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Süpernatant GPx aktivitesi SHAM grubuna kıyasla PCOS grubunda istatistiksel olarak düşük bulundu. Fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildir. PCOS+AGN, PCOS+CH ve PCOS+KOMBİN gruplarının PCOS grubuna kıyasla istatistiksel olarak artış gözlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Yapılan diğer çalışmaların aksine çalışmamızda hem plazma hem de süpernatant GPx aktivitesinin GSH'nin düşük olmasından GPx aktivitesi de düşüktür. PCOS'da aşırı androjen üretilmesi daha fazla ROS

oluşumuna neden olmakta ve hücrelerin oksidatif hasardan korunmasında önemli bir rol üstlenen güçlü bir antioksidan olan GPx'in tüketilmesine neden olmaktadır. GPx'in azalmasının PCOS'da anovulasyona ve overlerde gözlenen inflamasyonun artışına neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında tedavi ajanı olarak kullandığımız Apigenin ve Chrysin'in tek tek ya da kombin olarak kullanmanın DHEA ile PCOS sonucu oluşan lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresi engellemek için antioksidan savunma sistemini aktif hale getirmekte, enzimatik yollardan daha çok nonenzimatik antioksidan yollar üzerinde terapötik bir etki gösterdiği şeklinde yorumlayabiliriz. Düşük antioksidan enzim seviyelerini PCOS görülen hastalarda artan oksidatif stresin zararlı etkilerine katkısı bulunabilir. PCOS görülen hastalarda oksidatif stres seviyesi artarken antioksidan kapasite de aynı ölçüde azalmaktadır.

Güçlü bir fito birleşen olan Apigenin anti-kanser, antiviral, antioksidan ve anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. Darabi ve ark. çeşitli özelliklere sahip olan apigenin kullanıldığı çalışmada PCOS grubunun kontrol grubuna kıyasla hipofiz bezi-yumurtalık hormonlarının düzeyinde önemli bir değişikliklere neden olabileceği sonucunu varılabilir. Apigenin anti-inflamatuvar özelliği sebebiyle de serum estradiol ve progesteron hormonlarının seviyelerinin normal sınırlara dönmesi, yumurtalık kistlerinde belirgin bir azalma ve korpus luteumdaki artışa bakıldığında yumurtlama sürecinin ve folikül oluşumu sağlamaktadır. Bu da Apigenin, PCOS'da görülen bazı semptomların azalmasında doğal bir ürün olarak kullanılabileceğini göstermektedir (225). Yine aynı çalışmada LH, LH/FSH oranının PCOS grubunda kontrol grubuna kıyasla azalma olduğu görülmüştür. Apigenin tedavi olarak kullanıldığı grupta toplam antioksidan kapasite ve SOD'da anlamlı

bir artış görülmesine rağmen birlikte azalmıştır. Ayrıca Apigenin glukoz ve lipid seviyesini değiştirebileceği böylece PCOS kadınlarda görülen semptomları indirgeyerek metabolik sendromun oluşumu önlemektedir. Yang ve ark. yaptığı çalışmada ise Apigenin metabolik sendrom üzerindeki koruyucu etkisi belirlenmiştir. Bu çalışmada ise insülin direncinde, glukoz ve lipid seviyesindeki önemli azalmayla birlikte oksidatif stresinde azalması Apigeninin birçok zararlı etkiyi önleyebileceği sonucuna varılmaktadır (265).

Chrysin'in Apigenin gibi birçok etkiye sahip bir biyoaktif flavonoiddir. Chrysin oksidatif stres, diyabet, obezite, kardiyovasküler birçok hastalık, alerjik reaksiyonlardan korunma ve anti-kanser olarak önemli birçok yararı vardır. Bilimsel hayvan modeli çalışmalarında olduğu gibi Saima ve ark. (266) yaptığı hayvan modeli çalışmalarında Chrysin'in üreme sağlığını artırmasının yanında birçok nörolojik ve karaciğeri koruyan işlevleri de kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızda PCOS patofizyolojisindeki çeşitli sinyal yolları, inflamasyon, büyüme mekanizmalarının yanında oksidatif stres mekanizmalarında yer alan parametreler üzerindeki Apigenin ve Chrysin'in etkisi bilimsel olarak ortaya koymaktadır. Çalışmamızın sonuçları önemli bir halk sağlığı sorunu olan PCOS tedavisindeki güncel yaklaşımların yeniden değerlendirilmesine, yeni ilaç geliştirme çalışmalarına katkı sağlayacağı ve modern tıp tedavi yöntemleri ile birlikte kullanılmasına öncülük edeceği düşünülmektedir. Farklı tedavi yöntemleri kullanacak olan benzer çalışmalara bağlı olarak Apigenin ve Chrysin'in yeni bir terapötik ajan olarak tedavide kullanılabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Hart R. Polycystic ovarian syndrome-prognosis and treatment outcomes. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2007; 19(6): 529-535
2. Azziz R, Carmina E, Dewailly D et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(11): 4237-4245
3. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PKOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovarysyndrome (PKOS). *Hum Reprod* 2004; 19: 41-7. (Abstract) / (Full Text) / (PDF)
4. IF Stein ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries *Am.J Obstet Gynecol*, 1935; 29: 181-191
5. Janet W. McArthur, Dr. Francis M. I Ingersoll, Jane Worchester, Dr.Ph. The urinary excretion of interstitial-cell and follicle-stimulating hormone activity by women with diseases of the reproductive system, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* , Cilt 18, Sayı 11, 1 Kasım 1958, Sayfa 1202–1215, <https://doi.org/10.1210/jcem-18-11-1202>
6. Yen SSC. The polycystic ovary sendrome. *Clin Endocrinol* 1980;12:177-181.
7. Carmina E, Lobo RA. PKOS: arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J. Clin Endocrinol Metabol*. 1999; 84(6): 1897-9
8. Huang A, Brennan K, Azziz R. Prevalence of hyperandrogenemia in the polycystic ovary syndrome diagnosed by the National Institutes of Health 1990 criteria. *Fertil Steril*, 2010; 93(6): 1938–41. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.12.138.
9. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PKOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2004; 81(1): 19–25. doi:10.1016/j.fertnstert.2003.10.004.
10. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PKOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*, 2009; 91(2): 456–88. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.06.035.
11. Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary I. Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;22:325-338.
12. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140:815-30.
13. Williamson K, Gunn AJ, Johnson N, Milsom SR. The impact of ethnicity on the presentation of polycystic ovarian syndrome. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2001; 41:202-6.
14. Carmina E, Koyama T, Chang L, Stanczyk FZ, Lobo RA. Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and İnsülin resistance in polycystic ovary syndrome *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167:1807-12.
15. Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary I. Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;22:325-338.

16. Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary I. Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;22:325-338.
17. Hull MGR. Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynecol endocrinol* 1987;1: 235
18. Balen AH, Tan SL, Jacobs HSWY. Hypersecretion of luteinising hormone: a significant cause of infertility and miscarriage. *BJOG* 1993; 1082-1085. 69
19. Curry TE, Dean DD, Sanders SL. The role of ovary proteases and their inhibitors in ovulation. *Steroids* 1989; 54: 501-521.
20. Speroff L., Glass RH, Kase NG, Franks S; CG EI : 12: 487-550.
21. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insülin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989; 38:1165-74.
22. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to İnsülin ratio is a useful measure of İnsülin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2694-8.
23. Speroff L, Glass R, Kase N. Anovulasyon ve PCOS. in: Erk A (ed.). *Klinik Jinekoloji Endokrinoloji ve İnfertilite*. istanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1996; 457-482
24. Chang RJ. Ovarian steroid secretion in PCOS. *Seminars Reprod Endocrinology* 1984;2:244-246
25. Gonzales F, Hatala DA, Speroff L. Basal and dynamic responses to gonadotropin releasing hormone agonist treatment in women with polycystic ovaries with high and low dehydroepiandrosterone sulphate levels. *Am J Obstet Gynec* 1991; 165: 535-541
26. Yen SSC. The PCOS. *Clinical Endoc* 1980; 12: 177-207
27. Rebor RW. Gonadotropin secretion in PCOS. *Seminars Reprod Endoc* 1984; 2:223
28. Waldstreicher J, Santoro NF, Hail JE, Filicori M. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with PCOS; indirect evidence of partial gonadotropin desensitization. *J Clin Endoc Metab* 1988; 66: 165-169
29. Rosenfield RL, Barnes RB, Cara JF, Lucky AW. Dysregulation of cytochrome P450 17a as the cause of PCOS. *Fertility & Sterility* 1990; 53: 785-791
30. Horton R, Hawks D, Lobo R. 3 alpha,17 beta –androstenediol glucuronide in plasma: A marker of androgen action in idiopathic hirsutism. *J Clin Invest* 1982;69:1203.
31. Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary I. Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab* 1961; 22:325-38.
32. Hollman , M, Runnebaum , B and Gerhard. Impact of waist-hip-ratio and body-mass-index on hormonal and metabolic parameters in young , obese women . *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 1997; 21:476-83.
33. Futterweit W. Polycystic Ovary Syndrome: Clinical Perspectives and Management. *Obstet Gynaecol Surv.* 1999; 54(6): 403-413
34. Hud JA Jr, Cohen JB, Wagner JM, et al. Prevalence and significance of acanthosis nigricans in an adult obese population. *Arch Dermatol* 128:941-944,1992.

35. Grasinger CC, Wild RA, Parker IJ. Vulvar acanthosis nigricans: A marker for Insulin resistance in hii'fute women. *Fertil Steril* 59:583-586,1993.
36. Chang RJ, Katz SE. Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28:397-407.
37. Kousta E, White DM, Cela E, et ali. The prevalence of polycystic ovaries in women with infertility. *Hum Reprod* 1999;14: 2720-2723.
38. Futterweit W. Polycystic Ovary Syndrome: Clinical Perspectives and Management. *Obstet Gynaecol Survey* 1999; 18: 403-413.
39. Speroff L, Glass RH, Kase NG;Clinical Gyneacologic Endocrinology and Infertility. Williams &Wilkins, Baltimore. First Edition, 1973; 256-257
40. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med.* 2010; 8:41
41. Silberstein SD, Merriam GR. Physiology of the menstrual cycle. *Cephalalgia.* 2000;20:148-154.
42. <http://courses.washington.edu/conj/bess/reproductive/pcos.htm>
43. Rebar R., Judd H.L., Yen S.S., et al: Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1976; 57:1320-1329.
44. Chang R.J., Mandel F.P., Lu J.K., et al: Enhanced disparity of gonadotropin secretion by estrone in women with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54:490-494.
45. Lobo R.A., Granger L., Goebelsmann U., et al: Elevations in unbound serum estradiol as a possible mechanism for inappropriate gonadotropin secretion in women with PCO. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52:156-158.
46. Speroff L, Fritz MA. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. Chapter 12 Anovulation and the Polycystic Ovary. 465-491
47. Speroff L, Fritz MA. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. Chapter 12 Anovulation and the Polycystic Ovary. 465-491
48. Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1158-65.
49. Nahum R, Thong KJ, Hillier SG. Metabolic regulation of androgen production by human thecal cells in vitro. *Hum Reprod* 1995; 10:75-81.
50. Moran C, Knochenhauer E, Boots LR, Azziz R. Adrenal androgen excess in hyperandrogenism: relation to age and body mass. *Fertil Steril* 1999; 71:671-4.
51. Yildiz BO, Woods KS, Stanczyk F, Bartolucci A, Azziz R. Stability of adrenocortical steroidogenesis over time in healthy women and women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5558-62.
52. Yildiz BO, Gedik O. Assessment of glucose intolerance and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2004; 8:649-56.

53. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18:774-800.
54. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 50:113-6.
55. Urbanek M. The genetics of the polycystic ovary syndrome. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007 Feb;3(2):103-11.
56. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramirez M, San Millan JL The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev*. 2005 Apr;26(2):251-82.
57. Menke MN, Strauss JF 3rd. Genetic approaches to polycystic ovarian syndrome. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2007 Aug;19(4):355- 359.
58. Kurzrock R, Cohen PR. Polycystic ovary syndrome in men: Stein- Leventhal syndrome revisited. *Med Hypotheses*. 2007;68(3):480-3.
59. Duskova M, Cermakova I, Hill M, Vankova M, Samalikova P, Starka L. What may be the markers of the male equivalent of polycystic ovary syndrome? *Physiol Res*. 2004;53(3):287-94.
60. Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(6):2100 4.
61. Jahanfar S, Eden JA, Warren PW, Seppala M, Nguyen TV. A twin study of PCOS. *Fertil Steril*. 1995; 63: 478-486
62. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramirez M, San Millan JL The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev*. 2005 Apr;26(2):251-82.
63. Dunaif A. Insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2006 Jul;86:13-4.
64. Unluturk U, Harmanci A, Kocafe C, Yildiz BO. The Genetic Basis of the Polycystic Ovary Syndrome: A Literature Review Including Discussion of PPARGgamma. *PPAR Res*. 2007 Feb 21;2007:49109
65. Yılmaz M, Bukan N, Ersoy R, Karakoç A, Yetkin İ, Ayvaz G, Cakir N. Glucose intolerance, insulin resistance and cardiovascular risk factors in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2005; 20: 2414-2415.
66. Sir-Peterman T, Angel B, Maliqueu M, Carvajal F. Prevalance of T2DM and insulin resistance in parents of women with polycystic ovary syndrome. *Diabetologia*. 2004; 45:959-964.
67. Yıldız BO, Yarahı H, Oğuz H, Bayraktar M. Glucose intolerance, insulin resistance and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with PCO. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(5): 2031- 2036.
68. Legro RS, Driscoll D, Strauss JF 3rd, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Dec 8;95(25):14956- 60.
69. Govind A, Obhrai MS, Clayton RN. Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant

- trait: analysis of 29 polycystic ovary syndrome and 10 control families. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Jan;84(1):38-43.
70. Legro RS, Strauss JF. Molecular progress in infertility: polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2002 Sep;78(3):569-76.
71. Diamanti-Kandarakis E, Piperi C. Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth. *Hum Reprod Update.* 2005;11(6):631-43.
72. Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update.* 2001;7(1):3-7.
73. Kent SC, Gnatuk CL, Kunselman AR, Demers LM, Lee PA, Legro RS. Hyperandrogenism and hyperinsulinism in children of women with polycystic ovary syndrome: a controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1662–1669.
74. Sam S, Coviello AD, Sung YA, Legro RS, Dunaif A. Metabolic phenotype in the brothers of women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 2008; 31:1237–1241.
75. Diamanti-Kandarakis E, Piperi C. Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth. *Hum Reprod Update.* 2005;11(6):631-43.
76. Legro RS, Strauss JF. Molecular progress in infertility: polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2002 Sep;78(3):569-76.
77. Unluturk U, Harmanci A, Kocafe C, Yildiz BO. The Genetic Basis of the Polycystic Ovary Syndrome: A Literature Review Including Discussion of PPARgamma. *PPAR Res.* 2007 Feb 21;2007:49109
78. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:165-9.
79. Yıldız BO, Yarı H, Oğuz H, Bayraktar M. Glucose intolerance, insulin resistance and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with PCO. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(5): 2031- 2036.
80. Weerakiet S, Srisombut C, Bunnag P, Sangtong S, Chuangsoongnoen N, Rojanasakul A. Prevalence of type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Asian women with polycystic ovary syndrome. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 75:177-84.
81. Kim JJ, Choi YM. Dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol Sci.* 2013, 56(3):137-142.
82. Talbott E, Clerici A, Berga SL, et al. Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic ovary syndrome: results of a case-control study. *J Clin Epidemiol* 1998;51(5):415-22. 36
83. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38(9):1165-74. 21.
84. Legro RS, Kunselman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 2001;111(8):607- 13.
85. Yıldız BO, Yarı H, Oğuz H, Bayraktar M. Glucose intolerance, insulin resistance and

hyperandrogenemia in first degree relatives of women with PCO. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(5): 2031- 2036.

86.Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:165-9.

87.Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update* 2001; 7:3-7.

88.Tsilchorozidou T, Overton C, Conway S.G. (2004). The Pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 1998; 1-28.

89. Ehrmann DA. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome. *Curr Diab Rep.*2002; 2: 71 - 6

90.Conway, G S, Agrawal, R, Betteridge, D J at al., ‘Risk factors for coronary heart diseases in lean and obese women with polycystic ovary syndrome’, *Clin Endocrinology* 37 (1992): 119-25.

91.Atiomo WU, El-Mahdi E, Hardiman P. Familial associations in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2003; 80(1): 143–145. doi:10.1016/S0015-0282(03)00502-8.

92.Daniilidis A, Dinas K. Long term health consequences of polycystic ovarian syndrome: a review analysis. *Hippokratia*, 2009; 13(2): 90–2.

93.Navaratnarajah r, pillay oc, hardiman p. polycystic ovary syndrome and endometrial cancer. *semin reprod med*, 2008; 26(1): 62–71. doi:10.1055/s-2007-992926

94.Jakimiuk AJ, Issat T. PCOS and cancer risk. *Folia Histochem Cytobiol*, 2009; 47(5): S101–5. doi:10.2478/v10042-009-0092-1.

95. Schildkraut J.M., Schwinl P.J., Bastos E., et al. Epithelial Ovarian Cancer Risk Among Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet Gynecol.* 1996; 88: 554-9.

96.Speroff L, Fritz M. A. Anovulasyon ve polikistik over (çeviri: Üstün M.). Erk A, Günel S. (Editörler). *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji İnfertilite* Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007 s.465 98.

97.McGoldrick J.A. 1981. Stein-Leventhal Syndrome complicated by endometrial carcinoma:a case report. *P N G Med* 24: 195-197

98.De Franca Neto AH, Rogatto S, Amorim MM, Tamanaha S, Aoki T, Aldrighi JM. Oncological repercussions of polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrino.* 2010, 26(10):701-711.

99.Chittenden BG, Fullerton G, Maheshwari A, Bhattacharya S. Polycystic ovary syndrome and the risk of gynaecological cancer: a systematic review. *Reprod Biomed Online.* 2009, 19(3):398- 405.

100.Fearnley EJ, Marquart L, Spurdle AB, et al. Polycystic ovary syndrome increases the risk of endometrial cancer in women aged less than 50 years: anAustralian case-control study. *Cancer Causes Control.* 2010, 21:2303-2308.

101. Gammon MD . Polycystic ovaries and the risk of breast cancer *Am J Epidemiol.*1991;134:818

102.Ciampelli M, Lanzone A. İnsülin and polycystic ovary syndrome : a new look at an old subject *GE* 1998 Aug; 12(4): 277-92.

103.Ciampelli M, Lanzone A. İnsülin and polycystic ovary syndrome : a new look at an old subject *GE*, 12(4), 277-92.

- 104.Schildkraut J.M., Schwinn P.J., Bastos E., et al. Epithelial Ovarian Cancer Risk Among Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet Gynecol.*1996; 88:554-9.
- 105.Ferriman D, Purdie AW. The inheritance of polycystic ovarian disease and a possible relationship to premature balding. *Clin Endocrinol* 1979;129: 291-300.
- 106.Mosher WD, Pratt WF, Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends, *Fertil Steril* 56: 192,1991
- 107.Balen AH, Tan SL, Jacobs HSWY. Hypersecretion of luteinising hormone: a significant cause of infertility and miscarriage. *BJOG* 1993; 1082-1085.
- 108.Curry TE, Dean DD, Sanders SL. The role of ovary proteases and their inhibitors in ovulation. *Steroids* 1989; 54: 501-521.
- 109.Speroff L., Glass RH, Kase NG, Franks S; CG EI : 12: 487-550.
- 110.Franks S, Stark J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 2008, 14(4):367-78.
- 111.Poretsky L. On the paradox of insulin-induced hyperandrogenism in insulinresistant states, *Endocr Rev.* 1991;12:3.
112. Kirschner MA, Samojik E, Drejda M, Szmaj E, Schneider G, Ertel N. Androgenestrogen metabolism in women with upper body versus lower body obesity. *J Clin Endocrinol Metab*,1990;70:473.
- 113.Ostlund Jr RE, Staten M, Kuhrt W, Schultz J, Malley M. The ratio of waistto- hip circumference, plasma insulin level, and glucose intolerance as independent predictors for the HDL2 cholesterol level in older adults. *New Engl.J Med.* 1990;322:229.
114. Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz WH. Long term morbidity and mortality of overweight adolescents: a follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935.*New Engl. J Med.* 1992;327:1350.
115. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Anovulation and The Polycystic Ovary. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.* 2005;2:465-91.
116. Alp B. Obezite ve tedavisi. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri Ltd. Şti,2002.
117. Dewailly D. Polycystic ovary syndrome. *J Gynecol Obstet.-* 2000;29(3):298-301.
118. Amato P, Simpson JL. The genetics of polycystic ovary syndrome. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2004;18(5):707–718.
119. Achard MC, Thiers MJ. Le virilisme pileux et son association a l'insuffisance glycolitique (diabete des femmes a barbe). *Bull Acad Nat Med* 1921;86:51- 85.
120. Kahn CR, Flier JS, Bar RS. The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans: Insulin receptor disorders in man. *N Engl J Med* 1976 ;294:739-45.
121. Barbieri RL. Hyperandrogenism, insulin resistance and acanthosis nigricans: 10 years of progress. *J Reprod Med* 1994;39:327-36.
- 122.Talbot JA, Bicknell EJ, Rajkhowa M. Molecular scanning of insulin receptor gene in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ;81:1979- 83.
- 123.Zacur HA. Polycystic ovary syndrome, hyperandrogenism and insulin resistance. *Obstet*

Gynecol Clin North Am .2001;28(1):21-33.

124. Barbieri RL, Makris A, Ryan KJ. Effects of insulin on steroidogenesis in cultured porcine ovarian theca. *Fertil Steril* 1983;40:237-241.

125. Ferrannini E, Vichi S, Beck-Nielsen H, Laakso M, Paolisso G, Smith U. European group for the study of insulin resistance (EGIR). Insulin action in age. *Diabetes* 1996;45:947-53.

126. Adashi EY, Hsueh AJW, Yen SSC. Insulin enhancement of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone released by cultured pituitary cells. *Endocrinology* 1981 ;108:1441-49.

127. Nestler JE, Jakubowicz OJ, Reamer P. Ovulatory and metabolic effects of D-chiroinositol in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1999; 340:1314-20.

128. Pao CJ, Farmer PK, Begovic S. Regulation of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein I gene transcription by hormones and provision of amino acids in rat hepatocytes. *Mol Endocrinol* 1993; 7:1561-68.

129. Laven JS, Imani B, Eijkemans MJ, Fauser BC. New approach to polycystic ovary syndrome and other forms of anovulatory infertility. *Obstet Gynecol Surv* 2002;57:755- 67.

130. Zhang B, Berger J, Hu E. Negative regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor alpha. *Mol Endocrinol* 1996;10:1457-66.

131. Ehrmann DA, Kasza K, Azziz R, Legro RS, Ghazzi MN; PCOS/Troglitazone Study Group. Effects of race and family history of type 2 diabetes on metabolic status of women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005; 90:66–71.

132. The Rotterdam ESHRE/ASRM – Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil. Steril.*, 2004; 81:19–25.

133. Hart R, Hickey M, Franks S. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2004; 18(5):671–683.

134. Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999; 84:165–169.

135. Ovensen P, Moller J, Ingerslev HJ. Normal basal and insulin-stimulated fuel metabolism in lean women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1993 ;77:1636-1640

136. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*. 1999;22:1462-70.

137. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2694-8. *J Aust.* 1998;169:537-540.

138. Hatun Ş. Çocukluk çağında obezite ve insülin rezistansı. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2003;7(2): 023-26.

139. Mather KJ, Hunt AE, Steinberg HO. Repeatability characteristics of simple indices of insulin resistance: implications for research applications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86:5457-64.

140. Gutt M, Davis CL, Spitzer SB. Validation of the insulin sensitivity index (ISI(0,120)) comparison with other measures. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000;47:177-84.
141. Hrebicek J, Janout V, Malincikova J. Detection of insulin resistance by simple quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI) for epidemiological assessment and prevention. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:144-47.
142. Kauffman RP, Baker VM, DiMarino P. Polycystic ovarian syndrome and insulin resistance in white and Mexican American women: a comparison of two distinct populations. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187: 1362-69.
143. Olijve W., De Boer W., Mulders JW, van Wezenbeek PM., Molecular biology and biochemistry of human recombinant follicle stimulating hormone (Puregon), *Molecular Human Reproduction*, 1996, vol.2 no.5 pp. 371-382.
144. <http://arbl.cvmbs.colostate.edu>
145. Can A., Kök Hücre Biyolojisi, Türleri ve Tedavide Kullanımı, 2014, Akademisyen Tıp Kitapevi, Ankara.
146. Franks S, Stark J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction Update.* 2008;14(4):367-378. DOI: 10.1093/humupd/dmn015
147. Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Human Reproduction.* 1994;9(2):188-191. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138480
148. Greisen S, Ledet T, Ovesen P. Effects of androstenedione, insulin and luteinizing hormone on steroidogenesis in human granulosa luteal cells. *Human Reproduction.* 2001;16(10):2061-2065. DOI: 10.1093/humrep/16.10.2061
149. Çolak A, Cengiz M. Lüteinleştirici hormon. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics* 1:19-25, 2015.
150. Hatipoğlu, T. Anatomi, 2, Ankara, Anatomi Hatipoğlu yayınları, 2003.
151. Rebor RW. Gonadotropin secretion in PCOS. *Seminars Reprod Endoc* 1984; 2: 223
152. Vardar MA., Çetin T., Burgut R., Demir C., 1993. Klorfen sitrat veya HMG/HCG ile indüklenen sikluslarda luteal fazın değerlendirilmesi: Kısa luteal faz, luteal faz yetmezliği. *Kadın Doğum Dergisi*; 9(2): 127-131.
153. Kim JY, Song H, Kim H, Kang HJ, Jun JH, Hong SR, Koong MK, Kim IS: Yol odaklı bir analiz ile transkripsiyonel profillemeye, polikistik yumurtalık sendromlu hastaların endometriyumundaki düzensiz moleküler fenotipleri tanımlar. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009, 94: 1416-1426. 10.1210/jc.2008-1612.
154. Moran C, Knochenhauer E, Boots LR, Azziz R. Adrenal androgen excess in hyperandrogenism: relation to age and body mass. *Fertil Steril* 1999; 71:671-4.
155. Gonzales F, Hatala DA, Speroff L. Basal and dynamic responses to gonadotropin releasing hormone agonist treatment in women with polycystic ovaries with high and low dehydroepiandrosterone sulphate levels. *Am J Obstet Gynec* 1991; 165: 535-541
156. Ferin M, Jewelewicz R, Warren M.P. The menstrual cycle: physiology, reproductive disorders

and infertility. Oxford University Press, New York, 1993.

157. Speroff L, Glass R, Kase N. Anovulasyon ve PCOS. in: Erk A (ed.). Klinik Jinekoloji Endokrinoloji ve İnfertilite. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1996; 457-482

158. Waldstreicher J, Santoro NF, Hail JE, Filicori M. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with PCOS; indirect evidence of

159. Seyhan A.İ., Stabil Anjina Pektorisli Erkek Hastalarda Serum Östradiol, Testosteron, Östradiol/Testosteron Düzeyinin Koroner Arter Hastalığı ile İlişkisi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2010, Mersin.

160. Emer E., Testosteron ve Dehidroepiandrosteronun Sıçanlarda Kalp Dokusu ve Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi, Ankara Üniversitesi Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2014, Ankara.

161. Griffin JE, Wilson JD. Disorders of the testis and the male and the male reproductive tract. In: Wilson JD et. Al. Williams textbook of endocrinology. 1998, Philadelphia, *WB Saunders Company* 819-875,.

162. William F. Review of Medical Physiology, 6th ed. London: *WB Saunders*, 1993: 391-94.

163. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4237-45.

164. Wehr E, Moller R, Horejsi R, Giuliani A, Kopera D, Schweighofer N, et al. Subcutaneous adipose tissue topography and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Wien Klin Wochenschr* 2009; 121:262-9

165. Bernichtein S, Touraine P, Goffin V. New concepts in prolactin biology. *Journal of Endocrinology* 206:1-11, 2010.

166. Nedim Ç, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi, 2, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2012.

167. Firth SM, Baxter RC. İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerin hücreyel etkileri. *Endocr Rev.* 2002; 23: 824–854.

168. Murphy LJ. İnsülin benzeri büyüme faktörlerinin ve bunların bağlayıcı proteinlerinin glikoz homeostazındaki rolü. *Exp Diabetes Res.* 2003; 4: 213–224.

169. Liu B, Lee HY, Weinzimmer SA, vd. İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 ile retinoid X reseptörü-alfa arasındaki doğrudan fonksiyonel etkileşimler, transkripsiyonel sinyalleme ve apoptozu düzenler. *J Biol Chem.* 2000; 275: 33607–33613.

170. Toth B, Hornung D, Scholz C, Djalali S, Friese K, Jeschke U. Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptörler: üreme alanındaki yeni oyuncular. *Am J Reprod Immunol.* 2007; 58: 289–310.

171. Ben-Ami I, Armon L, Freimann S, vd. (2009). "İnsan korpus luteumunda LH aracılığıyla EGF benzeri büyüme faktörleri". *Hum. Reprod.* 24 (1): 176–84. doi : 10.1093 / humrep / den359 . PMID 18835871 .

172. Chabot JG, Walker P, Pelletier G. Distribution of epidermal growth factor binding sites in the

- adult rat anterior pituitary gland. *Peptides*. 1986b; 7(1):45-50.
173. Artini PG, Monteleone P, Toldin MRP, Matteucci C, Ruggiero M, Cela V, Genazzani AR. Growth factors and folliculogenesis in polycystic ovary patients. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2007;2:215–223.
174. Buckler HM, Healy DL, Burger HG. Purified FSH stimulates inhibin production from the human ovary. *J Endocrinol* 1989;122: 279-285.
175. Hsueh AJV, Dahl KD. Heterodimers and homodimers of inhibin subunits have different paracrine action of inhibin subunits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:5082-5088.
176. Walter, Robin; Murasko, Donna M.; Sierra, Felipe (1998). "T-Kininogen, sıçanlarda yaşlanmanın biyobelirteçidir". *Yaşlanma ve Gelişim Mekanizmaları*. 106 (1–2): 129–144
177. Colman, Robert W. (2001-01-06). "Yüksek Moleküler Ağırlıklı Kininojenin Hafif Zincirinin Yapışma, Hücre İle İlişkili Proteoliz ve Anjiyogenezdeki Rolü". *Biyolojik Kimya*. 382 (1): 65–70.
178. Nolan KF, Greaves DR, Waldmann H (Temmuz 1998). "İnsan interlekin 18 geni IL18, 11q22.2-q22.3'e eşlenir, DRD2 gen lokusuna yakından bağlıdır ve eşlenmiş IDDM lokuslarından farklıdır". *Genomik*. 51 (1): 161–3. doi : 10.1006 / geno.1998.5336 . PMID 9693051.
179. Nakamura K, Okamura H, Wada M, Nagata K, Tamura T (Şubat 1989). "Gama interferon üretimini uyaran endotoksin kaynaklı serum faktörü". *Enfeksiyon ve Bağışıklık*. 57 (2): 590–5. doi : 10.1128 / IAI.57.2.590-595.1989 . PMC 313137 . PMID 2492265.
180. Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H (Şubat 2019). "Sağlık ve Hastalıkta İnterlekin-18". *Uluslararası Moleküler Bilimler Dergisi*. 20 (3): 649. doi : 10.3390/ijms20030649 . PMC 6387150 . PMID 30717382 .
181. Baker KJ, Houston A, Brint E (2019). "Kanserde IL-1 Aile Üyeleri; Her Hikayenin İki Tarafı". *İmmünolojide Sınırlar*. 10:1197. doi : 10.3389/fimmu.2019.01197 . PMC 6567883 . PMID 31231372 .
182. "Entrez Gene: IL18 interlekin 18 (interferon-gamma-indükleyici faktör)".
183. Long X, Li R, Yang Y, Qiao J (2017) Overexpression of IL-18 in the proliferative phase endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *Reprod Sci* 24:252–257. <https://doi.org/10.1177/1933719116653681>
184. Rael EL, Lockey RF (2011). "İnterlekin-13 sinyalizasyonu ve astımdaki rolü". *Dünya Alerji Örgütü Dergisi*. 4(3):5464. doi:10.1097/WOX.0b013e31821188e0 PMC 3651056 . PMID 23283176.
185. Gallinelli A, Ciaccio I, Giannella L, Salvatori M, Marsella T, Volpe A. Polikistik over sendromu olan ve olmayan kadınların foliküler sıvısındaki interlekin-12 ve interlekin-13 konsantrasyonları ve lenfosit alt grupları arasındaki ilişkiler. *Fertil Steril* 2003; 79: 1365-1372.
186. Barksby H E, L ea S R, P reshaw P M, T aylor J J, 2 007: T he expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin Exp Immunol*, 149(2), 217-225.
187. Jager J, Grémeaux T, Cormont M, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF, 2007: Interleukin-1beta-induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1

expression. *Endocrinology*, 148(1), 241-251

188. Kolbus A, Walch K, Nagele F. Interleukin-1 alpha but not interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Immunol* 2007; 73: 188-193.

189. Schoenborn JR, Wilson CB (2007). "Doğuştan Gelen ve Adaptif Bağışıklık Tepkileri Sırasında İnterferon - γ Düzenlenmesi". Doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık tepkileri sırasında interferon-gama düzenlenmesi. İmmünolojideki Gelişmeler. 96. s. 41–101. doi : 10.1016/S0065-2776(07)96002-2 . ISBN'si 978-0-12-373709-0. PMID 17981204 .

190. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010;42(10):1634–1650.

191. Munakata Y, Kawahara-Miki R, Shiratsuki S, et al. Gene expression patterns in granulosa cells and oocytes at various stages of follicle development as well as in in vitro grown oocyte-and-granulosa cell complexes. *J Reprod Dev*. 2016;62(4):359–366.

192. Mikaeili S, Rashidi BH, Safa M, et al. Altered FoxO3 expression and apoptosis in granulosa cells of women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;294(1):185–192.

193. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006; 160:1-40.

194. Agarwal Ashok, Aponte-Mellado Anamar, J Premkumar Beena, Shaman Amani and Gupta Sajal Gupta. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. Agarwal et al. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2012, <http://www.rbej.com/content/10/1/49>

195. Bayraktar M, Kılıç S, Özdemir Ğ, Aydemir S, Ulu R, The Investigation of Serum Malondialdehyde Levels and Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Hypertension Patients. *J Healt Sci*. 2005; 14: 76-81.

196. Nicholls P, Fita I, Loewen PC, Enzymology and Structure of Catalases. *Advances in Inorganic Chemistry* 2000;51: 51-106.

197. Burk RF, Nishiki K, Lawrence RA, Chance B. Peroxide removal by selenium-dependent and selenium-independent glutathione peroxidases in hemoglobin-free perfused rat liver. *J Biol Chem*. 1978; 253:43-46.

198. Mates JM, Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci*1999; 4: 339–345.

199. Esterbauer H, Cheeseman KM, Dianzani MU, Poli G, Slater TF. Seperation and characterization of the aldehydic products of lipid peroxidations stimulated in rat liver microsomes. *Biochem J*. 1982; 208: 129-140.

200. Bolaman Z, Demir S, Köseoğlu MH, Enli Y, Kadıköylü G, Aslan D. Multipl myelomalı hastalarda lipid peroksidasyonu (ön çalışma). *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2000; 1:13-201. Catarino, DM; AlvesSilva, J.; Pereira, RO; Cardoso, Flavonların MS Antioksidan Kapasiteleri ve Oksidatif-Stresle İlgili Hastalıklarda Faydaları. *Tıbbi Kimyada Güncel Konular* 2015, 15, 105 – 119.

202. Wen, W.; Li, D.; Li, X.; Gao, Y.; Li, W.; Li, H.; Yan, J. Mısır Çekirdeğinin Metabolom Tabanlı Genom Çapında Dernek Çalışması Yeni Biyokimyasal İçgörülere Yol Açıyor. *Nature*

Communications 2014, 5, 1 – 10,

203. Dimitrios, B. Doğal Fenolik Antioksidanların Kaynakları. Gıda Bilimi ve Teknolojisindeki Trendler 2006, 17, 505 – 512.

204. Fatima Q, Amin S, Kawa IA, et al. Polikistik over sendromlu (PKOS) kadınlarda hormonal ve insülin parametreleriyle ilişkili olarak antioksidan savunma belirteçlerinin değeriendirilmesi: bir vaka kontrol çalışması. Diabetes Metabol Syndr Clin Res Rev. 2019 ;13(3): 1957 – 1961.

205. Panti AA, Shehu C, Saidu Y, et al. Polikistik over sendromu (PCOS) olan hastalarda oksidatif stres ve antioksidan takviyesinin sonucu. Int J Reprod Kontrasepsiyon Obstet Gynecol. 2018 ;7: 1667 – 1672.

206. Lakhanpal P, Rai DK. Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update* 2007;2: 22-37.

207. Ciftci O, Ozdemir I, Aydin M, Beytur A. Beneficial effects of chrysin on the reproductive system of adult male rats. *Andrologia*. 2012;44:181-186.

208. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein Measurements with the Folin Fenol Reagent. *J. Biol. Chem* 1951; 193(1): 265-75.

209. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal. Biochem* 1979; 95(2): 351-358.

210. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry* 1988; 34(3): 497-500.

211. Aebi H. Catalase ün: Buergmeyer U (eds). *Method of enzymatic analysis*. New York and London Academic Press 1974: 673-677.

212. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158–169.

213. Mazaud S, Guigon CJ, Lozach A, Coudouel N, Forest MG, Coffigny H, Magre S. 2002. Establishment of the reproductive function and transient fertility of female rats lacking primordial follicle stock after fetal gamma-irradiation. *Endocrinology* 143:4775 4787.68:847–849.

214. Ding DC, Chen W, Wang JH, Lin SZ. Polikistik over sendromu ile endometriyal, yumurtalık ve meme kanseri arasındaki ilişki: Tayvan'da popölasyona dayalı bir kohort çalışması. *Tıp (Baltimore)*. 2018 Eylül; 97 (39):e12608.

215. Mesbah, F., et al., Does metformin improve in vitro maturation and ultrastructure of oocytes retrieved from estradiol valerate polycystic ovary syndrome-induced rats. *Journal of ovarian research*, 2015. 8(1): p. 74.

216. Homa, L.D., et al., Voluntary exercise improves estrous cyclicity in prenatally androgenized female mice despite programming decreased voluntary exercise: implications for polycystic ovary syndrome (PCOS). *Endocrinology*, 2015. 156(12): p. 4618-4628.

217. Rençber Selenay Furat, Özbek Sema Kurnaz, Eraldemir Ceyla, Sezer Zehra, Kum Tuğba, Ceylan Süreyya, Güzel Elif. Effect of resveratrol and metformin on ovarian reserve and ultrastructure in PCOS. doi:10.1186/s13048-018-0427-7

218. Hsieh M, Zamah AM, Conti M. Epidermal growth factor-like growth factors in the follicular fluid: role in oocyte development and maturation. *Semin Reprod Med* 2009; 27:52-61.
219. Kumar T. Rajendra. FSH Ekstragonadal Eylemleri: Yeni Genetik Modeller İçin Kritik Bir İhtiyaç 2017; 2017- 03118 Lakhanpal P, Rai DK. Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update* 2007;2: 22-37.
220. Allen JJ, Herrick SL, Fortune JE. Regulation of steroidogenesis in fetal bovine ovaries: differential effects of LH and FSH. *J Mol Endocrinol* 2016; 57:275-286.
221. Tessaro, I., et al., *Effect of oral administration of low-dose follicle stimulating hormone on hyperandrogenized mice as a model of polycystic ovary syndrome*. *Journal of ovarian research*, 2015. 8(1): p. 64.
222. Catteau-Jonard Sophie, Brunel Anne, Dumont Agathe, Robin Geoffroy, Pigny Pascal, Dewally Didier. Serum FSH level is lower in dysovulating than in ovulating non-PCOS obese women independently of body mass index. September 2019, pages 225-228
223. Doldi Nicola, Gessi Alessandra, Destefani Alessandro, Calzi Federico and Ferrari Augusto, Polycystic ovary syndrome: anomalies in progesterone production, *Human Reproduction* vol.13 no.2 pp.290-293, 1998.
224. Shaoyan Zheng, Yanxia Chen, Mingying Ma, Miaoxia Li. Mechanism of quercetin on the improvement of ovulation disorder and regulation of ovarian CNP/NPR2 in PCOS model rats. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2021.08.015>
225. Darabi P, Khazali H, Mehrabani Natanzi M. Therapeutic potentials of the natural plant flavonoid apigenin in polycystic ovary syndrome in rat model: via modulation of pro-inflammatory cytokines and antioxidant activity. *Gynecol Endocrinol*. 2019;1-6.
226. Isordia-Salas Irma , Sainz Irma M , Pixley Robin Bir , Martínez-Murillo Carlos , Colman Robert W. High molecular weight kininogen in inflammation and angiogenesis: a review of its properties and therapeutic applications. Nov-Dec 2005;57(6):802-13.
227. Rehman MU, Tahir M, Khan AQ et al. Chrysin suppresses renal carcinogenesis via amelioration of hyperproliferation, oxidative stress and inflammation: plausible role of NF-κB. *Toxicol Lett* 2013; 216: 146-158.
228. Zheng Q, Zhou F, Cui X et al. Novel Serum Biomarkers Detected by Protein Array in Polycystic Ovary Syndrome with Low Progesterone Level. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(6):2297-2310.
229. Rehman MU, Tahir M, Khan AQ et al. Chrysin suppresses renal carcinogenesis via amelioration of hyperproliferation, oxidative stress and inflammation: plausible role of NF-κB. *Toxicol Lett* 2013; 216: 146-158.
230. Tsigkou A, Luisi S, De Leo V, Patton L, Gambineri A, Reis FM, Pasquali R, Petraglia F. High serum concentration of total inhibin in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2008;90:1859-1863.
231. Dafopoulos K, Venetis C, Messini CI, Pournaras S, Anifandis G, Garas A, Messinis IE. Inhibin secretion in women with the polycystic ovary syndrome before and after treatment with progesterone. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;9: 59-963.
232. Boney CM, Moats-Staats BM, Stiles AD, D'Ercole AJ. Expression of insulin-like growth

factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins during adipogenesis. *Endocrinology* 1994;135:1863-1868.

233. Wabitsch M, Heinze E, Debatin KM, Blum WF. IGF-I and IGFBP-3 expression in cultured human preadipocytes and adipocytes. *Horm Metab Res* 2000;32:555-559.

234. Chan SS, Twigg SM, Firth SM, Baxter RC. Insulin-like growth factor binding protein-3 leads to insulin resistance in adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6588-6595.

235. Lee Hyejin, Oh Jee-Young, and Sung Yeon-Ah. Adipokines, insulin-like growth factor binding protein-3 levels, and insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Korean J Intern Med* 2013;28:456-463 .<http://dx.doi.org/10.3904/kjim.2013.28.4.456>.

236. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Molecular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Trends in molecular medicine*. 2006;12(7):324-32.

237. Taylor Ann E. Polycystic Ovary Syndrome *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998; 27: 877-903

238. Barnes R, Rosenfield R L. The Polycystic Ovary Syndrome: Pathogenesis and Treatment. *Ann intern Med* 1989; 110: 386-399.

239. Speroff L, Glass RH, Kase NG; Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Williams & Wilkins, Baltimore. First Edition, 1973; 256-257

240. Gayoso-Diz P, Otero-González A, Rodríguez-Alvarez MX, Gude F, García F, De Francisco A, et al. Genel yetişkin popülasyonunda insülin direnci (HOMA-IR) eşik değerleri ve metabolik sendrom: cinsiyet ve yaşın etkisi: EPIRCE kesitsel çalışma. *BMC Endok Bozukluğu*. 2013; 13 :47-56.

241. Traub ML. Polikistik over sendromlu kadınlarda insülin direncinin değerlendirilmesi ve tedavisi. *Dünya J Diyabet*. 2011; 2 :33-40.

242. Wongwanaruk T, Rattanachaiyanont M, Leerasiri P, Indhavivadhana S, Techatraisak K, Angsuwathan S, et al. Polikistik over sendromlu üreme çağındaki Taylandlı kadınlarda glukoz intoleransının tespiti için homeostatik ölçüm değerlendirmesi-insülin direncinin (HOMA-IR) faydası. *Int J Endokrinol*. 2012; 2012 :571035-571041.

243. Murri M, Luque-Ramírez M, Insenser M, Ojeda-Ojeda M, Escobar-Morreale HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013; 19(3):268-88. <https://doi.org/10.1093/humupd/dms059>.

244. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweil W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*, 2009; 91(2): 456-88. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.06.035.

245. Rostamtabara Maryam, Esmaeilzadeh Sedighe, Karkhaha Ahmad, Amiri Mania, Rahmani Abolfazl, Bakouei Fatemeh, Nourib Hamid Reza. Elevated expression of IL-18 but not IL-1 β gene is associated with NALP3 and AIM2 inflammasome in Polycystic Ovary Syndrome. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144352>

246. Lira-Albarrán S, Larrea-Schiavon MF, González L et al. The effects of levonorgestrel on FSH-

stimulated primary rat granulosa cell cultures through gene expression profiling are associated to hormone and folliculogenesis processes. *Mol Cell Endocrinol* 2017; 439:337-345.

247. Gallinelli A, Ciaccio I, Giannella L, et al. Correlations between concentrations of interleukin-12 and interleukin-13 and lymphocyte subsets in the follicular fluid of women with and without polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 79:1365-1372.

248. Pápay ZE, Kósa A, Böddi B et al. Study on the Pulmonary Delivery System of Apigenin Loaded Albumin Nanocarriers with Antioxidant Activity. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2017;30(4):274-288

249. Coskun S, Uzumcu M, Jaroudi K, Hollanders JM, Parhar RS, Sedairy ST. Presence of leukemia inhibitory factor and interleukin-12 in human follicular fluid during follicular growth. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40:13–8.

250. Gazvani MR, Bates M, Vince G, Christmas S, Lewis-Jones DI, Kingsland C. Follicular fluid concentrations of interleukin-12 and interleukin- 8 in IVF cycles. *Fertil Steril* 2000;74:953–8.

251. Golab, J., Zagozdzon, Stoklosa, T., Kaminski, R., Kozar, K., Jakobisiak, M. (2000) Direct stimulation of macrophages by IL-12 and IL-18—a bridge too far? *Immunol. Lett.* **72**, 153–157.

252. Li Hongliang Li, Guo Yankai , Deng Jieli , Fischer Hayley, Weedin Elizabeth A., Burks Heather R., Craig LaTasha B., Yu Xichun. Increased testosterone and proinflammatory cytokines in patients with polycystic ovary syndrome correlate with elevated GnRH receptor autoantibody activity assessed by a fluorescence resonance energy transfer-based bioassay, <https://doi.org/10.1007/s12020-021-02761-7>, *Endocrine* (2021) 74:163–171.

253. Karabulut AB, Cakmak M, Kiran RT, Sahin I. Oxidative stress status, metabolic profile and cardiovascular risk Vol. 62, No. 5, 2019 factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Med Sci (Turkey)* 2012;1:27-34.

254. Desai V, Prasad NR, Manohar SM, Sachan A, Narasimha SR, Bitla AR. Oxidative stress in non-obese women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Diagn Res* 2014;8:CC01-03.

255. Sabuncu T, Vural H, Harma M, Harma M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clin Biochem* 2001;34:407-13.

256. Zhang D, Luo WY, Liao H, Wang CF, Sun Y. The effects of oxidative stress to PCOS. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2008;39:421-3.

257. Kuşçu NK, Var A. Oxidative stress but not endothelial dysfunction exists in non-obese, young group of patients with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009; 88:612-7.

258. Hong, Y., et al., 2019. The flavanone, naringenin, modifies antioxidant and steroidogenic enzyme activity in a rat model of letrozole-induced polycystic ovary syndrome. *Med. Sci. Mon. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 25, 395–401. <https://doi.org/10.12659/ msm.912341>.

259. Usuh I, Akpan E, Etim E, Farombi E. *Pak J Nutr.* 2005;4(3):135–41.

260. Sabatini L, Wilson C, Lower A, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. Superoxide dismutase activity in human follicular fluid after controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1999;72(6):1027–34.

261. Yuan Sun, Suiyan Li, Hongwei Liu, Yan Gong, Huai Bai, Wei Huang, Qingqing Liu, Linbo

Guan and Ping Fan. Association of GPx1 P198L and CAT C-262T Genetic Variations With Polycystic Ovary Syndrome in Chinese Women. doi: 10.3389/fendo.2019.00771.

262. Ashwaq Shenta, Khansaa Saud, Ali Al-Shawi. Assessment the Correlations of Hormones, Lipid Profiles, Oxidative Stress, and Zinc Concentration in Iraqi Women with Polycystic Ovary Syndrome. Reports of Biochemistry & Molecular Biology. Vol.9, No.3, Oct 2020

263. Maha AH Süleyman , Yahya M Al-Farsi , Maha M Al-Khaduri , Jumana Saleh , Mostafa I Waly . Polikistik over sendromu, Ummanlı kadınlarda artan oksidatif stres ile bağlantılıdır. Int J Kadın Sağlığı. 2018; 10: 763-771.doi: 10.2147/IJWH.S166461

264. Özer A, Bakacak M, Kıran H, et al. Polikistik over sendromunda artan oksidatif stres insülin direnci ve infertilite ile ilişkilidir. Ginekol Pol. 2016; 87 (11):733–738.

265. M. Yang, Z.H. Jiang, C.G. Li, Y.J. Zhu, Z. Li, Y.Z. Tang, Apigenin prevents metabolic syndrome in high-fructose diet-fed mice by Keap1-Nrf2 pathway, Biomed. Pharma- cother. 105 (2018) 1283–1290.

266. Saima Naz, Muhammad Imran, Abdur Rauf, Ilkay Erdogan Orhan, Mohammad Ali Shariati, Iahtisham-Ul-Haq, Iqra Yasmin, Muhammad Shahbaz, Tahira Batool Qaisrani, Zafar Ali Shah, Sergey Plygun, Mojtaba Heydari; Chrysin: Pharmacological and therapeutic properties, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116797>