

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

**SIÇAN POLİKİSTİK OVER SENDROMU MODELİNDE  
METFORMİN VE PİOGLİTAZONUN YUMURTA KALİTESİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Sema YILMAZ**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Ebru ÇELİK KAVAK**

**ELAZIĞ  
2017**

## **DEKANLIK ONAYI**

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

**DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

---

**Doç. Dr. Salih Burçin KAVAK**

**Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı**

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

---

**Yrd. Doç. Dr. Ebru ÇELİK KAVAK**

**Danışman**

**Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri**

.....

.....

.....

.....

.....

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım ve uzmanlık tezimde büyük destek ve katkısı olan tez danışmanım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Ebru ÇELİK KAVAK'a,

Her konuda desteklerini esirgemeyen, deneyim ve yardımları ile bu alanda yetişmemde katkısı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet ŞİMŞEK, Doç.Dr. Salih Burçin KAVAK, Doç.Dr. Alparslan AKYOL, Doç.Dr. Remzi ATILGAN, Yrd. Doç. Dr. M. BAŞPINAR, Yrd. Doç.Dr. Şehmus PALA, Yrd. Doç. Dr. Şeyda YAVUZKIR'a

Tezimin her aşamasında tasarımı ve sürdürülmesi, materyal temini, preperat değerlendirilmesi, istatistik aşamasında bana yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı başkanı değerli hocam Doç. Dr. Ebru ETEM ÖNALAN'a, tüm Tıbbi Biyoloji Bölümü çalışanlarına, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Nevin KOCAMAN'a,

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalında birlikte çalıştığım araştırma görevlisi, hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Yoğun çalışma sürecimde sonsuz sevgi ve ilgileri ile her zaman yanımda olan ve destekleri ile bana hayat boyu güç veren sevgili aileme

Sonsuz teşekkür ederim.....

## ÖZET

Polikistik over sendromu (PKOS) doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık gözlenen hormonal bozukluktur. Özellikle obezite PKOS hastalarının büyük bir kısmına sıklıkla eşlik eder ve kilo artışının yumurta kalitesi üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda testosteron propionat ve yüksek yağ diyeti ile oluşturulan sıçan PKOS modelinde hormonal parametreler ve yumurta gelişiminde görevli gen ifadeleri üzerine metformin ve pioglitazonun monoterapilerinin ve bunların kombinasyon tedavilerinin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada toplam 50 adet 21 günlük Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar her biri 10 denek içeren 5 gruba ayrıldı. Gruplar kontrol, PKOS PKOS+Metformin, PKOS+Pioglitazon ve PKOS+Metformin+ Pioglitazon grubu olarak belirlendi. Sıçanlara PKOS oluşturulması amacıyla 90 gün boyunca 10mg/kg/gün testosteron propionat + %60 yağlı diyeti uygulandı. Tedavi gruplarına son 1 ay süresince 300 mg/kg/gün metformin ve 30 mg/kg/gün Pioglitazon oral gavaj ile verildi. 90 gün sonunda dekapitasyonun ardından sıçanların over dokuları alınarak histolojik ve moleküler genetik analizler için saklandı. Dekapitasyon sırasında alınan serum örneklerinde ise rutin hormon profili, glukoz, kolesterol, HDL, VLDL ve trigliserit düzeyleri ölçüldü. SYCP2, CYBB, GADD45A, BAX, FAS, FASL, BCL2L1, CASP2, BIRC2 BECN1, VEGFA, GAP43, MAPK1 genleri qRT-PCR metodu ile analiz edildi.

Kontrol grubuna göre PKOS grubunda progesteronun anlamlı olarak azaldığı ve testosteronun anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Yine kontrol grubuna göre PKOS grubunda glukoz düzeylerinin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. PKOS grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında sadece pioglitazon grubunda testosteron düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Histolojik olarak PKOS grubunda kistik follikül yapılarının arttığı ilaç tedavilerinin kistik follikül sayısını azalttığı ancak ilaç tedavilerinin bu açıdan birbirlerine üstünlüklerinin olmadığı belirlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm PKOS gruplarında OLR1583 ve Bcl2L1 genlerinin anlamlı olarak attığı, SYCP2, CYBB, GADD45A, BAX ve FasL genlerinin anlamlı olarak azaldığı belirlendi.

Çalışmamız obez PKOS modelinde metformin ve pioglitazon tedavilerinin etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. İlaçların özellikle ovarian morfoloji ve hormon

profilleri üzerinde oldukça önemli iyileştirici etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Her ne kadar histolojik bulgular tedavilerin ovarian morfoloji üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu gösterse de moleküler genetik analizler bu bulguları desteklememiştir. Mayozda görevli SYCP2, mitokondride solunum reaksiyonlarında görevli CYBB, genomda tamirden sorumlu olan Gadd45A gen ifadelerindeki azalma tedavi gruplarında da devam etmiştir. Proapoptotik genlerden olan BAX ve FASL gen ifadelerinin kontrole göre PKOS grubunda anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Bununla beraber antiapoptotik genlerden BCL2L1 gen ifadesinin ise kontrole göre anlamlı oranda artması artmış bir apoptozisi desteklememektedir. Tam tersine PKOS grubunda apoptozisin azaldığı ancak tedavi gruplarında bu azalmanın normalleştiği gözlemlenmektedir. Özellikle bu genlerin overdeki fonksiyonunun ortaya konacağı daha detaylı moleküler genetik analizlerin yapılmasına ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** polikistik over sendromu, metformin, pioglitazon, yumurta kalitesi

## ABSTRACT

### THE INVESTIGATION OF THE EFFECT OF METFORMIN AND PIOGLITAZON ON THE OVUM QUALITY IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME RAT MODEL

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common hormonal disorder among women of reproductive age. Particularly obesity is a serious problem in a large proportion of PCOS patients and the effects of weight gain on ovum quality are not fully determined. In our study, we aimed to investigate the effects of monotherapy and combination therapy of metformin and pioglitazone on hormonal parameters and gene expressions in ovum development in rat which PCOS model was produced with testosterone propionate and high fat diet.

In this study, 50 female Wistar Albino rats aged 21 days were used. These fifty female rats were divided into five experimental groups with ten rats in each group including control group, PCOS group (i.m injection of 10 mg/kg/day testosterone propionat and % 60 fat diet for 90 days), PCOS + metformin treated (300 mg/kg/day for 30 days), PCOS + pioglitazone treated (30 mg/kg/day, for 30 days), PCOS + metformin + pioglitazone treated. After decapitation at the end of 90 days, the ovarian tissues of the rats were removed and it is retained for histological and molecular genetic analysis. Routine hormone profile, glucose, cholesterol, HDL, VLDL and triglyceride levels were measured in serum samples. SYCP2, CYBB, GADD45A, BAX, FAS, FASL, BCL2L1, CASP2, BIRC2 BECN1, VEGFA, GAP43, MAPK1 genes were analyzed by qRT-PCR.

Plasma progesterone level significantly decreased and testosterone significantly increased in the PCOS induced rats when compared with control group. Glucose levels in the PCOS group were also significantly increased. When the treatment groups were compared with the PCOS group, testosterone were significantly decreased only in the pioglitazone group. Histologically, it was observed that cystic follicular structures were increased in PCOS group. Treatment of PCOS rats with metformin and pioglitazone resulted in reduction of the number of cystic follicles when compared to untreated PCOS rats but drug treatments showed no superiority to each other in this respect. OLR1583 and Bcl2L1 genes were

significantly increased and SYCP2, CYBB, GADD45A, BAX and FasL genes were significantly decreased in all PCOS groups when compared to the control group.

Our study is the first study to investigating the effects of metformin and pioglitazone treatment in the obese PCOS model. Drugs have been identified as having considerable therapeutic effects, particularly on ovarian morphology and hormone profiles. Molecular genetic analysis did not support these findings, although histological findings indicate that drug treatment has positive effects on ovarian morphology. SYCP2 gene is responsible for meiosis, CYBB gene is responsible for respiratory reaction in mitochondria, GADD45A gen is responsible for repair on genom and decrease in these gene expressions continued in the treatment group. BAX and FASL gene expressions from the proapoptotic genes were significantly decreased in the PCOS group compared to the control group. However, the expression of the BCL2L1 gene from the antiapoptotic genes which were significantly higher than the control does not support an increased apoptosis. On the contrary, apoptosis is decreased in the group of PCOS but this decline is normalized in the treatment groups. In particular, there is a need for more detailed molecular genetic analyzes to reveal the function of these genes on ovary.

**Key Words:** Polycystic ovary syndrome, metformine, pioglitazone, oocyte quality

## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>ii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>viii</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Genel Bilgiler	1
1.1.1. Polikistik Over Sendromu Tarihçesi	1
1.1.2. Prevelansı	1
1.1.3. Patofizyolojisi	1
1.1.3.1. Hipotalamik pituiter ovaryan aks	2
1.1.3.2. Androjen Sentezi ve İşlevi	4
1.1.3.3. Obezite	6
1.1.3.4. İnsülin Rezistansı	6
1.1.3.5. Genetik	8
1.1.4. Semptom ve Bulgular	8
1.1.4.1. Menstrual Disfonksiyon	8
1.1.4.2. Hiperandrojenizm	9
1.1.4.3. Hiperinsülinemi ve İnsülin Direnci	10
1.1.4.4. Obezite ve Diyabet	13
1.1.4.5. Dislipidemi, Metabolik Sendrom ve Kardiyovasküler Hastalık	14
1.1.4.6. Hirsutizm	15
1.1.4.7. Akne	15
1.1.4.8. Alopesi	15
1.1.4.9. Akantozis Nigrifikans	15
1.1.4.10. Endometrial Neoplazi	15
1.1.4.11. İnfertilite	15

1.1.4.12. Gebelik Kaybı ve Gebelikteki Komplikasyonlar	16
1.1.5. PKOS'da Tanı	16
1.1.5.1. Hiperandrojenemi	16
1.1.5.2. Ovulatuvar ve Menstrual Disfonksiyon	17
1.1.5.3. Ovaryan Ultrasonografi	17
1.1.5.4. Anormal Gonadotropin Salgılanması	19
1.1.5.5. İnsulin direnci	19
1.1.5.6. Dislipidemi Ölçülmesi	20
1.1.6. PKOS'da Ayırıcı Tanı	20
1.1.7. PKOS Fenotipleri	20
1.1.8. Tedavi	21
1.1.8.1. İzlem	21
1.1.8.2. Yaşam Tarzı Değişiklikleri	21
1.1.8.3. Menstrual Anormalliklerin Tedavisi ve Endometrium Kanseri Gelişimi için Risk Yönetimi	22
1.1.8.4. Kombine Oral Kontraseptifler	22
1.1.8.5. Siklik Progestinler	22
1.1.8.6. Hirsutizm Tedavisi	22
1.1.8.7. Gonadotropin-Releasing Hormon Agonistleri	23
1.1.8.8. Androjen Reseptör Antagonistleri	23
1.1.8.9. Akne ve Akantosis Nigrikans Tedavisi	23
1.1.8.10. İnsulin Duyarlılaştırıcılar ile Tedavi	23
1.1.8.11. İnfertilite Tedavisi	24
1.2. Metformin	25
1.2.1 Klinik Farmakoloji	25
1.2.2. Etki Mekanizması	25
1.2.3. Glisemi Kontrolü	26
1.2.4. Lipid Profili Ve Kardiyovasküler Sistem	27
1.2.5. Doz Şeması ve Yan Etkiler	27
1.2.6. Kontrendikasyonları	27
1.2.7. PCOS da kullanımı	27
1.2.8. Ovulasyon İndüksiyonunda Kullanımı	30

1.3. Glitazonlar (Tiazolidinedionlar)	30
1.3.1. Giriş	30
1.3.2. PPAR Reseptörleri	31
1.3.3. Etki Mekanizması	33
1.3.4. Farmakokinetiği	34
1.3.5. Metabolik Etkileri	34
1.3.6. Yan Etkileri	34
1.3.7. Glitazonların Ovulasyon İndüksiyonunda Kullanılması	36
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>38</b>
2.1. PKOS Oluşturulması	38
2.2. PKOS'un Tespiti İçin Uygulanacak Analizler	39
2.3. Moleküler Genetik Analizler	39
2.4. Histolojik Analizler	43
2.5. Biyokimyasal Analizler	44
2.6. İstatistiksel Değerlendirme	44
<b>3. BULGULAR</b>	<b>45</b>
3.1. Kilo alımı bulguları	45
3.2. Biyokimyasal ve Hormonal Bulgular	45
3.3. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bulguları	46
3.4. Histolojik Bulgular	47
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>50</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>57</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>57</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Androgen Excess and PCOS Society konsensus oluşturduğu tanısal kriterler	16
<b>Tablo 2.</b>	PKOS ile ayırıcı tanısı yapılması gereken klinik durumlar	20
<b>Tablo 3.</b>	Tiazolidinedionların Çok Yönlü Etkileri	34
<b>Tablo 4.</b>	cDNA karışım miktarı	41
<b>Tablo 5.</b>	cDNA sentezi için uygulanan PZR programı	41
<b>Tablo 6.</b>	RT-PCR’ da kullanılan primerler	42
<b>Tablo 7.</b>	RT-PCR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	43
<b>Tablo 8.</b>	Uygulanan RT-PCR programı	43
<b>Tablo 9.</b>	Kilo alımı bulguları	45
<b>Tablo 10.</b>	Biyokimyasal ve Hormonal Bulgular	45
<b>Tablo 11.</b>	Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bulguları	46
<b>Tablo 12.</b>	Tüm gruplarda over rezervinin toplam değerleri.	49

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Polikistik over sendromu ile ilişkili artmış androjen ve östrojen üretimi için öne sürülen patofizyolojik mekanizma	2
<b>Şekil 2.</b>	Normal ve Polikistik overde hormon paterni	3
<b>Şekil 3.</b>	Hiperandrojenemi artan steroidogenez ilişkisi	4
<b>Şekil 4.</b>	Polikistik over sendromunda İnsülin Direnci	7
<b>Şekil 5.</b>	Polikistik Over Sendromunda İnsülin ve Hiperandrojenizm	11
<b>Şekil 6.</b>	Polikistik over	18
<b>Şekil 7.</b>	Polikistik over.	18
<b>Şekil 8.</b>	Rotterdam kriterlerine göre PKOS fenotipleri	21
<b>Şekil 9.</b>	Metforminin kimyasal yapısı	25
<b>Şekil 10.</b>	Metforminin Etki Mekanizması	26
<b>Şekil 11.</b>	PPAR Yapısı	31
<b>Şekil 12.</b>	PPAR- RXR etkileşimi	32
<b>Şekil 13.</b>	PPAR gama ( $\gamma$ ) yolağı	33
<b>Şekil 14.</b>	Pioglitazonun kimyasal yapısı	35
<b>Şekil 15.</b>	Kontrol normal over dokusu. Primer ve sekonder folliküller normal görünümündedir. Hematoksilen & Eosine, x 4 büyütme.	48
<b>Şekil 16.</b>	PKOS kistik over dokusu. Folliküller kistik görünümündedir. Hematoksilen & Eosine, x 4 büyütme.	48

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>AES</b>	: Androgen Excessive Society
<b>ASRM</b>	: American Society for Reproductive Medicine (ASRM)
<b>BMI</b>	: Vücut Kitle İndeksi
<b>CC</b>	: Klomifen Sitrat
<b>DHEA</b>	: Dehidroepiandrosteron
<b>DHEAS</b>	: Dehidroepiandrosteron sülfat
<b>DHT</b>	: Dihidrotestosteron
<b>DM</b>	: Diyabetes Mellitus
<b>ESHRE</b>	: European Society of Human Reproduction and Embryology
<b>FDA</b>	: Food and Drug Administration
<b>FFA</b>	: Serbest Yağ Asidi
<b>FG</b>	: Ferriman-Gallwey
<b>FSH</b>	: Follikül stimulan hormon
<b>GLUT</b>	: Glukoz Taşıyıcısı
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin Releasing Hormon
<b>HDL</b>	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
<b>HOMA</b>	: Homeostasis Model Assessment
<b>HOMA-IR</b>	: İnsülin direnci homeostaz model değerlendirmesi
<b>IGFBP-1</b>	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-1
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>İD</b>	: İnsülin Direnci
<b>İGF</b>	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
<b>KOK</b>	: Kombine oral kontraseptif
<b>KVH</b>	: Kardiovasküler Hastalık
<b>LDL</b>	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
<b>LH</b>	: Luteinizan Hoormon
<b>MPA</b>	: Medroksiprogesteron asetat
<b>mRNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>OI</b>	: Ovulasyon İndüksiyonu
<b>PAI1</b>	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1

<b>PKO</b>	: Polikistik Over
<b>PKOS</b>	: Polikistik Over Sendromu
<b>PPAR-<math>\gamma</math></b>	: Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama
<b>QUICKI</b>	: Kantitatif insülin duyarlılık kontrolü
<b>SHBG</b>	: Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
<b>T</b>	: Testosteron
<b>TSH</b>	: Tiroid stimulan hormon
<b>USG</b>	: Ultrasonografi
<b>VKI</b>	: Vücut Kitle İndeksi
<b>VLDL</b>	: Çok düşük dansiteli Lipoprotein



## 1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu, tanı kriterleri ve farklı populasyonlardaki sıklıkları değişiklik göstermesine rağmen, doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık gözlenen hormonal bozukluktur. Sendromun klinikte karşımıza çıkan en sık bulguları anovulasyon / oligomenore, hirsutizm, akne, obezite ve infertilitedir.

Polikistik over sendromu (PKOS) etyopatogenezinde primer olarak artmış insülin direnci ve hiperinsülineminin önemli bir yeri bulunmaktadır (1). İnsülin direnci kısa vadede hiperandrojenizm ve anovulasyon yapmakla birlikte, uzun vadede diyabetes mellitus (DM) ve kardiyovasküler komplikasyonlara neden olmaktadır.

### 1.1. Genel Bilgiler

#### 1.1.1. Polikistik Over Sendromu Tarihçesi

Polikistik over sendromu, hiperandrojenemi, infertilite ve polikistik overler ile karakterize bir hastalıktır. Bu hastalık ilk defa 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından amenore, obezite ve hirsutizm triadı olarak tanımlanmıştır (2).

#### 1.1.2. Prevelansı

Reproduktif yaştaki kadınların yaklaşık %4-12'sinde görülmektedir. PKOS reproduktif dönemdeki kadınlarda en sık görülen endokrinopatidir (3-5). PKOS'un tahmini sıklığı çalışma yapılan popülasyon ve overlerin ultrasonografik görüntülenmesinin tanı kriterlerine dahil edilip edilmemesine göre değişebilir. Tipik klinik görünümün varlığında sonografik olarak polikistik overlerin görülmesi sendromun tanısını desteklerken, hiperandrojenizm hikayesi olmayan normal ovuluar kadınlarda da polikistik overlerin bulunabileceği gösterilmiştir (6).

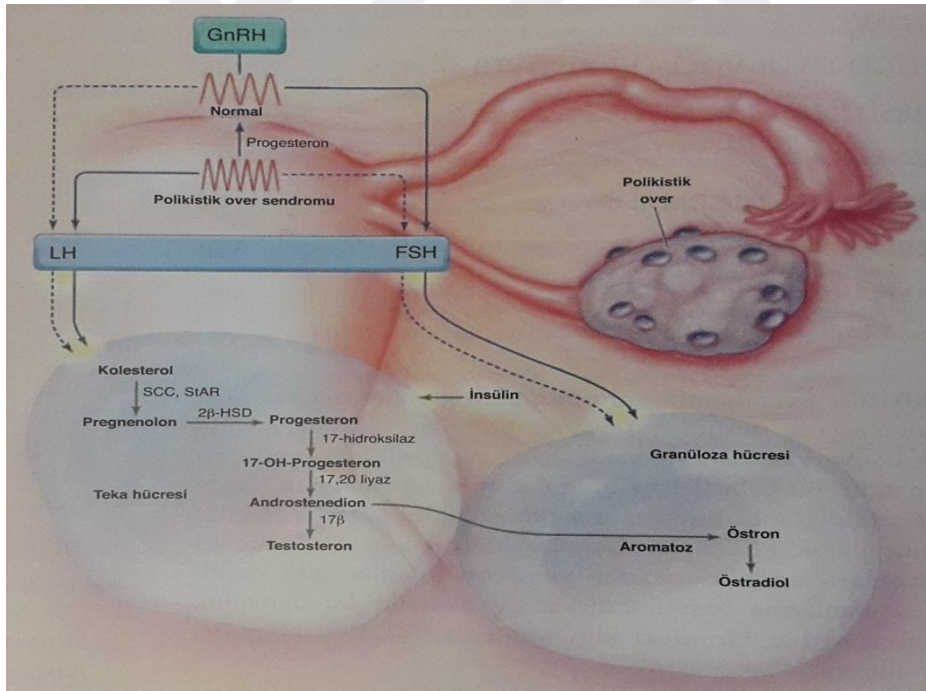
#### 1.1.3. Patofizyolojisi

Polikistik over sendromu semptom ve belirtilerin heterojen bir topluluğudur. Her semptom ve her belirti tüm hastalarda görülmez, bazı hastalarda klinik tablo hafifken bazılarında reproduktif, endokrin ve metabolik fonksiyonlarda şiddetli bozukluklar mevcuttur. PKOS patofizyolojisi multifaktöryeldir, klinik fenotipi klinik ve/veya biyokimyasal hiperandorejenemi ile ortaya çıkar. Hiperandrojenemi ve

anovulasyonu oluşturan mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamadığından zamanla hipotezler değişmektedir.

### 1.1.3.1. Hipotalamik pituiter ovaryan aks

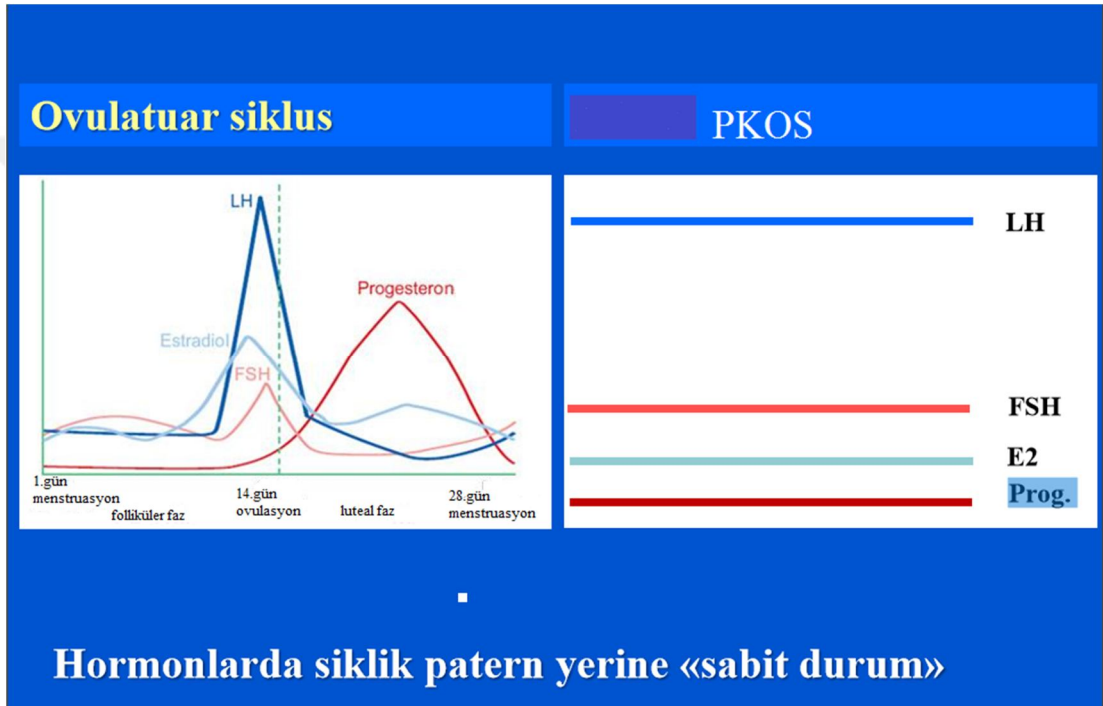
Önceleri hipofizden artmış LH salgısının ovaryan hiperandorejeneminin nedeni olduğu ileri sürülürken daha sonraları hastaların yarısından çoğunda serum LH seviyelerinin normal değerlerde olduğu görülmüştür. Gonadotropin sekresyonu için pulsatil GnRH stimülasyonu gereklidir. GnRH pulsatilitesindeki değişiklikler gonadotropin sekresyon oranını değiştirir. GnRH pulsatilitesi hızlı olunca LH salgısı predominant olur. Artmış LH puls frekansı ve amplitüdü nedeniyle bazı PKOS hastalarında serum LH konsantrasyonları önemli derecede artmıştır. LH ve insülin teka hücrelerinden androjen üretimini stimüle eder. Gonadotropin biyosentezi ve sekresyonu hipotalamik, parakrin ve endokrin faktörlerden etkilenmektedir. Hipotalamus ve hipofiz üzerine nonsteroidal faktörler de etkili olabilir (7).



**Şekil 1.** Polikistik over sendromu ile ilişkili artmış androjen ve östrojen üretimi için öne sürülen patofizyolojik mekanizma.

FSH=folikül-stimulan hormon; GnRH=gonadotropin-releasing hormon; 3β-HSD = 3β-hidroksisteroid dehidrojenaz; LH = lüteinizan hormon; SCC(side-chain cleavage enzyme) = yan-zincir klivaj enzimi; StAR = steroidojenik akut düzenleyici protein. (Ehrmann'dan, 2005, izin ile.)

Benzer şekilde, luteinizan hormon ile follikül stimulan hormon oranı (LH: FSH) yükselmiştir ve hastaların %60'ında bu değer 2'nin üzerine çıkmıştır (8). PKOS'lu kadında LH salgı frekansı ovulatar kadındaki gibi normal siklik değışkenliği göstermez ve yaklaşık saatte bir salgı frekansı ile nispeten sabit kalmaktadır. İn vitro bioassay sistemde PKOS'lu kadında yükselmiş serum LH konsantrasyonunun bioaktivitesinde artma izlenmiş, bunun da glikolizasyon farkını ve daha bazik LH izoformunun baskınlığını yansıttığı, böylece daha büyük bioaktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (9).



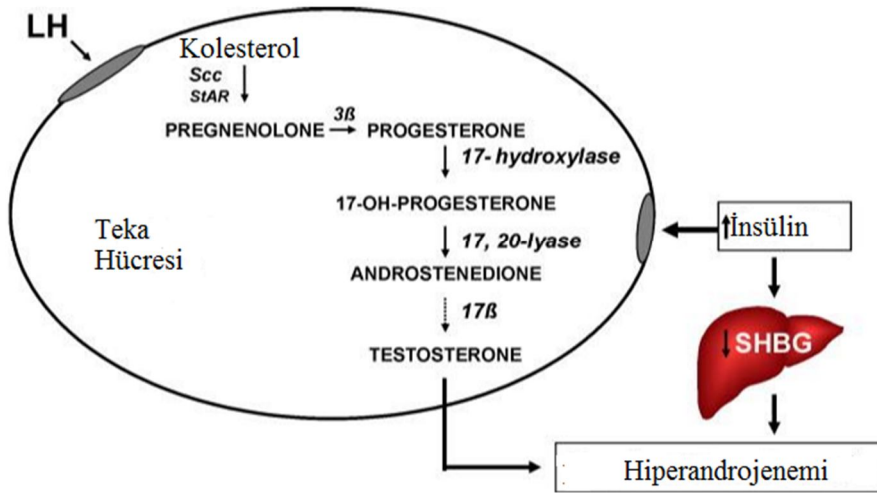
**Şekil 2.** Normal ve polikistik over sendromunda hormon paterni

Luteinizan Hoormon (LH), ovaryan androjen üretimini uyarırken, göreceli FSH azlığı granuloza hücrelerinde aromataz enziminin uygun uyarılmasına engel olur ve böylece, androjenin etkin östrojen olan östrodirole dönüşümü azalır. Artmış follikül içi androjen düzeyleri, folliküler atreziye neden olur. Folliküler gelişimin olamaması anovulasyona ve sonrasında oligo-amenoreye neden olur. Dolaşımdaki artmış androjen düzeyleri, hastanın lipid profilinde anormalliklere, hirsutizme ve akne gelişimine neden olur. Dolaşımdaki artmış androjenler, ayrıca adrenal bezden de kaynaklanabilir. Yüksek serum androjenleri (öncelikle androstenedion), periferde östrojenlere (öncelikle östron'a) dönüştürülür. Bu dönüşüm öncelikle yağ dokusunun stromal hücrelerinde görüldüğü için östrojen üretimi obez PKOS olgularında daha

fazla olacaktır. Büyüyen bir follikül ve hızlı değişen östrodiol düzeyleri varlığında gözlenen feedback'teki dalgalanmaların aksine bu dönüşüm, hipotalamus ve hipofiz bezinin kronik feedback'i ile sonuçlanır (10).

### 1.1.3.2. Androjen Sentezi ve İşlevi

Hem insülin hem de LH, overin teka hücrelerinde androjen üretimini uyarır. Sonuç olarak, etkilenmiş overler, yüksek düzeylerde testosteron ve androstenedion üretir. Özellikle, PKOS'lu kadınların %70 ila 80'inde yüksek serbest testosteron düzeyleri, %25 ila %65'inde ise yüksek DHEAS düzeyleri gösterilmiştir (11). Sonrasında artmış androstenedion düzeyleri, aromataz ile androjenlerin östrojenlere periferik dönüşümü yoluyla östron düzeylerindeki artışa katkıda bulunur. Hiperandrojenizm PKOS'un önemli özelliğidir, kaynağı çoğunlukla overler olsa da, daha az bir ölçüde adrenaller de buna katkıda bulunmaktadır. Androstenedion ve testosteronun dolaşımdaki oranının %60'ı over kaynaklıdır. Androstenedionun geri kalanı adrenal kaynaklıdır ve testosteronun geri kalanı da androstenedionun periferik dönüşümünden oluşur.



Şekil 3. Hiperandrojenemi ile artan steroidogenez ilişkisi

Polikistik over sendromlu kadınlarda overlerden artan androjen üretiminin primer mekanizması, düzensiz LH stimülasyonu ve insülin direncine bağlı hiperinsulinemidir. Obeziteye bağlı olarak bu durum daha da kötüleşebilir. Diğer kanıtlara göre PKOS'lu kadınlarda artmış over androjen sentezi muhtemelen genişlemiş over stroması, teka hücre hacim artışı ve LH stimülasyonunun artmış

duyarlılığı ile ilgilidir. Bu da muhtemelen, teka ve interstisyel hücrelerde LH'nin fazla ekspresyonu ile ilgilidir. Aynı zamanda bir dereceye kadar, anahtar steroidojenik enzimlerin 3  $\beta$  hidroksisteroid dehidrogenaz ve 17, 20 liyaz gibi içsel bir düzensizliğine bağlı genetik bir temele de sahip olabilirler (12).

Adrenal androjen (androstenedion, DHEA, DHEAS) üretimi de PKOS'lu kadınlarda artmaktadır; yarıdan fazlasında dolaşımında orta düzeyde yüksek DHEAS seviyesi tespit edilmiştir (13).

Folikül stimulan hormon seviyesinin azalması durumunda dominant follikül seçilmesini ve bunun tek başına gelişmesini sağlayan hassas olarak dengelenmiş bir veya daha fazla düzenleyici mekanizmada ortaya çıkan bozukluk anovulasyona yol açabilir. Aktivin, inhibin ve insülin-benzeri büyüme faktörleri, lokal otokrin ve parakrin mekanizmalar yoluyla etki ederler. Bunlar öncelikle dominant follikülde FSH reseptör konsantrasyonunu arttırarak FSH aktivitesini arttırırlar. Buna ilaveten bu faktörler LH reseptörlerinin oluşumunu arttırarak, folliküler olgunlaşmanın son evresinin oluşumunu ve ovulasyonu sağlayan LH artışına, follikülün cevap verebilmesini mümkün kılmaktadırlar. Bu lokal ovaryan mekanizmaların herhangi birinde yetersizlik veya normalden sapma olduğu takdirde follikülün büyümesi durabilmekte ve ovulasyon gerçekleşmemektedir. Anormal olarak yüksek lokal androjen konsantrasyonları, hangi nedenden olursa olsun, folliküler maturasyonu engeller, atreziyi uyarır, kronik anovulatuara duruma eğilim yaratır (14). Sonuç olarak, yeni follikül gelişimi devam eder fakat tam matürasyon elde edilemeden etrafta hiperplastik teka hücreleri ile çevrili artmış LH stimülasyonu ile lüteinize olmaya başlamış çok sayıda küçük folliküler kistlere (çapı tipik olarak 2-10 mm ölçülen) neden olur. Atretik folliküller sonunda over stromasında genişlemeye ve hacminde artışa neden olur. Dahası androjen üreten hücresel kitleyi artırır, ek olarak kendiliğinden ilerleyen bir siklus olan kronik anovulasyona yatkınlık kazandırır.

### 1.1.3.3. Obezite

Kronik anovulasyon ve polikistik overi olan kadınlarda obezite prevalansı yüksektir. %35 ile %60 arasında değişir. Obezite üç farklı yol ile kronik anovulasyona eğilim yaratır.

- Androjenlerin artmış periferik aromatisasyonu, kronik olarak yüksek östrojen konsantrasyonlarına neden olur.
- Hepatik SHBG üretiminde azalma, dolaşımdaki serbest östradiol ve testosteron konsantrasyonlarında artışa neden olur.
- İnsülin rezistansı, kompensatuar olarak insülin düzeylerinde artışa neden olur. İnsülin düzeylerindeki bu artış ovaryan stromadaki androjen üretimini uyarır ve yüksek lokal androjen konsantrasyonuna neden olarak folliküler gelişime zarar verir.

Polikistik over sendromu gelişme riski obezite ile artmaktadır. İnsülin direnci, hiperinsülinemi ve ovulatuvar disfonksiyon yaptığı gibi metabolik sendrom, glukoz intolerans prevalansı artışı, kardiyovasküler hastalık ve uyku apne için de risk faktörüdür. Obezitenin risk faktörü olduğu insülin direnci ve kompensatuar hiperinsülinemi, serbest yağ asitlerinin artmasına, lipolize neden olur. Bunu bazı sitokinleri arttırarak yapar. Bunlar; tümör nekrozan faktör- alfa (TNF-alfa), interlökin-6, leptin ve resistin'dir. Dokularda serbest yağ asitlerinin birikimi lipotoksisite ve insülin direncine yol açar, kısmen TNF-alfa aracılığı ile serin fosforilasyonunu arttırarak insülinin reseptör sinyalizasyonunu inhibe ederek yapar. Obeziteye bağlı insülin direnci leptin direncini arttırır ve bu lipotoksisiteyi daha da arttırır (15).

Polikistik over sendromu olan kadınlar, artmış vücut kitle indeksi ve bel: kalça oranı ile görüldüğü gibi obez olmaya daha yatkındırlar. Bu oran, kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörü olan android veya santral obezite paternini yansıtır.

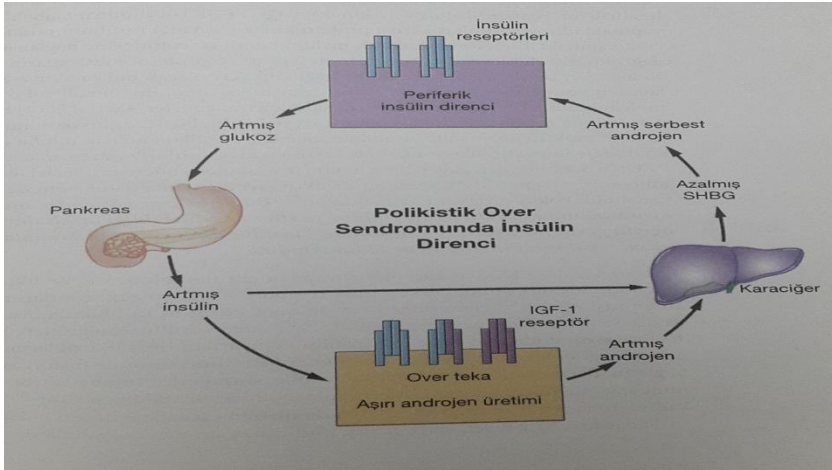
### 1.1.3.4. İnsülin Rezistansı

Glukoz intoleransı ile hiperandrojenizm arasındaki ilişki ilk defa 1921'de Archard'ın sakallı diyabetik bir kadını sunduğu meşhur yayını ile bildirilmiştir. İnsülin direnci, verilen insülin miktarına karşı azalmış glukoz yanıtı olarak tanımlanır. Bu azalmış insülin duyarlılığının mekanizması, insülin reseptörü

aracılığıyla sinyal iletiminde postbinding bir anormalliğe bağlı görünmektedir (16). 1980 yılında yapılan bir çalışmada ilk defa insülin direnci, hiperinsulinemi ve insülinin rolü PKOS patogenezinde açıklanmıştır ve bazal plazma insülin, androstenedion ve testosteron seviyeleri ve oral glukoz yükleme testi yapıldıktan sonra insülin ve testosteron seviyeleri arasında anlamlı korelasyon gösterilmiştir (17).

Polikistik over sendromlu kadınlarda insülin duyarlılığı normal kadınlara göre ortalama %35-40 azalmaktadır. İnsülin direnci obez PKOS'lu kadınlarda %50-75 prevalans aralığıyla daha sık görülmektedir (18).

İnsülin direnci endojen veya eksojen insülinin yağ, kas ve karaciğer üzerine normalden daha az etkisi mevcut olduğu zaman tanımlanır. Yağ dokusunda, insülin direnci depolanmış trigliserid hidrolizine ve dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin seviyesinde artmaya neden olur. Azalmış glukoz kullanımı primer olarak kaslarda ve karaciğerde artmış glukoneogenez (normalde insülin bunu inhibe ediyor) ve kan glukoz seviyesinde artma ve ona bağlı kompensatuar hiperinsulinemi yapar. PKOS'lu kadınlarda dolaşımda artan insülin seviyesi hiperandrojenemiye iki yolla neden olur; overlerden androjen üretimini stimule ederek ve hepatik SHBG üretimini inhibe ederek.



**Şekil 4.** Polikistik over sendromunda insülin direnci

Birçok in vitro çalışmada insülinin overlerdeki teka hücrelerinden androjen üretimini arttırdığı gösterilmiştir (19).

İnsülin ve androjenin kombine etkileri SHBG konsantrasyonlarını azaltır, sonucunda da serbest androjen seviyesi artar, bu da altta yatan insülin direncini

kötüleştirir. Sonuçta bu koşullar kendiliğinden yayılan ve şiddetinde zamanla artma gösteren pozitif geri bildirim döngüsünü arttırır.

#### **1.1.3.5. Genetik**

Hiperandrojenemi, anovulasyon ve polikistik overlerin ailesel olarak bir arada görülmesi bu durumun altında yatan genetik bir faktörün mevcut olduğunu düşündürmektedir. Bu hastaların en azından bir bölümünde hastalığın X kromozumuna bağlı dominant geçiş gösteren birçok farklı fenotipe sahip olsa da (20), genetik bir özellik taşıdığı gösterilmiştir. Geniş aileler üzerindeki çalışmalar da otozomal dominant bir geçiş olduğunu ve erkeklerde fenotipik olarak prematür kellik görüldüğünü ortaya çıkarmıştır (21, 22).

Diğer çalışmalarda PKOS'lu kadınların kardeşleri ve ebeveynlerinde hiperinsulinemi ve hipertrigliseridemi prevalansı yüksek gözlenmiştir. PKOS'lu kadınların kız kardeşinde yaklaşık %50'sinde yüksek total veya biyolojik testosteron seviyesi olup ve annelerin yaklaşık %35'i etkilenir (23, 24). PKOS'lu kadınların birinci derece akrabaları da dislipidemi gibi diğer metabolik anormallikleri sergilemektedir, bu da kardiyovasküler hastalık için yüksek risk taşır (25, 26). Bu gözlemler de bir genetik yatkınlığı düşündürmektedir.

Polikistik over sendromu bir poligenik bozukluk gibi görünmektedir. Çok sayıda genomik varyantların etkileşimi ve çevresel faktörlerin etkisini içermektedir (27).

#### **1.1.4. Semptom ve Bulgular**

Polikistik over sendromlu kadınların, çeşitli endokrin etkilerden kaynaklanan yakınmaları vardır ve bunlar menstrual düzensizlikler, infertilite, androjen fazlalığı bulguları veya diğer endokrin disfonksiyon bulguları olabilir. Semptomlar klasik olarak, pubertenin ilk birkaç yılı içinde belirgin olur.

##### **1.1.4.1. Menstrual Disfonksiyon**

Polikistik over sendromu olan kadınlarda menstrual disfonksiyon, amenoreden oligomenoreye ve anemi ile epizodik menometrorajiye kadar değişebilir. Ovulasyon sonrası progesteron ürünleri ile karşılanmamış kronik östrojen maruziyeti, endometriumun mitotik uyarılmasını devam ettirir. Kalınlaşmış endometriumun

instabilitesi, beklenmeyen kanama paternleri ile sonuçlanır. Önemli olarak, androjenler atrofik endometrium oluşturarak östrojenlere ters etki yapabilirler. Bu nedenle, yüksek androjen düzeyleri olan PKOS hastalarında amenore ve azalmış endometrial kalınlık görünmesi nadir değildir.

Karakteristik olarak, PKOS'da oligomenore (yılda 8'den az menstrual periyod) veya amenore (ardaşık 3 veya daha fazla ayda hiç menses olmaması), menarş ile başlar. Ancak, tüm postmenarşal kızların yaklaşık olarak %50'sinde hipotalamus-hipofiz-over ekseninin immatür olması nedeniyle 2 yıl kadar düzensiz periyodlar olabilir. PKOS olan kızların aylık ovulatar menstrual siklusları genç kızlığın ortalarına kadar oluşmayabilir ve sonra da sıklıkla düzensiz siklusları devam eder.

#### **1.1.4.2. Hiperandrojenizm**

Polikistik over sendromu, androjen fazlalığının ve hirsutizmin en sık rastlanan nedenidir. Bu hastalar tüm hirsutizmlilerin %65-85 gibi bir çoğunluğunu oluştururlar (28, 29). PKOS'lu hastalarda virilizasyon veya maskulinizasyon yoktur veya minimaldir. Androjen fazlalığının en yaygın belirtisi hirsutizm olmakla birlikte, söz konusu kadınlarda ayrıca sebore, akne, alopesi veya hidradenitis süpurativa da görülebilir. Hirsutizm, kadınlarda kıllanmanın normalde çok hafif olduğu veya hiç olmadığı androjene bağımlı alanlarda, tipik koyu ve kalın telli kılların fazlalığı olarak tanımlanır. Androjene bağımlı alanlar denilince dudak üstü, çene, yanaklar, kulaklar, karnın alt kısmı, sırt, göğüs, meme ve ekstremitelerin proksimal kısımları, kalçanın alt kısımları ve intergluteal bölge ifade edilmektedir.

Yaklaşık olarak testosteronun yarısı androstenedionun periferik dönüşümünden üretilir. Dolaşımdaki testostereona adrenal gland ve overler hemen hemen eşit oranda (%25) katkıda bulunurlar, ancak siklus ortasında overdeki üretim %10-15 daha artar. Dolaşımdaki major androjen testosteron olmakla birlikte dihidrotestosteron (DHT), kıl follikülleri ve derideki pilosebase birim gibi birçok duyarlı dokuda major androjendir.

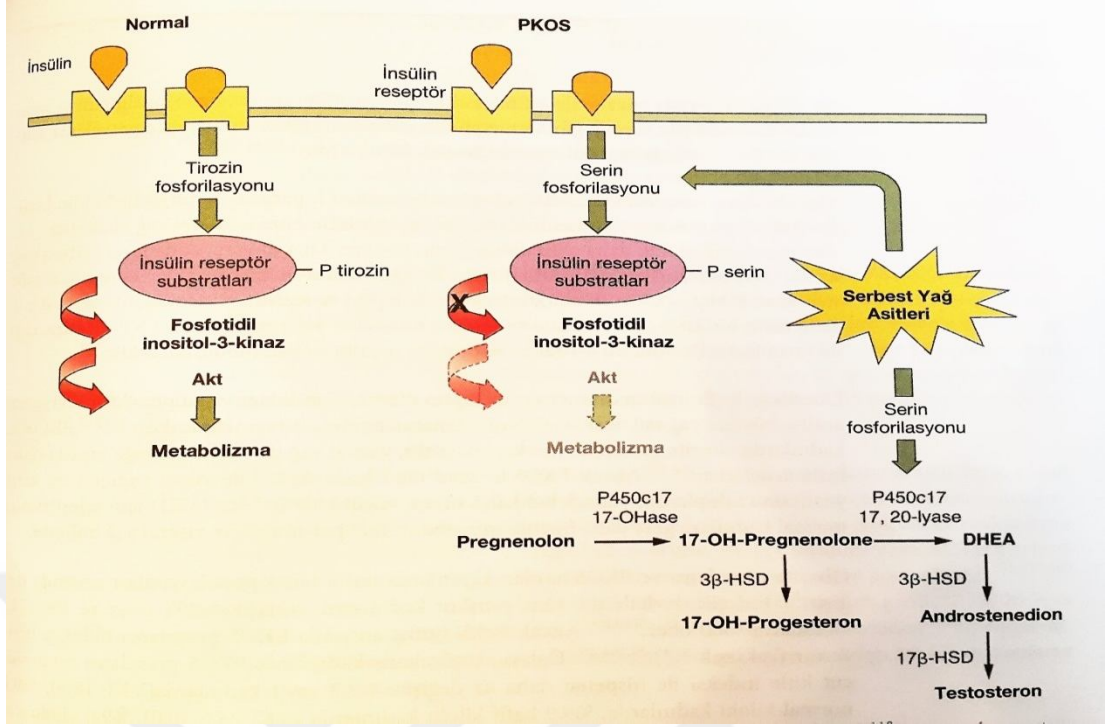
Kadınlarda hirsutizmin esas nedeni anovulasyon ve overlerden aşırı androjen üretimidir (30). Hirsutizimli hastada terminal kıllarda erkeksi yapıya uygun bir artış vardır. Hem teşhiste hem de tedavide objektif kalabilmek amacıyla bu artışın şiddeti

ve dağılımı bir skorlama sistemi kullanılarak kaydedilmektedir. Bu amaçla Ferriman-Gallwey yöntemi kullanılabilir (31). Bu yöntemde kıl büyümesindeki artışın derecesi vücudun 9 farklı bölgesinde objektif olarak değerlendirilir. Bu bölgeler yüz (özellikle bıyık ve sakal bölgesi), göğüs, meme areolası, linea alba, sırtın üst kısımları, sırtın aşağı kısımları, kalçalar, uyluk iç kısımları ve dış genital bölgelerdir. Her bölge için 1 ile 4 arasında puan verilir. Toplam 8'in üzerindeki değerler genellikle hirsutizm olarak değerlendirilir. Hirsutizm hafif, orta, şiddetli olarak 3 gruba ayrılabilir.

#### **1.1.4.3. Hiperinsülinemi ve İnsülin Direnci**

Polikistik over sendromu endokrin ve metabolik bir hastalıktır. İnsülin direnci; endojen ve eksojen insüline normal biyolojik cevabın verilememesi olarak tanımlanır. PKOS'lu vakaların %43-76'sında insülin direnci tespit edilmiştir. Bu vakalarda Tip 2 DM gelişme ihtimalinin normal popülasyona göre daha fazla olduğu yapılan birçok çalışmada bildirilmektedir (32-34).

Polikistik over sendromlu kadınlardaki çalışmalar, insülin reseptörlerinin normal olduğunu göstermiştir. İnsülin stimülasyonuna cevap olarak, adipositlerde insülin bağlanması da normaldir. Glukoz taşıyıcı proteinlerin aktivasyonu ve glukozun hücre içine alınması gibi gelişen olaylarda azalma saptanması defektin postreseptör seviyede olduğunu göstermektedir (35-37). PKOS'lu obez kadınların yaklaşık yarısında insülin reseptörü otofosforilasyonunda defekt olduğu görülmüştür. Bu kadınlarda stimüle edilmemiş insülin reseptöründe hali hazırda önemli derecede fosforilasyon mevcuttur. Fakat insülin reseptörüne bağlandığında ek bir fosforilasyon olmamaktadır. Bazal stimüle edilmemiş fosforilasyon serin kalıntılarında oluşmakta ve normal tirozin fosforilasyonu azalmış gibi gözükmektedir (36).



**Şekil 5.** Polikistik Over Sendromunda İnsülin ve Hiperandrojenizm (Baptiste CG. J Steroid Biochem Mol Biol 2009).

Polikistik over sendromlu vakalarda artan over kökenli androjen artışından P450c17alfa sitokrom enzim sistemindeki bozukluk suçlanmaktadır. Bu enzim sistemindeki bozukluğun; uygunsuz LH uyarısı sebebiyle olduğu ileri sürülmüşse de, insülin benzeri büyüme faktörlerinin (İGF) etkisiyle teka hücrelerinden LH artışı olabileceği de iddia edilmektedir (38, 39).

Obez hiperinsülinemik ve insülin direnci bulunan kadınların tümünde hiperandrojenemi bulunmaması sebebiyle insülinin sitokrom P450c17alfa kompleksini kalıtsal yolla uyarabildiğini düşündürmektedir. Son yıllarda serin fosforilasyonun androjen yapımında anahtar rol oynayan P450c17alfa enzim kompleksinin çalışmasını düzenlediği tespit edilmiş olup PKOS'lu hastalarda tek bir bozukluğun hem insülin direnci hem de hiperandrojenemiye neden olabileceği düşünülse de PKOS'lu vakaların yarısında tirozin otofosforilasyonunun normal olması bu kadınlarda insülin direncinin mekanizmasının multifaktöriyel olabileceğini akla getirmektedir (40).

### **İnsülin Sensitivitesinin Değerlendirilmesi**

İnsülin direncinin veya duyarlılığının gösterilmesi için birçok test geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları; bazal insülin düzeyi, hiperglisemik glukoz klomp

tekniki, öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği, intravenöz insülin tolerans testi, oral glukoz tolerans testi ve homeostasis model assessment (HOMA)'dır. Ancak pratikte en sık kullanılan, açlık insülin düzeyi, açlık glukoz/ insülin oranı ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile HOMA'dır.

**A-Bazal insülin düzeyi:** İnsülin direncinin belirlenmesinde çok daha basit bir yöntem olarak açlık insülin düzeylerinin de bir kriter olabileceği gösterilmiştir. Bazal insülin düzeyi, her toplum için farklılıklar gösterir. Standardize edilmiş bir eşik değer bulunmamaktadır. Ancak bazı çalışmalarda 8 IU/ml üzeri, bazı çalışmalarda ise 15 IU/ml üzeri insülin direnci olarak kabul edilmiştir.

**B-Açlık glukoz / insülin oranı (FGIR):** Pratikte sık kullanılır. Açlık sırasında alınan glukoz ve insülin seviyelerinin oranıdır. Her toplum için farklılık arz eder. Oranın düşük olması, insülin direnci varlığını gösterir. Pek çok çalışmada 4.5'in altındaki değerlerin insülin direncini gösterdiği bildirilmiştir (41).

**C-Hiperöglisemik glukoz klemp tekniği:** Metabolize edilen glukozun insüline oranı ile insülin duyarlılığı hesaplanır (metabolize glukoz / insülin) (42).

**D-Öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği:** İnsülin infüzyon sistemine iv olarak glukoz infüzyonu verilmesinde hastanın öglisemik sınırlarda tutulması prensibine dayanır. İD'yi belirlemede altın standarttır. Kullanılan diğer testlerin sensitivite ve spesifitesini belirlemek için, yapılan çalışmalarda bazal yöntem olarak da kullanılan bu yöntem zor uygulanması, invaziv olması, tecrübe ve zaman gerektirmesi nedeniyle pratikte uygulanabilir olmayıp, tercih edilmemektedir (42).

**E-İntravenöz insülin tolerans testi:** Sonuç ne kadar yükseğe insülin direnci o kadar azdır.

**F-Oral glukoz tolerans testi ve Homeostasis Model Assesment:** OGTT karbonhidrat metabolizmasını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan testtir. Test esnasında ölçülen plazma insülin ve glukoz seviyeleri, pankreatik beta hücrelerinin insülin sekresyonunu ve dokuların insüline cevap kabiliyetini yansıtmasından dolayı, beta hücre fonksiyonlarını ve insülin duyarlılığını değerlendirmek için de sıkça kullanılır. 75 veya 100 gr glukoz oral yoldan verildikten sonra 2-4 saat içinde değişik aralıklarda glukoz veya glukozla beraber insülin değeri bakılır. Bu testte; 0, 30, 60 ve 90'ncü dakikadaki glukoz değerleri kriter olarak alınabildiği gibi, glukoz / insülin oranı bakılabilir veya belli bir denkleme dayanarak

0 ve 120'nci dakikadaki insülin ve glukoz değerleri kullanarak insülin sensitivite indeksi (ISI 0, 120) çıkartılabilir (43).

120 dakika sonraki glukoz cevabının değerlendirilmesi:

Normal < 140 mg/dL

Bozulmuş 140-199 mg/dL

İnsüline bağımlı olmayan diyabet > 200 mg/dL

HOMA beta hücre fonksiyonu ve İD hakkında bilgi veren, diğer tekniklere göre daha basit ve ucuz olması nedeniyle yaklaşık 30 yıldır kullanılan bir yöntemdir. Açlık glukozu ve insülin konsantrasyonunun aritmetik örneklemesinden faydalanılarak insülin duyarlılığı belirlenir. (Açlık insülin x açlık glukoz)/22.5 formülüyle hesaplanır. HOMA indeksinin değeri ID ile doğru orantılı olup, indeks değeri ne kadar fazla ise ID'de o kadar fazladır. HOMA indeksinin hiperglisemik hastalarda da anlamlı ve doğru sonuç vermesi, açlık kan şekeri / insülin değerine göre önemli bir üstünlüktür. HOMA skorunun bazı yayınlarda 2, 5 ve bazı yayınlarda ise 2, 8'in üzerinde olması İD ile ilişkilendirilmiştir (44). Normal kişilerde bu oran 2'nin altındadır. HOMA ile İD tespit edilen kişilerde OGTT ile normal glukoz toleransı saptansa bile hayatlarının ilerleyen zamanlarında Tip 2 DM gelişimi açısından risk taşıdıkları söylenebilir (45).

#### **1.1.4.4. Obezite ve Diyabet**

Genellikle PKOS'lu kadınlar normal kadınlara göre daha obezdirler. Obezite ile PKOS'un semptomlarının daha kötüleştiği klinik bir tecrübedir. Obezite, batı toplumlarında prevalansı giderek artan bir patolojidir.

Vücut kitle indeksi (VKİ) obezitenin tanımlanmasında en yaygın kullanılan indekstir (kg/m<sup>2</sup>). Polikistik over sendromu olan kadınlarda VKİ normal kabul edilen sınırın genelde üzerindedir. Obezite, dağılımına göre santral veya periferik olabilir. Santral yağ dağılımlı kadınlar daha yüksek LH, androstenedion, östron, insülin, trigliserid, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), apolipoprotein B seviyelerine sahiptir, HDL ise düşüktür (46).

Yüksek bel/kalça oranının daha fazla menstrual anormallik ve daha yüksek infertilite sıklığıyla birlikte olduğu gösterilmiştir. Yayınlarda; VKİ ve infertilitenin artmış insidansı arasında bir bağ olduğu görülmektedir (47). Kilo fazlalığı, artmış

abortus riski ile de birliktedir. Genel olarak PKOS'lu kadınların, PKOS olmayanlara göre daha yüksek oranda abortus riskine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç kısmen de olsa, PKOS'daki yüksek LH konsantrasyonu sonucunda bozulmuş oosit ve embriyo kalitesine bağlanmıştır (48).

Artmış VKİ ile DM arasındaki ilişki konusunda çok miktarda yayın vardır. PKOS olan olgularda önemli bir glukoz intoleransı riski vardır. Yapılan bir çalışmada VKİ'i 30 kg/m<sup>2</sup>'nin üzerindeki 20-30 yaş arasındaki tüm kadınların %18'inde glukoz metabolizmasında bozukluk saptanmıştır. PKOS'u olan kadınların %15' inde başlangıç çalışmasında glukoz toleransı normalken, 5-7 yıl sonra bozulmuş glukoz toleransına veya aşikar diyabete dönüş görülmektedir (41). Bu değişimin hemen hepsinin artan obezite ile bağlantılı olabileceği ve kilo alımının önlenmesinin anormal glukoz toleransının azaltılmasında yararlı olabileceği düşünülmektedir. Şimdiki verilere göre; PKOS'lu kadınlar gebeyken gestasyonel diyabet olmaya daha eğilimlidir ve gebelikte glukoz intoleransı olan pek çok kadın PKOS özelliklerine sahiptir.

#### **1.1.4.5. Dislipidemi, Metabolik Sendrom ve Kardiyovasküler Hastalık**

Polikistik over sendromunda görülen klasik aterojenik lipoprotein profili, yüksek düşük dansiteli lipoprotein (LDL), trigliserid düzeyleri, total kolesterol: yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) oranı ve azalmış HDL düzeyleri ile karakterizedir.

Bu değişiklikler, PKOS'lu kadınlarda total kolesterol düzeyinden bağımsız olarak kardiyovasküler hastalık riskini arttırabilir. Ayrıca PKOS'lu kadınların sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu için artmış sıklığa ve artmış internal ve eksternal karotid arter sertliğine sahip oldukları bulunmuştur (49).

Metabolik sendrom, insülin direnci, obezite, aterojenik dislipidemi ve hipertansiyon ile karakterizedir. Metabolik sendrom prevalansı, PKOS olan kadınlarda %45, yaş olarak eşleştirilmiş kontrol grubundaki kadınlarda ise %4 olarak bildirilmiştir.

#### **1.1.4.6. Hirsutizm**

Kadınlarda hirsutizm erkek tipinde dağılmış, kalın, siyah, terminal kılların varlığı olarak tanımlanır. Polikistik over sendromu, ikinci en sık neden olan idyopatik hirsutizm ile birlikte, hirsutizm olgularının %70 ila %80'ini oluşturur (50).

Yüksek androjen düzeyleri kılların tipi ve dağılımında çok önemli bir rol oynar.

#### **1.1.4.7. Akne**

Özellikle ısrar eden veya geç başlangıçlı akneler, PKOS'u düşündürmelidir (51).

#### **1.1.4.8. Alopesi**

Kadınlarda erkek tipi saç dökülmesi, PKOS'lu kadınlarda nadir olan bir bulgudur (52). Patogenezinde, kıl folükülünde DHT düzeylerinin artışına neden olan aşırı 5 $\alpha$ -redüktaz aktivitesi vardır (53).

#### **1.1.4.9. Akantozis Nigrikans**

Akantozis nigrikans ciltte hiperkeratozis, papillomatozis ve artmış pigmentasyonla karakterizedir. PKOS kadınların %5'inde görülür. Hiperinsülineminin varlığı ve şiddeti ile ilişkilidir (54).

#### **1.1.4.10. Endometrial Neoplazi**

Polikistik over sendromu olan kadınlarda üç kat artmış endometrium kanseri riski bildirilmiştir. endometriumdaki neoplastik değişikliklerin, kronik karşılanmamış östrojenden kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### **1.1.4.11. İnfertilite**

Anovulasyon nedenli infertilite ile başvuran kadınların yaklaşık %80-90'ında PKOS bulunur ve bu hastalara PKOS tanısı sıklıkla infertilite kliniklerinde konulur. PKOS nedeniyle anovulasyonlu kadınların çoğu genellikle oligomenore veya amenore olmak üzere menstrual düzensizlikler de gösterirler.

#### 1.1.4.12. Gebelik Kaybı ve Gebelikteki Komplasyonlar

Gebe kalan PKOS'lu kadınların, genel popülasyondaki yaklaşık %15 olan bazal oranla karşılaştırıldığında, artmış erken gebelik kayıp oranına (%30-50) sahip oldukları bilinmektedir. Bunun nedeni net değildir (55).

#### 1.1.5. PKOS'da Tanı

**Tablo 1.** Androgen Excess and PCOS Society'nin konsensus oluşturduğu tanısal kriterler (56)

- 
- (1) Hiperandrojenizm (hirsutizm ve/veya hiperandrojenemi),
  - (2) Over disfonksiyonu (oligo/anovulasyon ve/veya polikistik overler),
  - (3) Diğer androjen fazlalığı ile ilgili hastalıkların dışlanmasıdır
- 

##### 1.1.5.1. Hiperandrojenemi

Hiperandrojenemi biyokimyasal ve/veya klinik açıdan değerlendirilebilir. Hiperandrojenizmin biokimyasal kanıtları dolaşımda artmış androjen konsantrasyonları bulgusuna dayanmaktadır. Testosteron (T) overlerden üretilen en önemli androjendir ve hiperandrojenemi tanısında temel oluşturur. Diğer androjenler, androstenedion, DHEA ve DHEAS'tır (57).

Testosteron, SHBG ve albümine bağlı olarak sirküle edilir, sadece bağlı olmayan serbest T hedef dokulara girip etki eder. Aslında hiperandrojenemi tanısı için serbest T seviyesinin ölçümü total T ölçümünden daha hassas görünmekle birlikte serbest T ölçümünde total T ye göre teknik zorluklar daha fazladır. T ve T nin  $5\alpha$ -redüksiyonu ile oluşan dihidrotestosteron (DHT) her ikisi androjen reseptörlerine bağlanır. DHT etki süresi T den daha uzun olduğu için hedef hücreler için de DHT daha aktiftir, bu nedenle serum T seviyesi hedef organlarda biyolojik aktivite ile korele değildir. SHBG seviyesinin ölçümü serum T ölçümünün etkinliğini artırabilir (58). PKOS hastalarının yaklaşık % 70'inde serbest T yüksek bulunur (56).

Testosteron yüksekliği, benign veya malign çeşitli over neoplazilerinde ve adrenal tümörlerde de görülebilir. Özellikle, tipik olarak birkaç ay içinde ani başlangıçlı veya aniden kötüleşen virilizasyon semptomları olan kadınlar, hormon üreten over ya da adrenal tümör kuşkusu uyandırmalıdır (59). Virilizasyon semptomları, hirsutizm, akne, erkek tipi saç dökülmesi, kliteromegali, ses

kalınlaşması, artmış kas kitlesi, azalmış meme büyüklüğü ve amenoredir (60). Total testosteron düzeyleri, 200 ng/dl üzerinde ise over veya adrenal kaynaklı lezyon dışlanmalıdır. Androjen düzeyleri çok yüksek olan kadınlarda pelvik sonografi, bilgisayarlı tomografi (BT) ya da manyetik rezonans (MR) görüntüleme ayırıcı tanı için yapılmalıdır.

Serum androstenedion düzeyi PKOS'lu kadınların %20'den azında, DHEAS düzeyleri PKOS'lu kadınların yarısından fazlasında yüksek saptanır. DHEAS yalnızca adrenal bez tarafından üretilir. DHEAS düzeyi, 700 µg/dl üzerinde saptanırsa adrenal neoplazi tanısı görüntüleme ile dışlanmalıdır.

Klinik hiperandrojenizm, hirsutizm, akne ve alopesi sorgulanarak saptanır. Bu klinik özellikler ve hiperandrojenizmin biokimyasal ölçümleri arasındaki korelasyon nispeten zayıftır. Hirsutizm androjen fazlalığının en belirgin klinik göstergesidir ve PKOS'un önemli bir özelliğidir. Modifiye Ferriman Gallwey skoru hirsutizm derecelendirilmesi için en sık kullanılan yöntemdir.

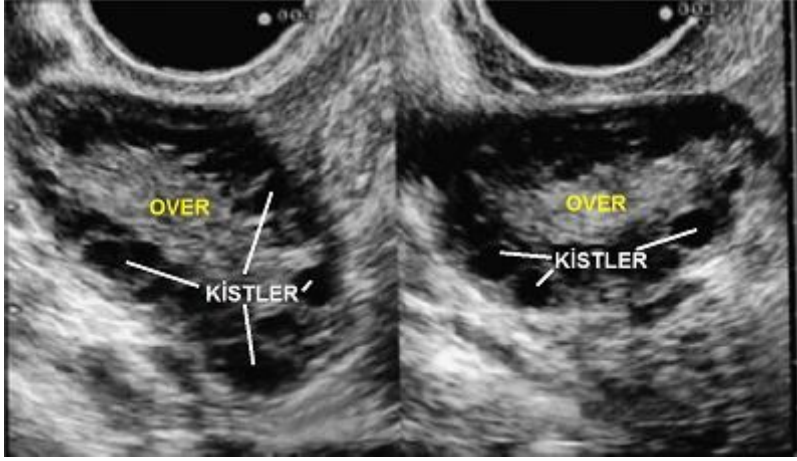
#### **1.1.5.2. Ovulatuvar ve Menstrual Disfonksiyon**

Ovulatuvar disfonksiyon sıklıkla oligo - amenore veya anormal uterin kanama şeklinde kendini gösterir. Ovulatuvar disfonksiyon aynı zamanda subklinik olarak vaginal kanamaların düzeninde bozukluk olmadan da görülebilir.

Geniş PKOS serilerinde yaklaşık hastaların %75-80'inde klinik olarak menstrual disfonksiyon görülmüştür. NIH 1990 kriterlerine göre PKOS olan 400 hastayı kapsayan bir çalışmada hastaların %60'ında aşikar menstrual disfonksiyon bulunurken %40'ında anovulasyon olmasına rağmen düzenli menstrual kanama görüldü (61).

#### **1.1.5.3. Ovaryan Ultrasonografi**

Polikistik overler (PKO) ultrasonografi ile tanınır. Tipik olarak her iki over nadiren de sadece bir over makroskopik olarak yuvarlak ve genellikle iridir. Bazen normal irilikte olabilir. Normal overler morfolojik olarak elipsoid olduğu halde polikistik overler genellikle yuvarlaktır.



**Şekil 6:** Polikistik over. PKO'da genellikle overin santral kısmında stromada artış vardır, bu da hiperekojenik olarak görülür. Folliküller çevrede dizilmiş şekildedir



**Şekil 7.** Polikistik over. Bazı hastalarda iri overler içinde, artmış stroma içinde artmış folliküller homojen olarak yayılmışlardır

Stromal hipertrofi ve hiperekojenite PKO için spesifiktir ancak ultrasonografi cihazı ve bakana göre değişebildiğinden subjektif olabilir.

European Society of Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine ESHRE/ASRM Konsensusuna göre PKO tanımı: Herbir overde 12 veya daha fazla 2-9 mm çapında follikül bulunması ve/veya artmış ovarian volüm ( $>10 \text{ cm}^3$ ). 10 mm'den büyük dominant follikül, kist veya korpus luteum varsa USG sonraki siklus tekrar edilmelidir. Oral kontraseptif alanlarda polikistik görünüm olsa bile over büyüklüğü azalabilir. Düzenli adet gören kadınlarda erken folliküler fazda (siklusun 3-5. günleri), oligo-amenoreik kadınlarda ise herhangi bir gün veya progesteron çekilme kanamasının 3-5. günleri USG ile

overlere bakılmalıdır. Ovaryan volüm  $0,5 \times \text{uzunluk} \times \text{en} \times \text{kalınlık}$  formülüyle hesaplanır (62, 63).

#### **1.1.5.4. Anormal Gonadotropin Salgılanması**

Anormal gonadotropin salgılanması uzun süreli PKOS lu kadınların ortak bir özelliği olarak kabul edilmiştir. Hastalığın patofizyolojisinde anlatıldığı gibi artmış LH konsantrasyonu, düşük-normal FSH seviyeleri ve artmış LH: FSH oranları tipik olarak ama özellikle zayıf PKOS'lu kadınlarda obezlere kıyasla daha fazladır. Amenorenin değerlendirilmesi sırasında prematür over yetmezliği ve hipogonadotropik hipogonadizmi dışlamak için tipik olarak FSH ve LH düzeylerine bakılır (64). FSH ve LH düzeylerinin, PKOS tanısında çok az ek değeri vardır. PKOS olan kadınların üçte birinde, dolaşımdaki LH düzeyleri normal sınırlardadır (65). Ayrıca serum LH düzeyleri, menstrual siklus zamanından, oral kontraseptif kullanımından ve vücut kitle indeksinden etkilenir.

#### **1.1.5.5. İnsulin direnci**

Polikistik over sendromlu kadınlar normal açlık glukozuna sahip olmakla birlikte glukoz yüklemesi sonrası glukoz intoleransı gösterebilirler. PKOS'lu kadınların yaklaşık %40'ı standart 75 mg oral glukoz yüklemesi sonrası bozuk glukoz toleransı veya  $\geq 140$  mg/dl 2 saatlik glukoz seviyesi gösterirler. PKOS'lu kadınlar sıklıkla açlık ve glukoz yüklemesi sonrası periferik insülin direncine cevap olarak hiperinsülinemi gösterirler (34, 66).

Polikistik over sendromu olan birçok kadında insülin direnci ve kompensatuar hiperinsülinemi vardır. Rotterdam konsensüs toplantısı, insülin direnci testlerinin PKOS tanı ve tedavisinde gerekli olmadığını belirtse de, bu testler bu kadınlardaki glukoz metabolizmasının ve bozulmuş insülin salgılanmasının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılır.

İnsülin direncinin değerlendirilmesinde altın standart, hiperinsülinemik öglisemik klemptir. Ne yazık ki bu test, intravenöz glukoz tolerans testi gibi, intravenöz yol ve sık örnekleme gerektirir, zahmetli ve zaman alıcıdır ve klinik uygulama için pratik değildir. Bu nedenle, insülin direncinin değerlendirmesinde daha az duyarlı diğer belirteçler kullanılır. Bunlar: (1) 2 saatlik glukoz tolerans testi, (2) açlık serum insülin düzeyi, (3) insülin direnci homeostaz model değerlendirmesi

(HOMA IR), (4) kantitatif insülin duyarlılık kontrolü (QUICKI) VE (5) serum glukoz: insülin oranının hesaplanmasıdır.

#### **1.1.5.6. Dislipidemi Ölçülmesi**

Dislipidemi belki de PKOS olan kadınlarda en sık görülen metabolik anormalliktir. Ulusal kolesterol eğitim programı yönergelerine göre, PKOS olan pek çok kadında tamamen normal lipid profilleri olmasına rağmen bu olguların yaklaşık %70'inde en az bir sınırdan ya da yüksek lipid düzeyi saptanır (67). PKOS'lu kadınlarda azalmış HDL, yüksek trigliserid düzeyleri, artmış LDL konsantrasyonları saptanabilir. Bu değerler bakılmalı ve hasta kardiyovasküler hastalıklar açısından takip edilmelidir.

#### **1.1.6. PKOS'da Ayırıcı Tanı**

**Tablo 2.** PKOS ile ayırıcı tanısı yapılması gereken klinik durumlar

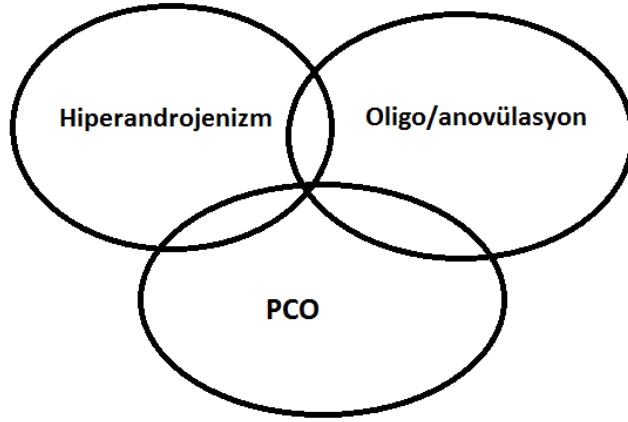
- 
- Nonklasik konjenital adrenal hiperplazi
  - Cushing sendromu
  - Androjen salgılayan tümörler
  - Eksojen androjen alımı
  - Hipertekozis
  - Hiperprolaktinemi
  - Tiroid patolojileri
  - Akromegali
  - Primer hipotalamik amenore
  - Primer ovaryan yetmezlik
- 

#### **1.1.7. PKOS Fenotipleri**

Polikistik over sendromu heterojen bir hastalık olduğu için hastalar farklı fenotiplerle karşımıza gelmektedir. Bu nedenle son yıllarda bazı araştırmacılar PKOS hastalarını fenotiplerine göre alt gruplara ayırmaktadır. Özellikle AES grubu bu alt gruplarla ilgili fenotipler tanımlamıştır (68, 69).

Polikistik over sendromu fenotipinde genetik faktörler hiperandrojenemi ve/veya insülin direncinin şiddetini etkilerken çevresel faktörler vücut ağırlığını

etkileyerek fenotipte etkili olabilir. Vücut ağırlığındaki değişiklikler hastaları bir hiperandrojenik fenotipten diğerine geçirebilir (69).



**PCOS 'da Rotterdam kriterlerine göre 4 fenotip ortaya çıkar**

PCOS Fenotipi Rotterdam Kriterleri	Anovülasyon	Hiperandrojenemi	Transvajinal USG'de Polikistik over görünümü
Ciddi PCOS	+	+	+
Anovülasyon ve hiperandrojenemi	+	+	-
Ovulatuvar PCOS	-	+	+
Hafif PCOS	+	-	+

**Şekil 8.** Rotterdam kriterlerine göre PKOS fenotipleri (70)

### 1.1.8. Tedavi

Polikistik over sendromlu kadınların yönetiminde hem akut hem de uzun dönem klinik sonuçları düzeltmek veya önlemek gereklidir.

#### 1.1.8.1. İzlem

Yeterince düzenli siklus araları (yılda 8 ila 12 menses) ve hafif hiperandrojenizmi olan PKOS'lu kadınlar tedaviyi tercih etmeyebilirler. Bu kadınlarda, dislipidemi ve diyabetes mellitus için periyodik tarama gereklidir.

#### 1.1.8.2. Yaşam Tarzı Değişiklikleri

Polikistik over sendromu olan obez kadınlar için ilk ve en iyi tedavi yöntemi kilo vermektir. PKOS olan obez kadınlar için diyet ve egzersize yönelik yaşam tarzı değişikliklerinin, yaşamın her döneminde tedavide belirgin önemi vardır. Az miktarda kilo kaybı bile (vücut ağırlığının %5'i) bazı kadınlarda normal ovulatuvar

siklusların düzene girmesi ile sonuçlanabilir. Bu düzelme, insulin ve SHBG düzeylerindeki artışın aracılık ettiği androjen düzeylerindeki azalmadan kaynaklanır (71).

### **1.1.8.3. Menstrüal Anormalliklerin Tedavisi ve Endometrium Kanseri Gelişimi için Risk Yönetimi**

Polikistik over sendromlu hastalar endometrial hiperplazi veya kanser gelişimi açısından 3 kat artmış risk ile karşı karşıyadırlar (72). Endometrial kalınlık artışı, menstrüal anormallikleri olan ve uzun süredir anovulasyon kanamalarından şüphelenen kadınlarda endometrial örnekleme yapılması önerilmelidir.

### **1.1.8.4. Kombine Oral Kontraseptifler**

Menstrüal bozukluklarda ilk basamak tedavi, düzenli menstrüal siklusları sağlayacak kombine oral kontraseptif hap (KOK) kullanımınıdır. KOK'lar gonadotropin salınımını baskılayarak ovaryan androjen üretiminde azalmaya neden olur ve androjen düzeyini düşürürler. KOK'ların içindeki östrojen bileşeni, SHBG düzeylerini artırır. Progesterin bileşeni, östrojenin endometrium üzerindeki proliferatif etkilerini antagonize eder, böylece karşılanmamış östrojene bağlı endometrial hiperplazi riski azalır.

### **1.1.8.5. Siklik Progesterinler**

Kombine oral kontrasepsiyon kullanımının kontrendike olduğu hastalarda her bir ile üç ayda bir progesteron çekilme kanaması önerilmektedir. Kullanılan rejim örnekleri: MPA günde 5 ila 10 mg oral 12 gün veya mikronize progesteron her akşam 200 mg oral olarak 12 gün şeklindedir. Hastalar, aralıklı kullanılan progesterinlerin akne veya hirsutizm semptomlarını azaltmayacağı veya kontrasepsiyon sağlamayacağı konusunda bilgilendirilmelidir.

### **1.1.8.6. Hirsutizm Tedavisi**

Gerçek virilizasyon nadir görülmekle birlikte anovulatuvar hastaların %70'inde kozmetik açıdan rahatsız eden bir hirsutizm mevcuttur.

İlaçlar maksimum tedavi edici etkiyi gösterdiğinde, kalıcı kozmetik tedaviler de uygulanabilir.

### **1.1.8.7. Gonadotropin-Releasing Hormon Agonistleri**

Gonadotropin-releasing hormon (GnRH) agonistleri zamanla gonadotropin düzeylerini ve sonrasında androjen düzeylerini etkin biçimde azaltır. Hirsutizm tedavisindeki etkinliklerine rağmen, kemik kaybı yapmaları, pahalı olmaları ve menopozal yan etkileri nedeniyle uzun süreli tedavi yöntemi olarak tercih edilmez.

### **1.1.8.8. Androjen Reseptör Antagonistleri**

Antiandrojenler, androjen reseptörüne androjen bağlanmasının yarışmalı inhibitörleridir (73). Antiandrojenik ajanların hiçbiri hiperandrojenizm tedavisinde FDA tarafından onaylanmamıştır, ancak onaylanmamış olarak kullanılmaktadırlar. Spironolakton, günde 2 kez 50 veya 100 mg doz uygulaması ile günümüzde Birleşik Devletlerde kullanılan başlıca antiandrojendir. Bu ilaç, antiandrojen etkilerine ek olarak aynı zamanda  $5\alpha$  redüktazın doğrudan inhibisyonu ile kıl dönüşümünü inhibe eder (74).

Avrupa, Kanada ve Meksika'da tercih edilen antiandrojen, sıklıkla oral kontraseptiflerin içinde pazarlanan siproteron asetattır (12,5-100 mg günlük veya progesterin içeren oral kontraseptif kombinasyonu ile).

### **1.1.8.9. Akne ve Akantosis Nigrikans Tedavisi**

Akne tedavisinin bir bölümü, hirsutizm ile benzerdir ve androjen düzeylerinin düşürülmesini içerir. Tedavi, 1) kombine oral kontraseptifler, 2) spironolakton veya flutamid gibi androjen reseptörüne bağlanmayı inhibe eden antiandrojenler veya 3) finasterid gibi  $5\alpha$ -redüktaz inhibitörlerini içerebilir (75).

### **1.1.8.10. İnsulin Duyarlılaştırıcılar ile Tedavi**

Kronik anovulasyonlu kadınların genellikle insülin dirençleri vardır ve tip 2 diyabetes mellitus ve kardiyovasküler hastalık gelişimi için risk taşırlar. PKOS'lu kadınların %10'unda 40 yaşında diyabet gelişir (76).

#### **1.1.8.10.1. Metformin Kullanımı**

Metformin, oral yolla kullanılan biguanid türevi insülin duyarlılaştırıcı ajandır ve tip 2 diyabet tedavisi için dünyada en yaygın kullanılan ilaçtır. Metformin, hepatik glukoz üretimini azaltır, barsaktan glukoz emilimini azaltır, çevresel insülin

duyarlılığını artırır ve lipolizi inhibe eder. Bu da dolaşan serbest yağ asitlerinin konsantrasyonlarını azaltır ve aynı zamanda karaciğerdeki glukoneogenezi azaltmaya yardımcı olur. Metforminin çalışma mekanizması tam olarak net değildir, ancak karaciğer ve iskelet kaslarında adenosin monofosfat ile aktive protein kinaz yolunun aktivasyonunu içermektedir (77).

#### **1.1.8.10.2. Tiazolidinedionların Kullanımı**

Tiazolidinedionlar, insulin duyarlılık artırıcı başka bir grup ajandır. PKOS'lu kadınlarda insulin direncini düzeltmek için kullanılırlar. Bunlar rosiglitazon, pioglitazon ve daha önce bulunan karaciğer toksisitesi yüzünden piyasadan kaldırılan troglitazondur. Tiazolidinedionlar peroksizom proliferatör aktive reseptör gama (PPAR $\gamma$ ) için sentetik agonistlerdir ve bu reseptörde protein, karbonhidrat, lipid metabolizmasında yer alan genlerin düzenlenmesinde bir nükleer transkripsiyon faktörü olarak görev yapar (78). PKOS'lu kadınları içeren çalışmalarda rosiglitazon ve pioglitazon insulin duyarlılığını arttırmış, glukoz toleransını doza bağlı olarak düzeltmiştir. Ancak, bu ilaçların kardiyak komplikasyonları olduğunu bildiren yayınlar da vardır (79). Metformin, tiazolidinedionlardan daha fazla insulin duyarlılığını artırır ve PKOS'lu kadınların tedavisinde tercih edilmelidir.

#### **1.1.8.11. İnfertilite Tedavisi**

Kronik anovulasyon infertilitenin en sık görülen nedenlerinden birisidir. PKOS'lu kadınlarda, oosit kalite düşüklüğü veya endometrium ve implantasyon anomalileri gibi faktörler infertiliteye ek katkıda bulunabilir. Çocuk isteği olan infertil anovulatuvar kadınlar ovulasyon indüksiyonu için iyi adaylardır.

Tercih edilen ilk ilaç klomifen sitrattır. 50-100 mg $\times$ 5 gün, siklusun 3.-5.günü başlanır. Klomifen tedavisi ile kümülatif gebelik oranı 3 siklus sonrası yaklaşık %50'dir ve 6-9 siklus sonrası bu oran %75'e yaklaşır (80). Çoğul gebelik riski yaklaşık %5-8 arasındadır. Hastaların yaklaşık %20'si klomifen tedavisine dirençlidir, bunların çoğunda şiddetli hiperandrojenizm veya obezite bulunmaktadır.

Klomifen tedavisine dirençli PKOS'lu kadınlarda insulin duyarlılığını artırıcı ajanların tedaviye eklenmesiyle ovulasyon oranlarında artış olduğunu gösteren çalışmalar vardır (81). Metformin bu amaçla yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak, randomize çok merkezli çalışmalarda, iki ilacı tek başına ve kombine olarak

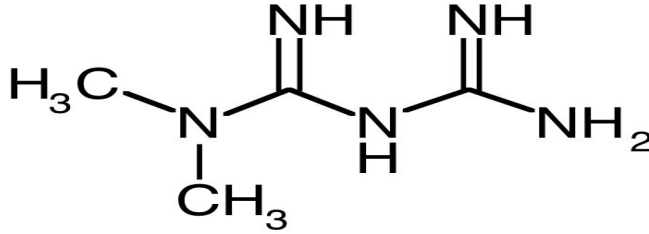
karşılaştırdıklarında, klomifen metformine üstün bulunmuştur ve kombine tedavide anlamlı ek fayda sağlanamadığı görülmüştür (82).

Ekzojen gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu oldukça etkilidir, ama çoğul gebelik ve ovaryan hiperstimülasyon sendromundan (OHSS) kaçınmak için hastanın yakın izlemi gerekir.

## 1.2. Metformin

Biguanidler diyabet tedavisinde 30 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Bunlardan metformin dünyanın pek çok ülkesinde olduğu gibi Türkiye’de de kullanımda bulunan tek biguaniddir (83, 84).

### 1.2.1 Klinik Farmakoloji



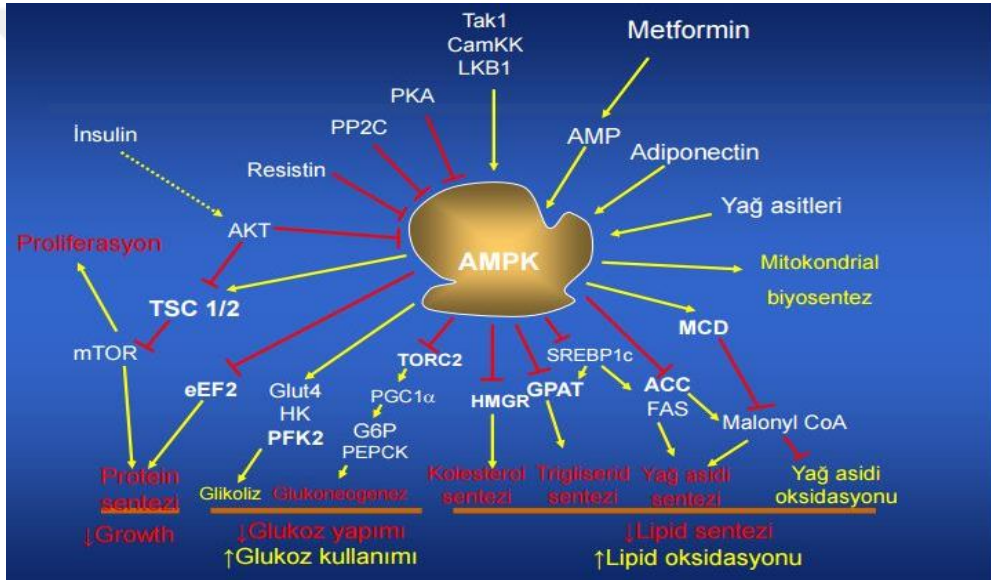
Şekil 9. Metforminin kimyasal yapısı

Biguanidler birbirine bağlanmış iki guanidin molekülüdür. Biyoyararlılığı %50-60 kadar olup hızlı bir şekilde ince barsaklardan absorbe edilir (83-88). Sağlam böbrek fonksiyonu güvenli tedavi için zorunludur. Potansiyel tehlike için 2 önemli hücrel mekanizma vardır. 1-Biguanidler hücrel solunumu inhibe ederler, 2-Anaerobik glikolizi uyararak laktat oluşumunu uyarır. Bu durum kalp yetersizliği ve ileri ateroskleroz gibi özellikle hipoksik koşulların varlığında önem kazanır. Lipofilik membran elemanlarına bağlanma ve karaciğerde birikme, biguanidlerin toksisitesi için önemlidir (83).

### 1.2.2. Etki Mekanizması

Metforminin kan şekeri düşürücü etkisi yalnızca diyabetiklerde ortaya çıkar, bu yüzden bu ilaçlar antihiperglisemik ilaçlar olarak adlandırılırlar. Bu ilaçların etki mekanizması bugün bile tam anlamıyla açığa kavuşmamış olmakla beraber, multifaktöryel etki gösterdikleri ve özellikle insülin direnci bulunan vakalarda tercih edilmeleri gerektiği ileri sürülmüştür. Metforminin esas olarak tip 2 diyabette artmış

olan karaciğer glukoz üretimini baskılayarak etki gösterdiği, periferik dokularda (özellikle iskelet kasında) glukoz tutulumunu ve insülin etkisini arttırdığı çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Biguanidler intestinal glukoz emilimini geciktirirler ve dolayısıyla postprandiyal hiperglisemiye engellerler (85, 89, 90). Metformin kas ve yağ dokusundaki hücrelerde glukoz taşınması üzerine insülin etkisini güçlendirir. Dolayısıyla yeterli ölçüde insülinin bulunması etki göstermesi bakımından önemlidir. İnsülin sinyal transmisyonunun anahtar enzimi olan tirozin kinaz aktivitesi metformin uygulamasından sonra normalleşmektedir. Metformin hücresel düzeyde insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesini düzeltir, GLUT4 taşıyıcılarının sayısını ve aktivitesini artırır (83, 84).



**Şekil 10.** Metformin'in Etki Mekanizması (Greenspans Basic Clin Endocrinol 2011: 582)

### 1.2.3. Glisemi Kontrolü

Etki mekanizması göz önüne alındığında metformin hemen hemen tüm Tip 2 diyabetiklerin özellikle erken dönemlerinde endikedir. Bu özellikle obez Tip 2 diyabetikler için daha da önemlidir. Ortalama açlık kan şekerini 60-70 mg/dl, ortalama hemoglobin A1c düzeyini ise kötü kontrollü diyabet hastalarında %1.5-2 düşürmektedir (83).

#### **1.2.4. Lipid Profili ve Kardiyovasküler Sistem**

Glisemi kontrolünün iyileştirilmesine ek olarak metforminin serum lipid seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Metformin tedavisi, özellikle belirgin hipertrigliseridemi ve hiperglisemisi olan hastalarda ve ayrıca diyabetik olmayan kişilerde dolaşan trigliserid seviyelerinde orta dereceli bir azalma (%10-20) sağlar. Dolaşan toplam kolesterol düzeylerinde küçük (%5-10) azalmalar bildirilmiştir. Lipid profilindeki iyileşmeye ek olarak metforminin hemostazla ilgili yararlı etkileri bulunmaktadır. Fibrinoliz artar ve fibrinoliz inhibitörü (PAI1) azalır. Dahası trombosit agregasyonu ve dansitesinde azalma olduğu gösterilmiştir (84).

#### **1.2.5. Doz Şeması ve Yan Etkiler**

Metforminin başlangıç dozu günde 2 kez 500 mgdır. Yan etkilerini azaltmak için 2 ana öğünde alınması yararlıdır. Dozaj istenen hedefe ulaşana kadar ya da 3000 mg/gün olana kadar her 1-2 haftada bir artırılmalıdır. Maksimal glukoz düşürücü etki hastaların %80-85'inde 2000 mg/gün dozunda ortaya çıkar. Günlük maksimum dozu 3000 mgdır. Gastrointestinal yakınmalar (bulantı, kusma, metalik tat ve diyare) olguların %20-30'unda ortaya çıkar. Hastaların %4-5'i metformini tolere edemez. Metforminin B12 vitamini emilimini etkilediği bilinse de klinik önemi yoktur. En önemli yan etkisi laktik asidozdur. Gerçekte bu tehlike abartılmıştır. Olgu sayısı her yıl 100.000 kişi için 3 olarak bildirilmiştir. Deri alerjileri, kan sayımı anormallikleri nadir olarak görülmektedir (83).

#### **1.2.6. Kontrendikasyonları**

Tüm hipoksik koşullarda (solunum yetersizliği, koroner arter hastalığı, aterosklerotik, iskemik vasküler hastalıklar, anemiler), yaşlılarda ve multimorbid hastalarda kontrendikedir. Alkolizm, karaciğer hastalığı (yağlı karaciğer hariç), kalp yetmezliği, hamilelik, vitamin B12 yetmezliği ve renal fonksiyon bozuklukları da (serum kreatinin değeri erkeklerde >1.5 mg/dl'den, kadınlarda >1.4 mg/dl'den daha fazla ise) kontrendikasyon oluşturur (83).

#### **1.2.7. PKOS'ta Kullanımı**

İnsülin rezistansı ve buna bağlı kompensatuar hiperinsülinemi, PKOS patofizyolojisinde major bir rol oynar. Yaklaşık %25-60 olguda hiperinsülinemi ve insülin direnci saptanabilir (1,86). Metformin glukoz transportunu artırarak PKOS'lu

hiperinsülinemik hiperandrojenemik olgularda insülin seviyesini düşürerek, insülinin IGF-1 üzerinden olan etkisini azaltmakta ve sonuçta androjen seviyeleri de düşmektedir. Metformin tedavisinin insülin sensitivitesini artırdığı ve serum insülin ve androjen konsantrasyonunu azalttığı, hirsutizmi ve ovulasyonu düzelttiği gösterilmiştir (89).

Açlık glukoz seviyeleri ve OGTT esnasındaki plazma glukoz seviyesi 3 aylık metformin tedavisi ile azalır. Fakat önemli farklılıklar 6 aylık metformin tedavisinden sonra görülür (90). Üç-altı aylık metformin tedavisi ile açlık insülin konsantrasyonu önemli oranda azalır. Altı aylık metformin tedavisi ile erken faz insülin sekresyonu önemli oranda azalırken açlıkta ve OGTT'nin 30. dakikasında serum C Peptid konsantrasyonu artar. Altı aylık metformin tedavisi ile erken faz C Peptid sekresyonu yükselme eğilimindedir. Obezlerde metformin tedavisi, insülin sensitivitesini düzelttiği ve santral obeziteyi azalttığı için önerilmektedir. Altı aylık metformin tedavisi ile bel kalça oranı önemli oranda azalır. Diğer yandan metforminin insülin sensitivitesini düzeltmesinin kilo kaybına bağlı olup olmadığı halen tartışmalıdır (90). İnsülin duyarlılığını arttırıcı ilaçlar ile yapılan çalışmalarda hem obez hem de obez olmayan PKOS olgularında insülin direncinin azaldığı gösterilmiştir. Serum adiponektin, CRP, oksidatif stres, PAI-I ve homosistein gibi KVH risk belirteçleri üzerine insülin duyarlılığını arttırıcı bu ilaçların olumlu etkileri gösterilmiştir. Bu verilere ek olarak insülin duyarlılığını arttırıcı ilaçların serum androjen düzeyini azalttığı, menstrual bozukluklukları ve anovulatuvar siklusları büyük oranda düzelttiği ve ovulasyon indüksiyonunda klomifen sitrata ek katkıda bulunduğu da gösterilmiştir (91-93).

Anovulasyon veya oligoovulasyon infertilitenin %25'inin nedenidir (89). Menstrual düzensizlik PKOS'lu hastaların %80-100'ünde görülür ve hastaların %40'ından fazlasında oligoovulasyon olur (94). Tek başına metforminin infertilite üzerine etkisi bilinmemektedir (89). Metformin teka hücrelerinden androjen üretimini inhibe eder, pitüiter LH sekresyonunu azaltır ve böylece ovulasyona ve düzenli menstrual sıklusa neden olur (95). Obez ve non-obez PKOS'lu hastalarda ovulasyon indüksiyonu, düzenli menstrual siklus ve gebelik için metformin etkilidir. Araştırmacılar klomifen sitrat dirençli PKOS'lu Asyalı kadınlarda ovulasyon indüksiyonu ve gebelik üzerine metforminin etkisini göstermişlerdir. PKOS'lu

kadınlarda anovulasyon tedavisinde metforminin etkisi gösterilmesine rağmen, ovulasyon indüksiyonunda halen klomifen sitrat seçilmektedir. Metforminle beraber klomifen sitrat kullanımı gebelik başarısı yönünden tek başına klomifen sitrat kullanımı ile karşılaştırıldığında çok daha etkilidir (95).

Gözlemsel çalışmaların çoğunda günlük yaklaşık 1500 mg metformin dozunun hem obezlerde hem de obez olmayanlarda menstrual siklus düzenlenmesini sağlayacağı bildirilmiştir. Metforminin menstrual siklus üzerine etkisi ovulatuvar siklusa bağlanmıştır. Metformin direkt over üzerine ya da diğer mekanizmalarla ovulasyonu sağlayabilir ama mekanizma tam olarak net değildir. Metforminin ratlarda GnRH inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir. Derleme ve meta-analizler PKOS'a bağlı anovulasyon tedavisinde metforminin etkinliğini göstermişlerdir. Metformin tedavisi ile ovaryan volüm önemli oranda değişmez, fakat ortalama follikül sayısı azalır (88).

Obez ve non-obez PKOS'lu hastalarda metformin kullanımı ile hiperinsülinemi azaltılarak hiperandrojenemi etkili bir şekilde tedavi edilir (95). Metformin progesteron üretimini etkilemeden overlerdeki teka hücrelerinden androstenodion üretimini inhibe eder. Metformin tedavisi ile total testosteron düzeyi önemli oranda azalır. Metformin sadece ovaryan hiperandorenizmi düzeltmez, aynı zamanda PKOS'lu kadınlarda adrenal hiperandrojenizm üzerinde de etkilidir. Metformin tedavisi ile testosteron, serbest testosteron ve androstenedione düzeyi azalır (97). PKOS'lu hastalarda insülin direnci ve yüksek plazma insülin seviyesi yüksek androjen konsantrasyonu ile ilişkilidir. İnsülin SHBG'nin hepatik üretimini azaltır, böylece dolaşımdaki serbest androjenlerin düzeyi artar. Metformin ovulasyonu düzenler. Hirsutizm ve akne gibi hiperandrojenemik semptomları azaltır (97). Bir çok çalışmaya göre optimal sonuçlar 6 aydan sonra görülmektedir. Oral hipoglisemiklerin teratojenik oldukları düşünüldüğü için gebelikte kontrendike olarak bilinirler. Metforminin gebelik kategorisi B dir (88). PKOS'lu kadınlarda abortus riski sağlıklı kadınlardan 3 kat fazladır. Tekrarlayan abortusların %40-80'inde PKOS vardır (88). PKOS'da düşük riski artışının mekanizması net değildir. Yüksek LH seviyesi, hiperinsülinemi, hiperandrojenizm, hipofibrinolizis, glikodelin ve IGFBP-1 azalması altta yatan neden olabilir. Metformin, kilo kaybı, PAI-1 ve

insülin seviyesinde azalma, androjen ve LH azalması, IGFBP-1 ve glikodelin artışı sağlar.

### **1.2.8. Ovulasyon İndüksiyonunda Kullanımı**

Polikistik over sendromlu hastaların birçoğunda insülin rezistansı olduğu için, klinik pratikte metforminin bu hastaların tedavisinde de kullanılabilceği düşünülmüştür. Metformin PKOS'da ovulasyon indüksiyonunda kullanılmaktadır (Günde 1500-2000 mg bölünmüş dozlar şeklinde). Ovulasyon indüksiyonundaki etki mekanizması kilo kaybında göstermiş olduğu metabolik etkileri ile benzerdir. Metforminin ovarian teka hücrelerindeki androjen üretimini inhibe ederek ovarian fonksiyonu iyileştirdiği düşünülmektedir.

Metformin PKOS'ta en çok çalışılan ajandır. Önceki pek çok çalışma metforminin tek başına ya da CC ile kombine olarak kullanımının OI'da ümit verici iyi sonuçlar oluşturduğunu göstermiştir. Ancak bu çalışmaların çoğunda rölatif olarak az sayıda örnekle çalışılmıştır. Bir meta-analizde, metformin tedavisi alan ve almayan grup karşılaştırıldığında, klinik gebelik oranlarını artırdığı ancak canlı gebelik oranlarına etki etmediği gösterilmiştir (96). Çok merkezli geniş bir randomize kontrollü çalışmada (Pregnancy in PCOS-I), PKOS'da ovulasyon indüksiyonunda, metformin ve klomifen sitratın tek başına kullanımı ile kombine kullanımları değerlendirilmiş ve metformin kullanımının, klomifen sitrata oranla daha düşük gebelik oranları sağladığı bulunmuştur. Ancak VKİ > 35 kg/ m<sup>2</sup> olan hastalarda klomifen sitrat ile metforminin kombine edilmesinin bir avantaj sağladığı da bildirilmiştir (98). Yapılan bir çalışmada, yalnızca klomifen kullanımına göre kombine metformin ve klomifen kullanan hastalarda, düzenli siklus, ovuluar cevap ve gebelik oranları daha yüksek bulunmuştur (99).

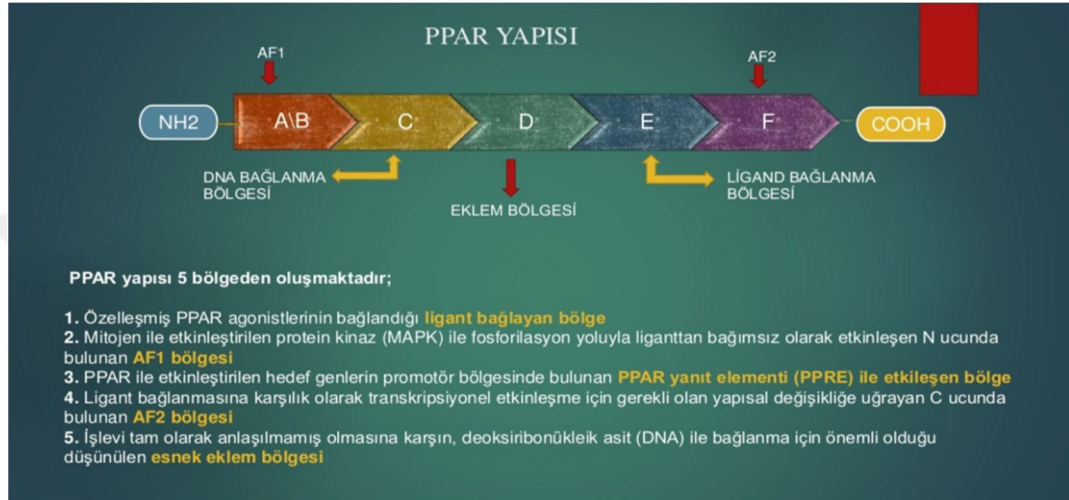
## **1.3. Glitazonlar (Tiazolidinedionlar)**

### **1.3.1. Giriş**

Glitazonların prototipi olan ciglitazon ilk olarak 1982 de tanımlandı; fakat etkisinin azlığı ve yan etkilerinin fazlalığı nedeniyle klinik kullanıma giremedi. İlk kullanıma giren troglitazon ise hepatotoksisite ve ölümlere yol açması nedeniyle 2000 yılında kullanımdan çekilmiştir (100). Rosiglitazon ve pioglitazon olmak üzere iki preparat kullanımda mevcuttur. Glitazonlar, primer etkilerini peroksizom

proliferatör–aktive reseptör gamma (PPAR - $\gamma$ ) olarak adlandırılan özgün reseptörleri aktifleştirerek gösterirler. İnsülin etkisini ve lipid metabolizmasını modüle eden genlerin ekspresyonunu değiştirirler. Sonuçta; kas, karaciğer ve yağ dokusundaki insülin duyarlılığını arttırarak insülin direncini azaltırlar. Bu nedenle bu grup ilaca “insülin sensitizer” denir (100, 101).

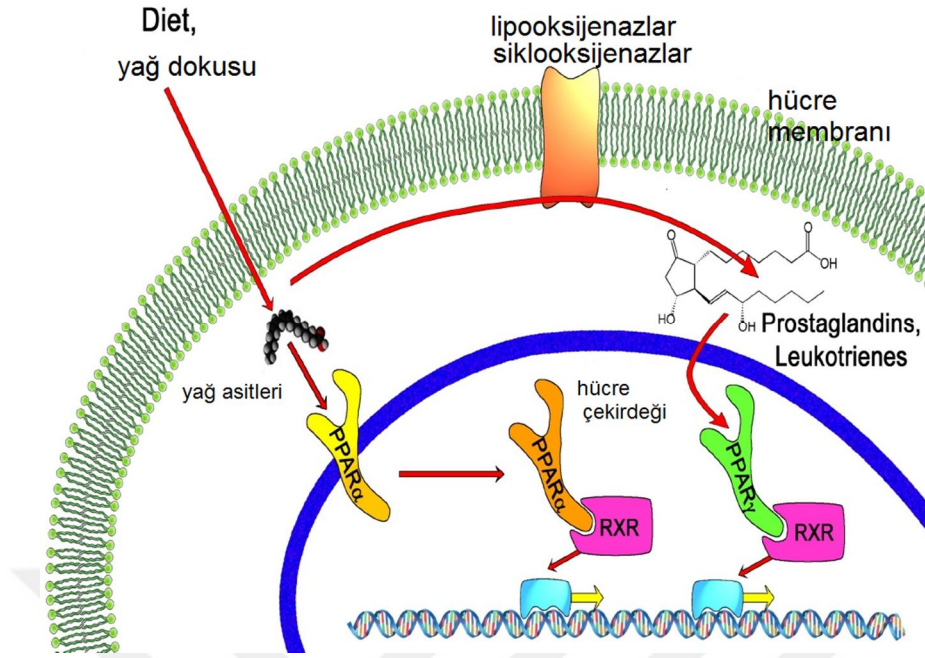
### 1.3.2. PPAR Reseptörleri



Şekil 11. PPAR Yapısı

İnsülin duyarlılığı ve hücre içi lipid metabolizması ile ilişkili besin molekülleri, metabolitler, hormonlar, büyüme faktörleri, inflamatuvar sinyaller ve ilaçlar tarafından indüklenen hücresel bilginin transkripsiyon faktörleri tarafından bütünleştirilmesine en iyi örnek peroksizom proliferatör aktivatör (PPAR) reseptörleridir (102).

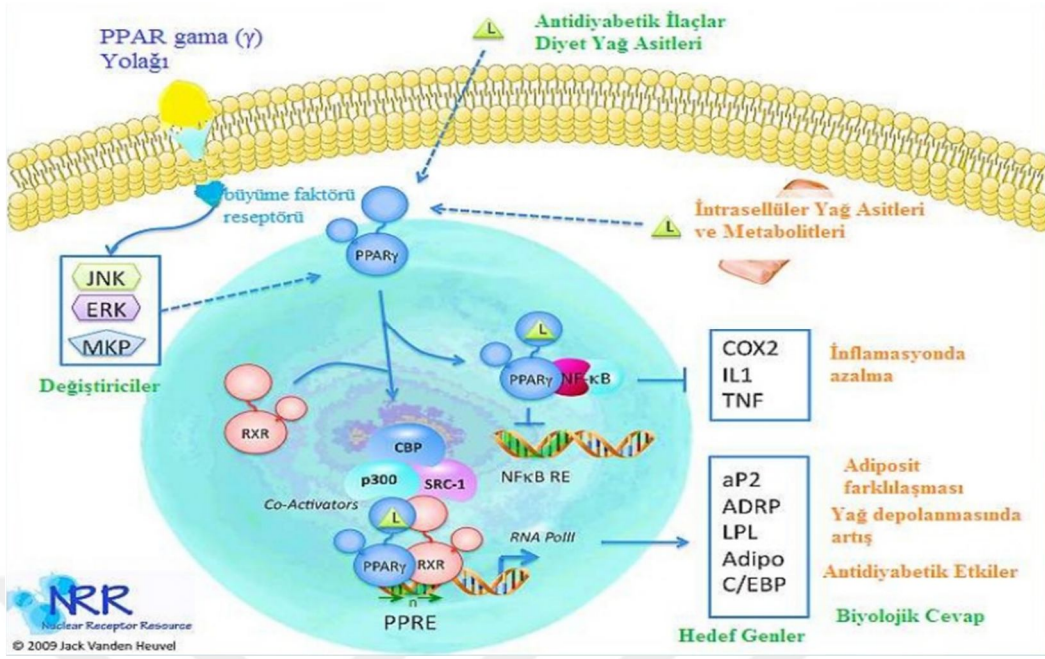
Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör hormonla aktifleşen nükleer reseptör ailesindedir. Reseptörlere ligan bağlanmasından sonra PPAR’larda özgün konformasyonel değişiklikler olur. Bu da birçok koaktivatör proteinin fonksiyon görmesine neden olur. Ligandlar koaktivatörlere hareket etme yeteneklerine göre farklılık gösterirler ki gözlenen çeşitli biyolojik yanıtları açıklayabilir (103). PPAR’lar ligand bağlanmasına yanıt olarak, retinoid x reseptörle (RXR) etkileşerek gen ekspresyonunu düzenlerler.



Şekil 12. PPAR- RXR etkileşimi

Değişik izoformları vardır: PPAR alfa-PPAR beta/delta-PPAR gama gibi. Alfa temel olarak karaciğer tarafından eksprese edilir. Yağ asidi metabolizmasında merkezi rol oynar ve fibrat içeren ilaçlar için bir hedef teşkil eder. PPAR beta/delta pek çok farklı dokuda eksprese edilir ve bu ekspresyonun bazı yağ asitleri tarafından düzenleniyor olması kuvvetle muhtemeldir.

Peroxisom proliferatör aktive edici reseptör gama: Başlıca adipoz doku olmak üzere pankreatik beta hücreleri, vasküler endotel ve makrofajlarda eksprese edilir. Karaciğer, kalp ve iskelet kası gibi PPAR alfanın daha fazla eksprese edildiği dokularda gama ekspresyonu düşüktür. İskelet kasında PPAR gama eksik farelerde glikoz intolerans, hiperinsülinemi ve ciddi insülin direnci olduğu ve bunun da düşük ekspresyona rağmen hayati role sahip bir unsur olduğu ortaya çıkarılmıştır (104).



Şekil 13. PPAR gama ( $\gamma$ ) yolağı

İki tipten oluşur Gama 1 ve 2. Gama 1 monosit, makrofaj dizisinde, dalağın lenfoid hücrelerinde ve kemik iliğinde yüksek oranda eksprese edilir ve immunoregülasyon için önem taşır. PPAR gama 2 adipoz dokuda sınırlıdır. Adiposit farklılaşma ve olgunlaşmasında, lipid ve glukoz metabolizmasında hayati role sahiptir.

### 1.3.3. Etki Mekanizması

Glitazonların birçok süreci modüle ederek insüline duyarlılığı arttırdığını düşünülmektedir. Bunlar arasında insülin reseptör kinaz etkinliği, insülin reseptör fosforilasyonu, insülin reseptörlerinin sayısı ve hepatik glikoz metabolizmasına etkileri sayılabilir. Glitazonlar PPAR gama ya bağlanarak ve reseptörü aktifleştirerek insülin aracılıklı glukoz alımını, adiposit farklılaşmasını sağlar (105). Leptinin ve tümör nekrozis faktör alfanın ( $TNF-\alpha$ ) serbestleşmesini azaltırken, lipoprotein lipaz, adiposit lipid bağlayıcı protein ve GLUT-4'ün salınımını arttırmaları (106). İnsülin sekresyonu üzerine etkileri yoktur. Aynı zamanda pankreas beta hücre fonksiyonunda iyileşme sağlarlar (107).

Glitazonların adiposit farklılaşmasını arttırıcı etkisi ve serbest yağ asitlerinin uptake'i ile depolanmalarını arttırıcı etkileri göz önüne alındığında yağ dokusunda artış olabileceği öngörülebilir. Diğer yandan da insülin direncindeki azalmayı

karaciğer ve kas gibi dokularda yağ miktarının azalmasıyla açıklanmaktadır. Yani glitazonların yağ dokusu artışından ziyade asıl etkileri yağ dağılımı ile ilgilidir (100).

Tip 2 diyabetes mellitusun patogenezi ve glitazonların etki mekanizmaları göz önüne alındığında, glitazonların net etkileri; periferik dokularda glukoz uptake'inde artma ve karaciğerde azalan insülin direnci sonucu karaciğer glukoz üretiminde azalma şeklinde özetlenebilir.

#### 1.3.4. Farmakokinetiği

Glitazonlar hızlıca ve neredeyse tamamen emilirler. Gıdalarla alındıklarında emilimleri hafif gecikir. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanırlar (>%99).

#### 1.3.5. Metabolik Etkileri

**Tablo 3.** Tiazolidinedionların Çok Yönlü Etkileri

---

-Glisemi kontrolü
-Hemoglobin A1C de azalma
-Serbest yağ asitlerinde azalma
-Lipid profilinde iyileşme (pioglitazon için daha belirgin)
-Beta hücre kitlesinde ve fonksiyonunun korunması
-İnsülin ve C peptid düzeyinde azalma
-Adiponektin ve leptinde artma
-Kan basıncında azalma
-İnflamatuar belirteçlerde (CRP, IL-6) azalma
-Endotelial fonksiyonlarda düzelme
-Fibrinolitik sistemde olumlu etkiler
-İntima-media kalınlığında azalma
-Visseral/subkutan yağ oranında azalma
-Polikistik over sendromu ve hepatosteatozun tedavisinde olumlu etkiler

---

#### 1.3.6. Yan Etkileri

**Hipoglisemi:** Tiazolidinedionlar insülin sekresyonunu etkilemediğinden sekretagog veya insülinle kombine edilmediklerinde hipoglisemiye yol açmazlar (100).

**Hepatotoksisite:** Bir tiazolidinedion üyesi olan troglitazonun ciddi idiosenkratik hepatotoksisiteye yol açmasına rağmen klinik kullanımda bu ilaçlarla

ilişkili ciddi hepatotoksisite gösterilmemiştir. Yine de bazı hastalarda karaciğer enzimlerinde ciddi artışa neden olabilecekleri unutulmamalıdır (108).

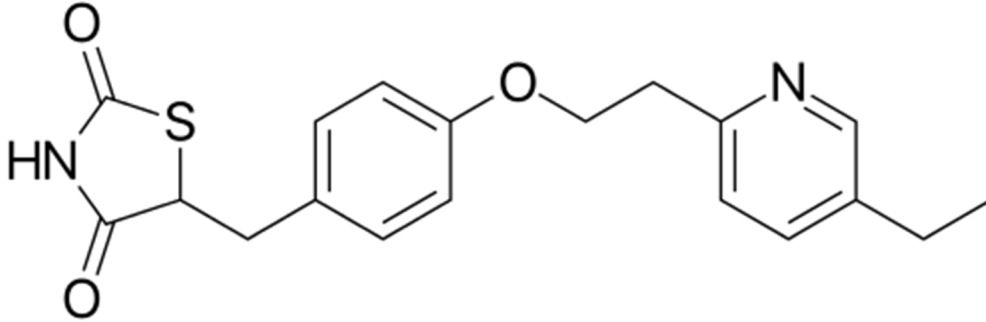
**Kilo alımı:** Doza ve zamana bağlı kilo artışına neden olmaktadır ve diyabetik hastalarda özellikle insülin veya sülfonilüreler ile kombine edildiklerinde bu artış ortalama 3-4 kiloyu bulmaktadır.

**Sıvı retansiyonu ve ödem:** Hastaların %15'inde sebebi henüz açıklanamayan periferik ödem olmaktadır. Glitazonların neden olduğu ödem diüretiklere dirençlidir. Glitazon kullanan hastalarda ödemle karşılaştırıldığında konjestif kalp yetmezliği ayırıcı tanısı mutlaka yapılmalıdır. Çünkü glitazonlar asemptomatik kalp yetmezliğini aşikar hale getirebilirler. Yine bu hastaların eş zamanlı insülin kullanıyor olmaları sıvı retansiyon riskini daha da artırır. Kilo alma ve ödem açısından hastalar dikkatle takip edilmelidir (100, 109).

**Anemi:** Sıvı retansiyonunun bir sonucu olarak anemi ve hematokritte azalma meydana gelebilir (100).

**Kemik fraktür riskinde artış:** Bazı hayvan çalışmalarından hareketle yapılan bazı insan çalışmalarında glitazonların kadınlarda kemik fraktür riskini arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (87).

### 1.3.7. Pioglitazon



Şekil 14. Pioglitazonun kimyasal yapısı (110)

Pioglitazon PPAR gama için oldukça selektif bir agonisttir. Lipofilik olduğu için reseptöre bağlanma affinitesi yüksektir. Pioglitazon ile GLUT aktivasyonu, glukoz uptake ve utilizasyonunun artışı, lipoprotein lipaz aktivasyonu, lipogenez, adiposit diferansiyasyonu, yağ asidi membran taşıyıcılarında artış meydana gelir. Bu etkileri ile kas ve yağ hücrelerinin glukoz alımı, yağ hücrelerinin yağ asidi alımı, yağ dokusunda lipogenez artarken; karaciğer hücrelerinde glukoneogenez azalır.

Pioglitazon metabolitleri çok daha aktiftir ve esas olarak safra ile atılırlar. Renal yetmezlikte verilebilir, doz ayarlaması yapma gereği yoktur. Açlıkta alınmayla 30 dakika içinde serumda ölçülebilir hale gelebilir ve 2.saatte pik konsantrasyona ulaşır. Başta albumin olmak üzere serum proteinlerine %99'un üzerinde bağlanır. Yemekle alınıp pik konsantrasyona ulaşma süresini uzatır ama emilimini azaltmaz. Yarılanma ömrü 3-7 saattir. Pioglitazonun aktif metabolitlerinin yarılanma ömrünün 26-28 saat olması pioglitazonun günde tek doz olarak kullanılmasını sağlar. Pioglitazon CYP3A4 ile metabolize edilir. Oral kontraseptiflerle benzer enzim üzerinden metabolize edildiklerinden etkileşim olabilir (105).

Pioglitazon hücrelerin insülin duyarlılığını arttırarak insülin bağımlı glukoz kullanmını arttırır. Böylece yükselmiş olan plazma glukoz konsantrasyonları, plazma insülin seviyeleri ve HbA1C değerlerinde azalma görülür. Trigliserid ve serum VLDL düzeylerini azaltırken HDL seviyesini arttırır. Serum LDL düzeylerinde ise bir miktar azalma görülür veya değişiklik olmaz.

### **1.3.8. Glitazonların Ovulasyon İndüksiyonunda Kullanılması**

Metformin ve klomifen sitrat direnci olan ve pioglitazon kullanan 9 hasta değerlendirilmiş ve 7 hastadan 4'ünün ilk siklus sonrası gebe kaldığı, 2 hastada ikinci siklus sonrası gebelik elde edildiği gösterilmiş ve bu bulgular ışığında pioglitazonun dirençli PKOS hastalarında etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (111).

Klomifene dirençli 60 hasta üzerinde yapılan randomize kontrollü bir çalışmada pioglitazonun ovaryan stromal kan akımında, ovulasyon indüksiyonunda ve IVF sonucu üzerindeki etkileri araştırılmış pioglitazon tedavisinin, ovulasyon indüksiyonunda ve IVF sonuçlarına verilen yanıtın iyileştirilmesinde faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır (112).

Pioglitazonun kontrollü over stimülasyonu (COS), IVF sonuçları ve follüküler sıvıdaki tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin-6 (IL-6) konsantrasyonları üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada oosit toplanması sırasında follükül sıvısındaki TNF- $\alpha$  ve IL-6 konsantrasyonlarının pioglitazon grubunda anlamlı olarak düşük olduğu, klinik gebelik oranlarının yüksek ve şiddetli over hiperstimülasyon sendromunun ise daha düşük olduğu bulunmuştur. Ancak istatistiksel farklar anlamlı değildi (113).

İnsülin duyarlılaştırıcı ajanlardan pioglitazon kullanılarak yapılan bir çalışmada ekstrasvillöz trofoblast hücrelerin plasentaya göçünde ve invazyonunda önemli rol oynayan insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) reseptörleri stimule edilmiş ve çalışma sonucunda insülin duyarlılığının kaybedilmesi ile oluşan gebelik anormalliklerinin insülin duyarlılığını iyileştirerek tedavi edilebileceği sonucuna varılmıştır (114).

**Çalışmanın amacı;** çalışmamızda testosteron propionat ve yüksek yağ diyeti ile oluşturulan sıçan PKOS modelinde hormonal parametreler ve yumurta gelişiminde görevli gen ifadeleri üzerine metformin ve pioglitazonun monoterapi ve kombinasyon tedavilerinin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda kullanılacak sıçanlar 22-25<sup>0</sup>C oda ısısında 12 saat ışık (7:00–19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00–7:00) tutularak özel olarak yaptırılan ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Tüm gruba aynı standart sıçan yemi verilerek add-libitum su, yiyecek alımları sağlandı ve hayvanların günlük olarak altları temizlenerek bakımları yapıldı. Hayvanlarda PKOS oluşturulması için aşağıdaki yöntem kullanıldı.

### 2.1. PKOS Oluşturulması

PKOS oluşturulması amacıyla yüksek yağ diyeti ve testosteron eş zamanlı olarak kullanıldı.

**1. Yüksek yağ diyeti ile besleme:** Kontrol grupları içeriği yaklaşık %5 yağ, %53 karbonhidrat, %23 protein=25KJ/Kg olan standart laboratuvar yemiyle beslendi. Yüksek yağ diyeti ile beslemede ise %22 yağ, %48 karbonhidrat, %20 protein=44.3KJ/Kg'lik bir diet uygulandı (115). Bu diyetin uygulandığı gruplar 1.günden itibaren deney sonuna kadar yüksek yağ diyeti ile beslendi.

**2. Testosteron uygulaması:** Sıçanlara ilk uygulama ratlar 21 günlük olunca başlandı ve bu uygulama deney sonuna kadar 3 günde bir aralıklarla tekrarlandı.

21 günlük 50 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan her grupta 10 hayvan olacak şekilde 5 eşit gruba ayrıldı. Deney toplam 12 hafta sürdü. PKOS oluşturulacak tüm gruplarda yukarıda açıklanan yöntem kullanıldı.

**Grup 1 (Kontrol grubu) :** Deney süresi olan 12 hafta boyunca herhangi bir işlem yapılmadı.

**Grup 2 (PKOS grubu) :** PKOS yukarıda açıklandığı şekilde oluşturuldu.

**Grup 3 (PKOS+Metformin grubu) :** PKOS yukarıda açıklandığı şekilde oluşturuldu. Metformin deneyin son 4 haftası 300 mg/kg/gün olmak üzere oral gavaj ile verildi (116).

**Grup 4 (PKOS+Pioglitazon grubu) :** PKOS yukarıda açıklandığı şekilde oluşturuldu. Pioglitazon deneyin son 4 haftası 25-30 mg/kg/gün olmak üzere oral gavaj ile verildi (117).

**Grup 5 (PKOS+Metformin+Pioglitazon grubu) :** PKOS yukarıda açıklandığı şekilde oluşturuldu. Deneyin son 4 haftası metformin 300 mg/kg/gün dozda ve pioglitazon 25-30 mg/kg/gün dozunda oral gavaj ile verildi.

G2, 3, 4 ve G5 gruplarda PKOS oluşturulması aynı şekilde gerçekleştirildi.

## 2.2. PKOS'un Tespiti İçin Uygulanacak Analizler

Hayvanlarda PKOS oluşumunun test edilmesi için aşağıdaki kriterler kullanıldı.

**a. Hayvanların vücut ağırlıkları ölçülmesi:** Vücut ağırlıkları haftalık olarak kaydedildi.

**b. Vajinal smearler:** Siklusun safhalarını tanımlamak için 21. günden deney sonuna kadar her sabah 9:00'da vajinal smearler alınmak suretiyle, östrus fazları takip edildi. Östrus siklusu takibi yaparken, yalancı gebelik ve anöstrus (düzensiz) siklusları engellemek amacıyla, sıçanlar ikiyeşerli olarak kafeslendi. Deney süresince her gün, faz değerlendirmelerinde aşağıdaki hücre özellikleri temel alındı.

**Proöstrus fazı** kümeler oluşturmuş nükleuslu epitel hücreleri,

**Proöstrus fazının ilerleyen döneminde** kornifiye hücrelerle birlikte salgı yapma özelliğine sahip, apikal yerleşimli nükleus içeren musinöz hücreler ve

**Östrus fazı** hücre popülasyonunun %90'ını nükleussuz kornifiye hücreler.

Deney süresi sonunda tüm gruplardaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) intraperitoneal (i.p) uygulanarak anestezi altında dekapite edildi.

## 2.3. Moleküler Genetik Analizler

### Kullanılan Aletler

- -20°C derin dondurucu: Arçelik, Türkiye
- -80°C derin dondurucu: Nuare, Meksika
- Etüv: Gallenkamp, Economy Incubator Size, Ukrayna
- Falkon Tüp: Corning® 430766, 15 mL Centri füge Tube, Meksika
- Homojenizatör: Next Advance, Averill Park NY, Bullet Blender Storm, ABD
- Homojenizatör Boncuğu: Next Advance, GB05-RNA 0.5mm Dia, RNase-Free Glass Beads, ABD
- Mini Plate Spin: Labnet C1000, ABD

- Otomatik Pipetler: Socorex, Acura 825, Switzerland, İsviçre
- PZR ve Qubit tüpleri (0.6ml): Neptune, Katalog: 3737.S.X, Biotix Laboratory Media, İngiltere
- Plate Yapıştırıcı: AB Applied Biosystems, MicroAmp, Optical Adhesive Film, ABD
- Plate: AB Applied Biosystems, MicroAmp, Fast Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode (0.1 mL), Singapur
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): Biometra, Almanya
- Real Time- PCR: AB Applied Biosystems, ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR Instrument, Foster City, CA
- Santrifüj: Sigma, Almanya
- Spin: Labnet International, Katalog No:C1031B-230V, Kore
- Vorteks: Elektro-Mag, Türkiye

#### **Total RNA İzolasyonu**

Bu işlem için 30-40 mg over dokusu alındı, ependorf tüplere konularak üzerlerine 500µl Tri Reagent (Bioshop) eklendi. Homojenizasyon boncuklarından doku miktarı kadar eklendi. Homojenizatörün 8. Hızında 5 dk homojenizasyon yapıldı. Tüpler içindeki homojenizatör boncukları ile birlikte 12.000 xg'de 2 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısımlar yeni tüplere aktarıldı üzerine 100 µl kloroform eklenip yaklaşık 15 sn vortekslendi. Tüpler oda sıcaklığında 2-3 dk bekletildi. 12.000 xg'de 2-4°C'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra 3 faza ayrılan sıvının en üst fazı başka tüpe alındı. 250 µl izopropil alkol eklendi ve 10 dk oda sıcaklığında bekletildi. 12.000 xg'de 2-4°C 'de 10 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımlar dököldü. Pellet üzerine 500 µl % 75'lik etanol eklendi, vortekslendi ve 7500 xg'de 2-4°C'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve etanol işlemi tekrarlandı. Süpernatant atıldıktan sonra tüpler bir müddet oda sıcaklığında bekletilerek etanolün uçması sağlandı. Kuruyan tüplerin üzerine su eklendi ve pipetaj yapıldı. İzole edilen RNA'lar -80°C'de saklandı.

### Spektrofotometrik RNA Ölçümü:

Ribonükleik asit ölçümü için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2.0 Fluorometer (İnvitrogen/Molecular Probes) kullanıldı. RNA miktarı µg/ml olarak ölçüldü. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı.

### Komplementer DNA Sentezi

High Capacity cDNA sentez kiti (Catalog number: 4368814, Applied biosystem, Waltham, MA USA) ile cDNA oluşturuldu. cDNA sentezi toplam 20µl hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10µl RNA örneği, 2 µl 10XRT random primer, 2 µl 10XRT buffer, 0.8 µl 25XdNTP mix, 4.2 µl nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1µl MultiScribe™Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı. Örnekler termal döngü cihazına (Applied biosystem, Waltham, MA USA) yerleştirildi. 25°C’de 10 dk, 37°C’de 120 dk, 85°C’de 5 dk ve 4°C’de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi. Oluşan cDNA örnekleri -20°C’de saklandı.

**Tablo 4.** cDNA karışım miktarı

Bileşik	Hacim (µl)	Katalog No
10X RT Tamponu	2.0	4319981
25X dNTP karışımı (100mM)	0.8	4367381
MultiScribe™Revers Transkriptaz	1.0	4319983
10XRT Random Primer	2.0	4319979
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	4.2	
Reaksiyon toplamı	10.0	

**Tablo 5.** cDNA sentezi için uygulanan PZR programı

PZR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

### Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu:

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA’lar sekans spesifik primerlerin varlığında Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile amplifiye edildi.

Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) kontrol gen olarak kullanıldı ve aşağıdaki tabloda verilen genlerin ifadeleri over dokusunda değerlendirildi.

**Tablo 6.** RT-PCR’ da kullanılan primerler

Gen Kısa Adı	Gen Uzun Adı
Gapdh; Kontrol geni	
<b>NEKROTİK GENLER</b>	
<b>OLR1583</b>	Olfaktöri reseptör 1583
<b>SYCP2</b>	Sinaptomel kompleks protein 2
<b>CYBB</b>	Sitokrom b245 beta zinciri
<b>PROAPOPTOTİK GENLER</b>	
<b>GADD45A</b>	Büyümeyi durdurucu ve DNA hasar indükleyici, alfa
<b>BAX</b>	Bcl2 ilişkili X, Apoptozis düzenleyicisi
<b>FAS</b>	Hücre yüzey ölüm reseptörü
<b>FASL</b>	Fas ligandı
<b>ANTI-APOPTOTİK GENLER</b>	
<b>BCL2L1</b>	Blr2 benzeri 1
<b>BIRC2</b>	Bakulaviral IAP tekrar içeren 2
<b>CASP2</b>	Kaspaz 2
<b>SİNYAL YOLAK GENLERİ</b>	
<b>VEGFA</b>	Vasküler endotelial büyüme faktörü A
<b>GAP43</b>	Büyüme ile ilişkili protein 43
<b>MAPK1</b>	Mitojenle aktive olan protein kinaz A

Real Time PCR 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PCR Plate hazırlanırken cDNA örneklerinde her bir kuyucuğa 2 µl kondu. Buz üzerinde her bir örnek için 5 µl TaqMan Master Mix, 2.5 µl nükleaz içermeyen su ve 0.5 µl primer hibridizasyon probu olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları ependorflara kondu ve vortekslendi. Plate’deki cDNA örneklerinin üzerine 8 µl hazırlanan karışımdan bırakılarak plate’in üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla mini plate spin cihazında 1 dakika santrifüj edildi.

**Tablo 7.** RT-PCR için her bir kuyucuğa konan bileşikler

Bileşikler	Hacim (µl)X Örnek Sayısı
cDNA	2.0
Primer	0.5
TaqMan Mix	5.0
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	2.5
Toplam	10.0

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR sistemi (Applied Biosystem, Waltham, MA USA) ile ölçüldü. Çalışmada GAPDH kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Isı koşulları 50°C’de 2 dakika, 95°C’de 10 dakika X 40 sıklüs, 95°C’de 15 saniye ve 60°C’de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı.

**Tablo 8.** Uygulanan RT-PCR programı

	RT-PCR X 40 döngü			
	1. Adım	2.Adım	3.Adım	4.Adım
Sıcaklık	50°C	95°C	95°C	60°C
Zaman	2dk	10dk	15sn	1dk

Elde edilen gen ifade düzeyleri belirttiği şekilde  $2^{-\Delta\Delta CT}$  yöntemi ile değerlendirildi.

#### 2.4. Histolojik Analizler

##### Ovarian morfolojinin histolojik olarak incelenmesi

Over dokuları alındıktan sonra %10’luk formaldehitte fiske edildi. Sonra, parafine gömüldü. Lamlar üzerine alınan 4 mikronluk kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Folliküller primordial, preantral, erken antral ve preovulotuar olarak işaretlendi. Oositlerin görülmediği durumlarda, duplikasyondan kaçınmak için sayım yapılmadı. Tüm kesitler tek bir kişi tarafından değerlendirildi. Sayımların ortalaması, her overde incelenen kesitlerin sayısına, sayılan total folliküllerin sayısının bölünmesiyle hesaplandı. Sadece yüksek kalitedeki kesitler değerlendirildi. Ovaryum dokularının ışık mikroskopik bulguları tüm gruplara ait ovaryum kesitlerinin ışık mikroskopik olarak incelenmesinde follikül sınıflaması yapıldı.

## 2.5. Biyokimyasal Analizler

### Serum Analizleri (Dekapitasyon Sonrası):

Tüm sıçanlardan elde edilen kan örnekleri 10 dk için 2500g'de santrifüj edilerek plazmalar ayrıldı ve elde edilen plazmalar kullanılmaya kadar -80 C'de saklandı. Açlık kan glukoz düzeyleri, insülin, östrojen, progesteron, LH, testosteron, HDL-kolesterol, toplam kolesterol, serbest yağ asidi, SHBG ve GnRH düzeyleri değerlendirildi. Deney grubu için referans değerler kontrol grubunun değerleri olarak kabul edildi.

**Dislipidemisinin Değerlendirilmesi:** Dislipidemini sınıflandırılmasında hem hipertriglisemi hem de artan toplam kolesterol/HDL-Kolesterol oranı her ikisini taşıyanlar dislipidemik kabul edildi.

**Hipergliseminin Değerlendirilmesi:** Deney grubunda hiperglisemi tespitinde, referans kan glukoz seviyelerinden yüksek olması esas alındı.

**Hiperinsülineminin Değerlendirilmesi:** Deney grubuna hiperinsülinemik denek seçiminde referans plazma insulin seviyelerinden yüksek olma esas alındı.

## 2.6. İstatistiksel Değerlendirme

Bu tez çalışmasında istatistiksel değerlendirme; Fırat Üniversitesi Lisanslı (193.255.124.131) IBM SPSS 22.0 paket program kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Student's t testi kullanıldı. İmmün boyamaların gruplar arasında değerlendirilmesi için Independent Samples T Test uygulandı. İstatistiksel değerlendirmede  $p < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Kilo alımı bulguları

**Tablo 9.** Kilo alımı bulguları

Gruplar	Kontrol	PKOS	PKOS Met	PKOS Pio	PKOS Pio Met
İlk	33,55±4,69	31,65±3,01	34,20±2,63	33,05±3,28	31,65±3,93
Son	272,30±20,98	324,87±26,98 <sup>a</sup>	323,30±33,06 <sup>a</sup>	342,50±27,13 <sup>a</sup>	324,70±45,00 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında  
p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

Kontrol grubu ile PKOS ve tedavi grupları karşılaştırıldığında gruplardaki sıçanların ilk kiloları arasında anlamlı farklılık olmadığı bulundu. Kontrole göre PKOS ve tedavi grupları son kiloları açısından karşılaştırıldığında tüm PKOS gruplarının kilolarının kontrole göre anlamlı olarak arttığı bulundu. Ancak PKOS grubu ile tedavi grupları ve tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında sıçanların son kiloları açısından anlamlı bir fark olmadığı belirlendi.

#### 3.2. Biyokimyasal ve Hormonal Bulgular

**Tablo 10.** Biyokimyasal ve Hormonal Bulgular

Gruplar	Kontrol	PKOS	PKOS Met	PKOS Pio	PKOS Pio Met
Progesteron	18,74±5,74	7,07±3,12 <sup>a</sup>	21,91±12,72	10,31±6,38 <sup>a</sup>	6,46±0,89 <sup>a</sup>
E2	22,54±10,69	17,99±11,42	19,07±7,69	13,65±4,96 <sup>a</sup>	16,27±5,32
Testosteron	18,50±0,53	36,52±8,74 <sup>a</sup>	39,24±7,61 <sup>a</sup>	21,29±5,16 <sup>bc</sup>	25,12±5,53
Glukoz	123,57±10,01	138,87±12,82 <sup>a</sup>	149,00±16,63 <sup>a</sup>	135,30±13,50 <sup>c</sup>	142,50±17,10 <sup>a</sup>
Kolesterol	44,00±5,47	49,87±9,67	55,00±13,63	46,60±7,47	52,12±11,17
HDL	15,14±2,53	15,03±4,96	16,31±4,66	14,29±2,80	16,67±3,15
VLDL	14,51±3,94	20,25±7,61	17,50±10,48	17,86±8,44	15,42±6,40
Trigliserit	72,57±19,70	101,25±38,06	87,50±24,15	89,30±22,24	77,12±20,37

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup> PKOS grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>c</sup> PKOS+Met grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>d</sup> PKOS+Pio grubuna göre karşılaştırıldığında.

p<0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

Kontrol grubuna göre PKOS grubunda progesteronun anlamlı olarak azaldığı ve testosteronun anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Yine kontrol grubuna göre PKOS grubunda glukoz düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Kontrol

grubuyla metformin grubu karşılaştırıldığında testosteron ve glukoz düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. Kontrolle pioglitazon grubu karşılaştırıldığında progesteron ve e2 düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Yine kontrol grubuna göre PKOS met pio grubunda progesteron düzeylerinin azaldığı glukoz düzeylerinin anlamlı olarak arttığı izlenmiştir. PKOS grubuna göre tedavi grupları karşılaştırıldığında sadece pioglitazon grubunda testosteron düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Met ve pio grubu karşılaştırıldığında ise testosteron ve glukoz düzeylerinin metformin grubuna göre pio grubunda anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Metformin ve pio grupları ile kombine tedavinin yapıldığı met+pio grubu karşılaştırıldığında değerlendirilen parametreler açısından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

### 3.3. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bulguları

Çalışmada PKOS oluşumunda over dokusunda etkili olabileceği düşünülen nekrotik, apoptotik, antiapoptotik ve sinyal yolağı genleri çalışıldı. Kontrolle karşılaştırıldığında Özellikle OLR1583, SYCP2, CYBB, GADD45A, BAX, FasL ve Bcl2L1 genlerinin gruplar arasında anlamlı düzeyde değişim gösterdiği belirlendi. Tablo'da çalışılan her genin kar artışı düzeyleri ve anlamlı farklılıkları gösterildi. Buna göre

**Tablo 11.** Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bulguları

HÜCRESEL SÜREÇLER	GEN ADI	mRNA KAT ARTIŞI DEĞERLERİ			
		PKOS	PKOS+Met	PKOS+Pio	PKOS+ Met+Pio
Nekrotik genler	<b>OLR1583</b>	330.57 <sup>a</sup>	628 <sup>ab</sup>	822.62 <sup>a</sup>	17.47 <sup>abcd</sup>
	<b>SYCP2</b>	0.18 <sup>a</sup>	0.37 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.21 <sup>a</sup>
	<b>CYBB</b>	0.06 <sup>a</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.9 <sup>bc</sup>	0.59 <sup>bc</sup>
	<b>GADD45A</b>	0.28 <sup>a</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	0.12 <sup>ab</sup>	0.15 <sup>a</sup>
Proapoptotik genler	<b>BAX</b>	0.22 <sup>a</sup>	0.6	0.52	0.46
	<b>FAS</b>	0.64	0.58	1.07	0.54
	<b>FASL</b>	0.32 <sup>a</sup>	0.61	0.5	1.56 <sup>bcd</sup>
Antiapoptotik genler	<b>BCL2L1</b>	8.4 <sup>a</sup>	3.84	2.93	2.65
	<b>BIRC2</b>	0.76	1.37	1.6	1.84
	<b>CASP2</b>	0.89	0.83	0.78	0.97
	<b>VEGFA</b>	0.64	1.12	0.94	1
Sinyal yolak genleri	<b>GAP43</b>	0.7	1.17	1.54	1.77
	<b>MAPK1</b>	0.6	0.73	1.24	1.36

p<0, 05 anlamlı olarak kabul edildi.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup> PKOS grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>c</sup> PKOS+Met grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>d</sup> PKOS+Pio grubuna göre karşılaştırıldığında.

### **Nekrozda görevli genlerin değerlendirilmesi;**

Kontrole göre OLR1583 geninin tüm gruplarda anlamlı düzeyde arttığı ve SYCP2 geninin kontrole göre tüm gruplarda anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi. CYBB geninin ise Kontrole göre PKOS ve PKOS+Met Gruplarında anlamlı düzeyde azaldığı ancak PKOS+Pio ve PKOS+Met+Pio gruplarında ise anlamlı olarak değişmediği özellikle pioglitazonun CYBB düzeylerinin kontrole yaklaştığı gözlemlendi.

### **Apoptozisde Görevli genlerin değerlendirilmesi;**

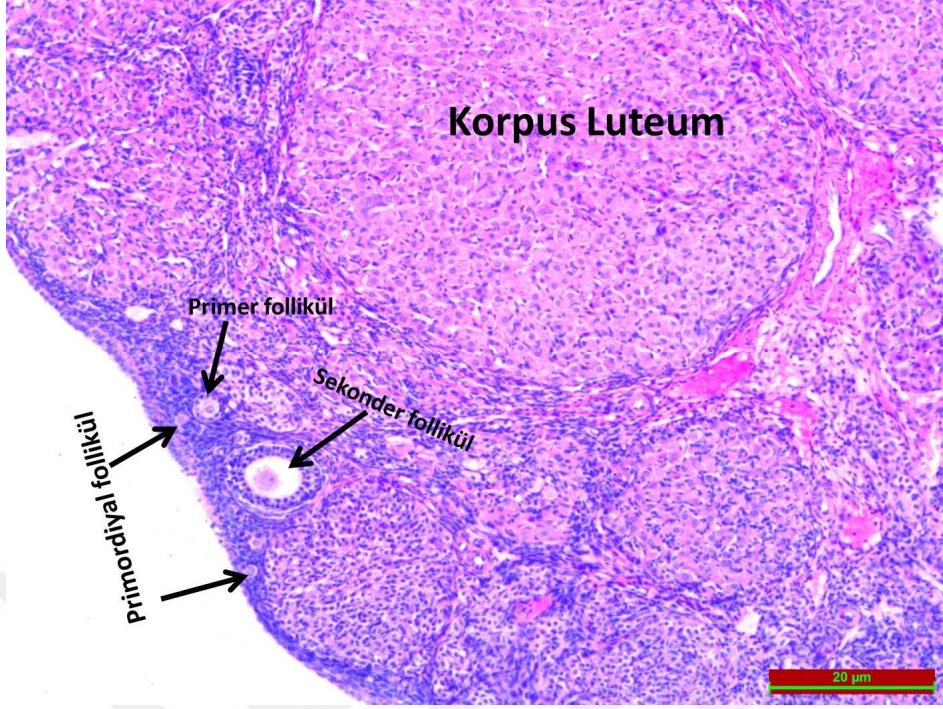
Apoptotik genlerden olan GADD45'in hem PKOS hemde tedavi gruplarında kontrole göre anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi. BAX'ın kontrole göre PKOS grubunda azaldığı tedavi gruplarında ise normal düzeylere ulaştığı gözlemlendi. FASL'inde BAX'a benzer şekilde PKOS grubunda azaldığı ve tedavi gruplarında ise kontrole yaklaştığı kontrolle tedavi grupları arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı saptandı.

Antiapoptotik genlerden olan Bcl2L1 geninin PKOS grubunda kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı belirlenirken bu artışın tedavi gruplarında kontrole yaklaştığı belirlenmesinin rağmen kontrole göre anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

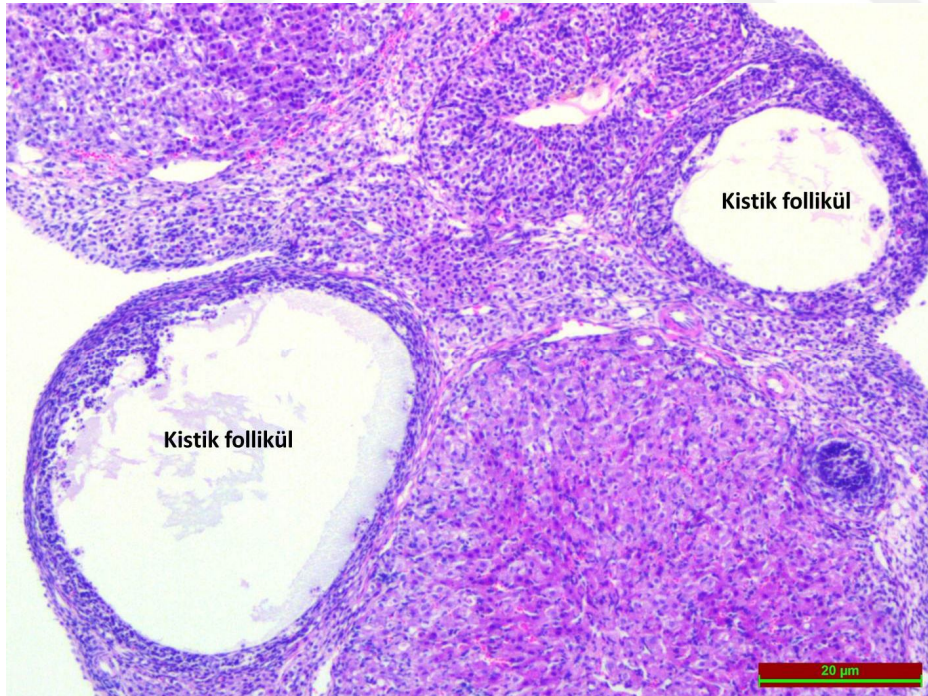
Gen FAS, BIRC2, CASP2, VEGF, GAP43 ve MAPK1, mRNA ifadelerinin gruplar arasında anlamlı düzeyde değişmediği gösterildi.

### **3.4. Histolojik Bulgular**

Over dokusunun hematoxilen&eozi ile boyanıp ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; kontrol grubunda (Şekil 15) over dokusu normal görünümdeydi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PKOS oluşturulan grupta (Şekil 16) belirgin olarak folliküler kistik yapılar izlendi. Bununla birlikte over rezervi açısından değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PKOS grubunda over rezervi istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış izlendi ( $p<0.05$ ). PKOS grubu ile karşılaştırıldığında ise PKOS+Met, PKOS+Pio ve PKOS+Met+Pio gruplarında over rezervi istatistiksel olarak anlamlı olarak artmış gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Tablo 12).



Şekil 15. Kontrol normal over dokusu. Primer ve sekonder follüküller normal görünümündedir. Hematoksilen & Eosin, x 4 büyütme.



Şekil 16. PKOS kistik over dokusu. Follüküller kistik görünümündedir. Hematoksilen & Eosin, x 4 büyütme.

**Tablo 12.** Tüm gruplarda over rezervinin toplam değerleri.

	<b>Primordiyal</b>	<b>Primer</b>	<b>Sekonder</b>	<b>Tersiyer</b>	<b>Toplam</b>
Kontrol	15,10±0,40	20,80±0,80	7,80±0,24	3,10±0,27	46,90±1,12
PKOS	4,50±0,37 <sup>a</sup>	7,40±0,45 <sup>a</sup>	3,10±0,17 <sup>a</sup>	1,20±0,13 <sup>a</sup>	16,20±2,04 <sup>a</sup>
PKOS+Met	14,50±0,30 <sup>b</sup>	20,50±0,88 <sup>b</sup>	7,00±0,21 <sup>b</sup>	2,80±0,29 <sup>b</sup>	45,00±2,90 <sup>b</sup>
PKOS+Pio	14,80±0,78 <sup>b</sup>	19,20±0,48 <sup>b</sup>	7,20±0,32 <sup>b</sup>	2,80±0,35 <sup>b</sup>	44,70±3,49 <sup>b</sup>
PKOS+Met+Pio	14,00±0,51 <sup>b</sup>	19,80±0,46 <sup>b</sup>	7,10±0,40 <sup>b</sup>	2,70±0,39 <sup>b</sup>	43,70±2,05 <sup>b</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. p<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup> PKOS grubuna göre karşılaştırıldığında.

#### 4. TARTIŞMA

Polikistik over sendromu hiperandrojenizm (klinik ve/veya biyokimyasal) ve ovaryan disfonksiyonla (oligoanovulasyon ve/veya polikistik over görünümü) karakterize bir hastalıktır (118). PKOS etyopatogenezinde primer olarak artmış insülin direnci ve hiperinsülineminin önemli bir yeri bulunmaktadır (1). İnsülin direnci kısa vadede hiperandrojenizm ve anovulasyon yapmakla birlikte, uzun vadede diyabetes mellitus (DM) ve kardiyovasküler komplikasyonlara neden olmaktadır. PKOS'lu hastalarda ayrıca infertilite obezite, endometrium kanser ve dislipidemi riski de artmıştır.

İnsülin direnci, verilen belirli bir insülin miktarına karşı alınan normal glukoz cevabının azalması şeklinde tanımlanmaktadır (119). İnsülin direnci ve beraberinde kompensatuvar hiperinsülinemi, hem zayıf hem de obez PKOS hastalarında sık görülen bir bulgudur (120).

Bilindiği gibi fazla kilolu kadınlarda insülin direnci oluşmaktadır. Artmış insülin seviyeleri de over stromasında androjen üretimini arttırmaktadır. Ayrıca obezite; androjenlerin periferik yağ dokusunda östrojenlere aromatzasyonuna ve seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) düzeylerinde azalmaya yol açarak östradiol ve serbest testosteron düzeylerinde artışa neden olmaktadır. Bu durum hiperinsülinemiyi daha da kötüleştirip ovaryan ortamı kısır bir döngüye sokmaktadır. Sonuçta artan androjen/östradiol oranı ve LH hipersekresyonu ovaryan mikroçevreye etki ederek follikülogenezisi bozup folliküllerin atreziye uğramasına neden olmaktadır (121).

Follikülogenezis oldukça karmaşık bir süreçtir. Endokrin sistem ile overler arasındaki iletişim follikül içi mikroçevreyi oluşturur ve oosit gelişimi için uygun ortam hazırlar. Mikroçevre, granüloza hücreleri ve oosit arasındaki iletişimi direk olarak etkiler, mayozun tamamlanması, fertilizasyonun gerçekleşmesi ve embriyo gelişimi için gerekli olan birçok molekül bu sayede aşamalı olarak sentezlenir (122). Follikül gelişimindeki bu düzenleyici mekanizmanın bir kısmı oosit tarafından kontrol edilir. PKOS'lu hastalarda bu mekanizma kolaylıkla etkilenmektedir (123).

Sander ve ark. (124) yaptıkları çalışmada, bazı ovaryan faktörler nedeni ile PKOS'lu hastalarda fazla sayıda oluşan folliküllerin gelişiminin erken evrelerinde duraksadığını ve olgunlaşmadığını göstermişlerdir

Genellikle PKOS'lu kadınlar normal kadınlara göre daha obezdirler. Obezite ile PKOS'un semptomlarının daha kötüleştiği klinik bir tecrübelerdir.

Obezitenin doğurganlık üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar açıkça gösteriyor ki, obezite kişinin doğurganlık fizyolojisini çeşitli düzeylerde etkileyebilmektedir. Obezitede reproduktif hedefler; hipotalamus, over ve follikül, oosit, embriyo ve uterin endometriumu içermektedir (125, 126). Tortoriello ve ark.'ları 2004 yılında murine'ler üzerinde yaptıkları çalışmada obeziteye bağlı oligo-amenore ve subfertilitenin hipogonadotropik kökenli olduğunu göstermişlerdir (125).

Hiperinsülinemi PKOS patofizyolojisinde önemli bir role sahip olup, ovulasyonu engellediği teorisinden yola çıkılarak, bu bozukluğun düzeltilmesi hem ovulasyonu hem de gebelik oranlarını arttırmaktadır görüşü yaygın olarak kabul görmüş ve araştırmalar bu yönde yoğunluk kazanmıştır (127). Pioglitazon ve metformin, PCOS hastalarının insülin direncini düzeltmek için şu anda klinik uygulamada en çok kullanılan insülin hassaslaştırıcı ajanlardır ve henüz anlaşılmayan farklı mekanizmalar yoluyla bunu gerçekleştirmektedirler (128, 129).

Bu çalışmada obez PKOS sıçan modeli eş zamanlı olarak yüksek yağ diyeti ve testosteron enjeksiyonlarıyla oluşturuldu. Modelimizde elde ettiğimiz hiperandrojenemi, hiperinsülinemi, anovulasyon, folliküler atrezi ile beraber büyük overler ve multipl kistler insan PKOS modeliyle tutarlı bir endokrin ve üreme karakteristiğine sahiptir. PKOS gruplarında vücut ağırlığının kontrolle karşılaştırıldığında artmış olduğu bulunmuştur. Bu bulgumuz obezitenin eşlik ettiği insan PKOS modelinin yansımasıdır. Wu ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları obez PKOS sıçan modeli baz alınarak oluşturduğumuz sıçan modelimiz yapılan bu ilk çalışmayla benzer bulgular göstermiştir (118). Bu da modelimizin doğru olarak oluşturulduğunun en önemli göstergesidir. Diamanti ve arkadaşları yüksek yağ diyeti ile beslenen sıçanların testosteron düzeylerinin arttığını göstermişlerdir (130). Biz de çalışmamızda PKOS gruplarında testosteron düzeylerinin arttığını gösterdik. Androjen artışının PKOS un patofizyolojisinde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir ve PKOS lu dişilerin %80 den fazlasında hiperandrojenizm olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda testosteronun sıçanlara uygulanmasının en önemli biyokimyasal verilerimizden olan artmış testosteron düzeylerinin ana nedeni olabileceğini düşünmekteyiz. Yine bazı çalışmalarda steroid

hormonların postpubertal hayvanlara uygulanmasının anovulasyona neden olduğu ortaya konmuştur (131). Mevcut çalışmada ise tespit edilen PKOS gruplarındaki artmış kistik folliküler yapıların testosteron propionat uygulamalarının sonucu olması muhtemeldir. Ayrıca testosteron uygulamaları insülin direncini ve sonuç olarak glukoz transportunda azalmaya neden olmaktadır. Çalışmamızda da bu bulguyu destekleyecek şekilde tüm PKOS gruplarında artmış glukoz düzeyleri tespit edilmiştir.

Jahan ve ark.(132) 21 gün letrozole uygulamasıyla oluşturdukları PKOS modelinde metformin ile östrus faz smearlarının oranının arttığını kistik follikül sayısının azaldığını serum testosteron östrodiol düzeylerinin anlamlı düzeyde düzeldiğini göstermişlerdir.

Sun ve ark. (133) dehidroepiandrostenon ile oluşturdukları sıçan modelinde metforminin testosteron düzeylerinin anlamlı olarak azalttığı ovaryan morfolojiyi düzelttiği görülmüştür.

Liu ve ark. (134) da dehidroepiandrostenon uygulaması ile oluşturdukları PKOS modelinde metforminin hormon profillerini ve ovaryan morfolojiyi düzelttiğini göstermiştir.

Biz de çalışmamızda benzer şekilde metformin uygulamasıyla ovaryan morfolojinin düzeldiğini ve hormon profilinin normal düzeylere yaklaştığını tespit ettik.

Misugi ve ark. (135) dehidroepiandrostenon ile oluşturdukları sıçan modelinde metformin ve pioglitazonun PKOS lu sıçanlarda follikül sayısını arttırdığını ancak multikistik görüntüsünü değiştirmediğini tespit etmişlerdir. Serum testosteron konsantrasyonlarının ise metformin ve pioglitazon tedavisiyle anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir.

Gen SYCP2 memelilerde mayozda oluşan sinoptamal kompleksin yapısal bir protein bileşenidir (136). Genin defektli olduğu farelerde sinoptamal kompleks oluşumunun düzgün gerçekleşmediği belirlenmiştir. Çalışmamızda SYCP2 mRNA ifadesinin kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında tüm PKOS gruplarında anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Ancak PKOS ve tedavi grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Overlerde gerçekleşen mayoz bölünmenin bozulduğunun en önemli göstergelerinden olan SYCP2 mRNA ifadesinin azalması

histolojik bulgularımızı desteklemektedir. Asıl ilginç olan ise tedavi uygulamalarının histolojik bulguları düzeltmesine rağmen SYCP2 gen ifadesini etkilememesidir. Bu da PKOS tedavi gruplarında ilaçların tam olarak mayoz bölünmeyi düzenleyemediği yumurta kalitesi üzerine tam anlamıyla olumlu etkiler sağlayamadığının en önemli göstergeleridir.

Gen CYBB, NADPH oksidaz proteininin bir alt ünitesi olan NOX2 proteinini kodlamaktadır. Gendeki mutasyonların kronik granülamatoz hastalığa neden olduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda bu gen ifadesi araştırılmamıştır. Wang ve arkadaşları dehidrotosteron uygulaması ile oluşturdukları PKOS sıçan modelinde pankreatik beta hücrelerinde mitokondrial fonksiyonun bozulduğunu göstermişlerdir. Mitokondrial biyogenezde görevli NRF1 ve TFAM gibi gen ifadelerinin anlamlı düzeyde azaldığını belirlemişlerdir. Ancak ovaryan dokuların analizlerini yapmamışlardır (137). Çalışmamızda CYBB gen ifadesinin PKOS ve PKOS metformin gruplarında anlamlı olarak azaldığı pioglitazon ve pioglitazon + metformin gruplarında düzeylerin PKOS ve PKOS metformin grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı ve kontrole benzer düzeylerde olduğu bulunmuştur. Skov ve arkadaşları PKOS lu hastalarda yaptıkları bir çalışmada kas dokusunda pioglitazon tedavisinin OXPHOS genlerinin ifadelerinde artışa neden olduğunu belirlemişlerdir (138). Bu veri çalışmamızla oldukça tutarlıdır. Biz de çalışmamızda CYBB geninin pioglitazon tedavisiyle over dokusunda arttığını gösterdik. Bu da pioglitazonun bu transkripsiyonel etkisinin olumlu sonuçlar doğurarak bu hastalarda Tip 2 diyabeti engelleyebileceği verisine ışık tutmaktadır.

Gen GADD45A DNA tamiri, hücre siklus kontrol noktaları ve genom stabilitesini içeren pek çok hücresel süreçte görevlidir. GADD45A ifadesi ultraviyole gama radyasyon gibi çevresel stres ajanları ve DNA hasar ajanları tarafından arttırılmaktadır. Ayrıca bu protein stres uyarıları ve hücre tipine bağlı olarak hücre ölümü ve yaşamı arasındaki dengeyi sağlamaktadır (139). Schmidt ve arkadaşları PKOS'lu hastaların ovarian stroma ve granuloza hücrelerinde GADD45A'nın artmış ifadesini göstermişlerdir (140). Ancak biz yaptığımız hayvan çalışmasında kontrol grubuna göre tüm PKOS gruplarında GADD45A'nın anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. Bu azalmanın uygulanan yüksek yağ diyeti ve testosteron kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz. Genel olarak dışardan çeşitli farmakolojik ajanlarla

indüklenen hayvan modellerinde insanla aynı ya da benzer gen ifadeleri gözlenmeyebilir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada Akdeniz tarzı diyetin periferik kan mononükleer hücrelerinde GADD45A ifadesini azalttığı belirlenmiştir (141). Bu da diyetle GADD45A ifadelerinin değişebileceğini göstermektedir. Biz de çalışmamızda tam tersi bir diyet uygulaması yapmamıza rağmen over dokularında GADD45A gen ifadesinin azaldığını belirledik. Bu da bu gen ifadesinin özellikle farklı diyetlerle değişebileceğini göstermektedir.

Gen OLR1583, G protein ilişkili reseptörlerin önemli bir üyesidir. Bu reseptör 7 transmembran alanına sahiptir. Xu ve arkadaşları yaşlanma ve diyabet sıçan modelinde karaciğer dokusunda OLR1583 gen ifadesinin yaşlı ve diyabetli sıçanlarda kontrole göre anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir (142). Ancak OLR1583 geninin over dokusunda tam olarak nasıl bir fonksiyon gördüğü bilinmemektedir. Çalışmamızda tüm PKOS gruplarında OLR1583 gen ifadesinin anlamlı düzeyde arttığı hatta PKOS Metformin ve PKOS Pioglitazon gruplarında PKOS a göre bu artışın daha yüksek düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Şu anki bilgilerimizle OLR1583 ün PKOS sıçan modelinde over dokusunda çok önemli roller oynadığı söylenebilir. Ancak bu gen ifadesindeki artışın ne ifade ettiğini açıklamak bu yetersiz literatür bilgileri ışığında oldukça zordur. Özellikle bu genin overdeki fonksiyonunun ortaya konacağı daha detaylı moleküler genetik analizlerin yapılmasına ihtiyaç vardır.

Proapoptotik genlerden olan BAX ve FASL gen ifadelerinin kontrole göre PKOS grubunda anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Bas ve arkadaşlarının dihidroepiandrostenon ile oluşturdukları sıçan PKOS modelinde BAX düzeylerinin değişmediğini ancak BCL2 protein düzeylerinin ise azaldığını göstermişlerdir. BAX /BCL2 oranının kontrole göre PKOS grubunda artmış olmasının PKOS da ovarian apoptozisin arttığının bir göstergesi olduğunu ifade etmişlerdir (143). Honnma ve ark dehidroepiandrosteron ile indükledikleri PKOS sıçan modelinde FASL düzeylerinin anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir (144). Biz çalışmamızda yüksek yağ diyeti ve testosteron propiyonat uygulamasıyla oluşturduğumuz sıçan modelimizde proapoptotik genlerden olan FASL ve BAX ın anlamlı olarak azaldığını tedavi gruplarında ise kontrole göre anlamlı bir değişim olmadığını gözlemledik. Bu da tedavinin özellikle apoptotik süreçleri anlamlı olarak

düzeltilmesini ortaya koymaktadır. Yine antiapoptotik genlerden olan BCL2 ve CASP2 genlerinin ifadelerinin anlamlı olarak değişmediği bulundu. Bununla beraber antiapoptotik genlerden BCL2L1 gen ifadesinin PKOS grubunda kontrole göre anlamlı oranda arttığı, PKOS ile tüm tedavi grupları karşılaştırıldığında ise BCL2L1 düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı ancak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek düzeylerde olduğu izlenmiştir. Bu açıdan bulgularımız PKOS'ta artmış bir apoptozisi desteklememektedir. Tam tersine PKOS grubunda apoptozisin azaldığı ancak tedavi gruplarında bu azalmanın normalleştiği gözlemlenmektedir.

Vasküler endotelial growth faktör A ovaryan damarlanmanın en kritik belirteçidir. Aşırı üretimi ovaryan hipersitumulasyona neden olmaktadır. Sıçan ovaryan hiperstimulasyon modelinde VEGF A'nın arttığı belirlenmiştir (145). Bizim çalışmamızda sinyal yolak genlerinden olan VEGF A ve MAPK1 in gruplarda anlamlı olarak değişmediği gözlemlenmiştir. Bu da vasküler angiogenesisin sıçan PKOS modelinde etkilenmediğini göstermektedir.

Sonuç olarak; PKOS hala etyopatogenezinde pek çok bilinmeyen olduğu kompleks bir metabolik hastalıktır. Hastaların büyük bir kısmındaki en önemli bulgulardan bir tanesi obezitedir. Çalışmamızda oluşturduğumuz obez PKOS sıçan modeli oldukça az kullanılan bir model olup yapılan çalışma sayısı da oldukça sınırlıdır. Çalışmamızda diğer sıçan PKOS modellerine benzer şekilde insülin duyarlılaştırıcı ilaçların gerek hormon profilleri gerekse overin histolojik özellikleri üzerine olumlu ve iyileştirici etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu verilerden yola çıkarak özellikle PKOS'un sıçan modelleri oluşturulurken obez PKOS sıçan modeli insandaki genel fizyolojik ve diğer bulguları daha iyi yansıttığından kullanılmasının daha uygun olacağı kanaatindeyiz. Çalışmamızda moleküler genetik anlamda over dokularında yumurta oluşum süreçlerinde görev alan pek çok genin ifadesi değerlendirilmiştir. Pek çok genin ifadesinin etkilenmediği belirlenmesine rağmen özellikle mayoz bölünmede görev alan SYCP2'nin, mitokondri NAPDH oksidaz alt ünitesi CYBB'nin tüm PKOS gruplarında azaldığı, bir G protein olan OLR1583'ün ise tüm PKOS gruplarda arttığı gösterilmesi özellikle mayozla, mitokondri ve sinyal iletim yollarındaki genlerin PKOS'ta olumsuz olarak etkilendiği ve etyopatogenezde rol oynayabileceğini göstermektedir. Özellikle over dokusunda

yapılacak yeni çalışmaların mutlaka daha fazla gen içermesi ve özellikle mayoz bölünme, mitokondri ve G protein sinyal yolak genlerini içermesi bu konudaki bilgi eksikliklerinin giderilmesini sağlayacaktır.



## 5. KAYNAKLAR

1. 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: 2694-2698.
2. Stein IF, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935; 28: 181-191.
3. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, et al. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3078-3082.
4. Farah L, Lazenby AJ, Boots LR. Prevalence of polycystic ovary syndrome in women seeking treatment from community electrologist. *J Reprod Med* 1999; 44: 870-874.
5. Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT. A survey of the polycystic ovary in the Greek island of Lesbos: Hormonal and metabolic profile. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4006-4011.
6. Poison DW, Adams J, Wadsworth J. Polycystic ovaries: A common finding in normal women. *Lancet* 1988; 1: 870-872.
7. Balen AH, Conway GS, Homburg R, Legro RS. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. Balen A, Conway G, Homburg R, Legro RS, (editors). *Polycystic ovary syndrome. A guide to clinical management.* Taylor and Francis Publications 2005; 36: 105-111
8. Broekmans FJ, Knauff EA, Valkenburg O, Laven JS, Eijkemans MJ, Fauser BC. PKOS according to the Rotterdam consensus criteria: change in prevalence among WHO-II anovulation and association with metabolic factors. *BJOG* 2006; 113: 1210-1217.
9. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2005; 352: 1223-1236.
10. Balen A, Michelmore K: What is polycystic ovary syndrome? Are national reviews important? *Hum Reprod* 2002; 17: 2219-2220.

11. Goldzieher JW, Axelrod LR Clinical and biochemical features of polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1963; 14: 631-653.
12. Azziz R, Waggoner WT, Ochoa T, Knochenhauer ES, Boots LR, Idiopathic hirsutism: an uncommon cause of hirsutism in Alabama. *Fertil Steril* 1998; 70: 274-278.
13. Hahn S, Tan S, Elsenbruch S, Quadbeck B, Herrmann BL, Mann K, Janssen OE Clinical and biochemical characterization of women with polycystic ovary syndrome in North Rhine-Westphalia. *Horm Metab Res* 2005; 37: 438-444.
14. Kumar A, Woods KS, Bartolucci AA, Azziz R, Prevalence of adrenal androgen excess in patients with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62: 644-649.
15. Orio F, Palomba S, Cascella T. Early impairment of endothelial structure and function in young normal weight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4588-4589.
16. Bergh C, Carlsson B, Olsson JH. Regulation of androgen production in cultured human thecal cells by insulin-like growth factor I and insulin. *Fertil Steril* 1993; 59: 323-325.
17. Batukan C, Baysal B. Metformin improves ovulation and pregnancy rates in patients with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265: 124-125.
18. Archer JS, Chang RJ. Hirsutism and acne in polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 2004; 18: 737-738.
19. Dunaif A, Finegood DT: Beta-cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 942-943.
20. Givens JR. Familial polycystic ovarian disease, *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988; 17: 1-2.
21. Carey AH, Chan KL, Short F, White DM, Williamson R, Franks S, Evidence for a single gene effect in polycystic ovaries and male pattern baldness. *Clin Endocrinol* 1993; 38: 653-658.

22. 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; 84: 38-43.
23. Kashar-Miller M, Azziz R, Heritability and the risk of developing androgen excess. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999; 69: 261-268.
24. Khashar-Miller MD, Nixon C, Boots LR, Go RC, Azziz R. Prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) in first-degree relatives of patients with PCOS. *Fertil Steril* 2001; 75: 53-58.
25. Yildiz BO, Yarali H, Oguz H, Bayraktar M, Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2031-2032.
26. Leibel NI, Baumann EE, Kocherginsky M, Rosenfield RL. Relationship of adolescent polycystic ovary syndrome to parental metabolic syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1275-1276.
27. Diamanti-Kandarakis E, Piperi C, Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth, *Hum Reprod Update* 2005; 11: 631-643.
28. Moroulis GB. Evaluation of hirsutism and hyperandrogenemia. *Fertil Steril* 1981; 36: 273- 305.
29. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology and management. *AJOG* 1981; 140: 815-830.
30. Nagamani M, Lingold JC, Gomez LG, Barza JR, Clinical and hormonal studies in hyperthecosis of the ovaries. *Fertil Steril* 1981; 36: 326-332.
31. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assesment of body hair in women *JCEM* 1961; 24: 1440-1447.
32. Ehrman DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999; 22: 141-146.

33. Cibula D, Cifkova R, Fanta M. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus, arterial hypertension and coronary artery disease in perimenopausal women with a history of the polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2000; 15: 785-789.
34. Legro RS, Kunesman AR, Dodson WC. 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.
35. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 50: 113-116.
36. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18: 774-800.
37. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Molecular mechanism of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *TRENDS in Molecular Medicine* 2006; 12: 324-332.
38. Zhang G, Garmey JC, Veldhuis JD. Interactive stimulation by luteinizing hormone and insulin of the steroidogenic acute regulatory (StAR) protein and 17 $\alpha$ hydroxylase/17, 20 lyase (CYP 17) genes in porcine theca cells. *Endocrinology* 2000; 141: 2735-2742.
39. Sekar N, Lavoie HA, Veldhuis JD. Concerted regulation of steroidogenic acute regulatory gene expression by luteinizing hormone and insulin (or IGF-1) in primary cultures of porcine granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 2000; 141: 3983-3992.
40. Dunaif A, Xia J, Book C. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblast and skeletal muscle. *J Clin Invest* 1995; 96: 801-810.
41. Legro RS, Dodson N'C, Dunaif A. PCOS: a re-evaluation of reproductive age glucose intolerance poorly detected by fasting blood glucose levels. *Proceedings of the Endocrine Society 80th Annual Meeting, New Orleans, La, 1998*; 24-28.
42. Conover CA, Lee PDK, Kanaley JA. Insulin regulation of insulin like growth factor binding protein-1 in obese and non-obese human. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1355-1360.

43. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979; 237: 214-223.
44. Cibula D, Cifkova R, Fanta M. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus, arterial hypertension and coronary artery disease in perimenopausal women with a history of the polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2000; 15: 785-789.
45. Altuntaş Y. İnsülin direnci ve ölçüm metodları. Yenigün M, Altuntaş Y (Editörler). *Her Yönüyle Diyabetes Mellitus*, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2001: 839-852.
46. Plymate SR, Farriss BL, Bassett ML, Matej JL. Obesity and its role in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52: 1246-1248.
47. Grodstein F, Goldman, MB and Cramer, DW. Body mass index and ovulatory infertility. *Epidemiology* 1994; 5: 247-250.
48. Homburg R, Armar NA, Eshel A, Adams J, Jacobs HS. Influence of serum luteinising hormone concentrations on ovulation, conception, and early pregnancy loss in polycystic ovary syndrome. *BMJ* 1988;297(6655):1024-1026
49. Dahlgren E, Janson PO, Johansson S. Polycystic ovary syndrome and risk for myocardial infarction. Evaluated from a risk factor model based on a prospective population study women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1992; 71: 599-604.
50. Azziz R. The evaluation and management of hirsutism. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 995-1007.
51. Homburg R, Lambalk CB. Polycystic ovary syndrome in adolescence a therapeutic conundrum. *Hum Reprod* 2004; 19: 1039-1042.
52. Cela E, Robertson C, Rush K. Prevalence of polycystic ovaries in women with androgenic alopecia. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 439-442.
53. Chen W, Thiboutot D, Zouboulis CC. Cutaneous androgen metabolism: basic research and clinical perspectives. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 992-1007.
54. Dunaif A, Hovman A, Scully R. Clinical, biochemical and ovarian morphologic features in women with acanthosis nigricans and masculinizations. *Obstet Gynecol* 1985; 66: 545-552.

55. Clifford K, Rai R, Regan L. Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimester miscarriage. *Hum Reprod* 1997; 12: 387-389.
56. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report, *Fertil Steril* 2009; 9: 456 - 488.
57. Carmina E, Wong L, Chang L, Paulson RJ, Sauer MV, Stanczyk FZ, Lobo RA. Endocrine abnormalities in ovulatory women with polycystic ovaries on ultrasound. *Human Reprod* 1997; 12: 905-909.
58. Escobar – MorrealeHF, Asuncion M, Calvo RM, Sancho J, San Millan JL. receiver operating characteristic analysis of the performance of basal serum hormone profiles for the diagnosis of polycystic ovary syndrome in epidemiological studies. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 619–624.
59. Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA. Extensive clinical experience: relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2-6.
60. DeUgarte CM, Woods KS, Bartolucci AA, Azziz R. Degree of facial and body terminal hair growth in unselected black and White women: toward a population definition of hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1345-1350.
61. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2745 – 2749.
62. Fox R, Corrigan E, Thomas PA, Hull MG. The diagnosis of polycystic ovaries in women with oligo-amerrhoea: predictive power of endocrine tests. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1991; 34: 127-131.
63. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop grup. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long –term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81: 19-25.

64. Jonard S, Pigny P, Jacquesson L, Demerle-Roux C, Robert Y, Dewailly D. The ovarian markers of the FSH insufficiency in functional hypothalamic amenorrhoea. *Huma Reprod* 2005; 20: 101-107.
65. Adams J, Franks S, Polson DW. Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin releasing hormone. *Lancet* 1985; 2: 1375-1379.
66. Ehrmann DA, Kasza K, Azzizz R. 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.
67. Norman RJ, Hauge WM, Masters SC, Wang XJ. Subjects with polycystic ovaries without hyperandrogenaemia exhibit similar disturbances in insulin and lipid profiles as those with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1995; 10: 2258-2261.
68. Carmina E, Longo RA, Rini GB, Lobo RA. Phenotypic variation in hyperandrogenic women influences the finding of abnormal metabolic and cardiovascular risk parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2545-2549.
69. Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA. Relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2-6.
70. Dilbaz B, Ozkaya E, Cinar M, Cakir E, Dilbaz S. Cardiovascular disease risk characteristics of the main polycystic ovary syndrome phenotypes. *Endocrine* 2011 39: 272-277.
71. Huber-Buchholz MM, Carey DG, Norman RJ. Restoration of reproductive potential by lifestyle modification in obese polycystic ovary syndrome: Role of insulin sensitivity and luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1470-1474.
72. American College of Obstetricians and Gynecologists: Management of Anovulatory Bleeding, *Practice Bulletin* 2000; 14: 34-42.
73. Hunter MH, Carek PJ. Evaluation and treatment of women with hirsutism. *Am Fam Physician* 2003; 67: 2565-2572.

74. Moghetti P, Toscano V. Treatment of hirsutism and acne in hyperandrogenism. *Best Prac Res Clin Endocrinol Metab* 2006; 20: 221-234.
75. Bunker CB, Newton JA, Kilborn J. Most women with acne have polycystic ovaries. *Br J Dermatol* 1989; 121: 675-680.
76. Dokras A, Bochner M, Hollinrake E: Screening women with polycystic ovary syndrome for metabolic syndrome. *Obstet Gynecol* 2005; 106: 131-137.
77. Knowler WC, Barret-Connor E, Fowler SE. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 346: 393-403.
78. Azziz R, Ehrmann D, Legro RS. Troglitazone improves ovulation and hirsutism in the polycystic ovary syndrome: a multicenter, double blind, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1626-1632.
79. Dunaif A, Scott D, Finegood D. The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in the polycystic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3299-3306.
80. Fauser BC, Devroey P, Macklon NS: Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. *Lancet* 2005; 365: 1807-1816.
81. Siebert TI, Kruger TF, Steyn DW, Nosarka S. Is the addition of metformin efficacious in the treatment of clomiphene citrate-resistant patients with polycystic ovary syndrome? A structured literature review. *Fertil Steril.* 2006 Nov;86(5):1432-1437.
82. Palomba S, Pasquali R, Orio F Jr, Nestler JE. Clomiphene citrate, metformin or both as first-step approach in treating anovulatory infertility in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review of head-to-head randomized controlled studies and meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 70: 311-321.
83. Bahçeli M. Oral antidiyabetik ilaçlar ve yeni uygulamalar. *Diyabetes mellitusun modern tedavisi*. Yılmaz MT, Bahçeci M, Büyükbeşe MA (eds), 1. Baskı, İstanbul: Türk Diyabet Vakfı, 2003; 2: 35-54.

84. Stumvoll M, Haring H, Matthaei S, Metformin, Textbook of Type 2 Diyabetes 2003, Goldstein B, Müler-Wieland D (eds). 1. Baskı, Tip 2 Diyabet, AND Danışmanlık, Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon, 2004: 87-97.
85. Satman İ, Salman S, Oral Antidiyabetik İlaçlarla Tedavi, Her Ynyle Diyabetes Mellitus. Yenign M (ed), 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Őti, 2001; 933-950.
86. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. Diyabetes 1989; 38: 1165-1174.
87. Schwartz A, Sellmeyer D, Vittinghoff E, Palermo L, Lecka-Czernik B, Feingold K, et al. Thiazolidinedione (TZD) Use and Bone Loss in Older Diyabetic Adults J Clin Endocrinol Metab 2006; 91: 3349-3354.
88. Palomba S, Falbo A, Zullo F, Orio F. Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review. Endocr Rev 2009; 30: 1-50.
89. Norman RJ, Kidson WJ, Cuneo RC, Zacharin MR. Metformin and intervention in polycystic ovary syndrome. Endocrine Society of Australia, the Australian Diyabetes Society and the Australian Paediatric Endocrine Group. Med J Aust 2001; 174: 580-583.
90. Morin-Papunen L, Vauhkonen I, Koivunen R, Ruokonen A, Martikainen H, Tapanainen JS. Metformin versus ethinyl estradiol-cyproterone acetate in the treatment of nonobese women with polycystic ovary syndrome: a randomized study. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88: 148-156.
91. Demirci H, Yilmaz M, Ergun MA, Yurtcu E, Bukan N, Ayvaz G. Frequency of adiponectin gene polymorphisms in polycystic ovary syndrome and the association with serum adiponectin, androgen levels, insulin resistance and clinical parameters. Gynecol Endocrinol 2010; 26: 348-355.
92. Tarkun I, Cetinarslan B, Tremen E, Sahin T, Cantrk Z, Komsuođlu B. Effect of rosiglitazone on insulin resistance, C-reactive protein and endothelial function in

- nonobese young women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 115-121.
93. Oki K, Koide J, Nakanishi S, Nakashima R, Yamane K. Fenofibrate increases high molecular weight adiponectin in subjects with hypertriglyceridemia. *Endocr J* 2007; 54: 431-435.
  94. Tang T, Lord JM, Norman RJ. Insulin-sensitizing drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiroinositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo-amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 5: 30-53.
  95. Wang HS. The role of metformin in the treatment of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Chang Gung Med J* 2006; 29: 445-447.
  96. Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2003; 327: 951-953.
  97. De Leo V, Musacchio MC, Morgante G, Piomboni P, Petraglia F. Metformin treatment is effective in obese teenage girls with PCOS. *Hum Reprod* 2006; 21: 2252-2256.
  98. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD: Clomiphene, metformine, or both for infertility in the polycytic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2007; 356: 551-566.
  99. Ayaz, Y Alwan, and MU Farooq. Efficacy of combined metformin–clomiphene citrate in comparison with clomiphene citrate alone in infertile women with polycystic ovarian syndrome (PCOS). *J Med Life* 2013; 6: 199-201.
  100. Tack CJ, Smits P. Thiazolidinedione derivatives in type 2 diabetes mellitus. *North J Med* 2006; 64: 166-174.
  101. Staels B, Fruchart JC. Therapeutic roles of peroxisome proliferator activated receptor agonists. *Diyabetes* 2005; 54: 2460-2470.
  102. Auwerx J, Mangelsdorf D. X-receptors, nuclear receptors for metabolism In: Stemme D, Olsson AG, (editors). 5th ed: *Atherosclerosis XII* Elsevier Science B. Amsterdam 2000: 21-39.

103. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPAR's. *Annu Rev Med* 2002; 53: 409-435.
104. Pershadsingh HA. Dual Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-alpha/gamma agonists: In the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus and the Metabolic Syndrome Treatment. *Endocrinol* 2006; 5: 89-99.
105. Hardy E, Jabbour SA. Type 2 diabetes mellitus textbook. Thiazolidinediones Goldstein BJ and Müller-Wieland D (eds). Dunitz London 2003: 117-130.
106. Pasquali R, Gambiner A. Insulin-sensitizing agents in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 763-775.
107. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: 99-112.
108. Marcy TR, Britton MC, Blevins SM. Second generation thiazolidinediones and hepatotoxicity. *Ann Pharmacother* 2004; 38: 1419-1423.
109. Bloomgarden ZT. Thiazolidinediones. *Diabetes Care* 2005; 28: 488-493.
110. Burnett P. Pioglitazone-current profile. *Br J Diab Vasc Dis* 2002; 2: 1823.
111. Ota H, Goto T, Yoshioka T, Ohyama N. Successful pregnancies treated with pioglitazone in infertile patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2008; 90: 709-713.
112. Kim CH, Jeon GH, Kim SR, Kim SH, Chae HD, Kang BM. Effects of pioglitazone on ovarian stromal blood flow, ovarian stimulation, and in vitro fertilization outcome in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2010; 94: 236-241.
113. Kim CH, Ahn JW, You RM, Kim SH, Chae HD, Kang BM. Pioglitazone treatment decreases follicular fluid levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in patients with polycystic ovary syndrome. *Clin Exp Reprod Med* 2011; 38: 98-102.

114. Mayama R, Izawa T, Sakai K, Suci N, Iwashita M. Improvement of insulin sensitivity promotes extravillous trophoblast cell migration stimulated by insulin-like growth factor-I. *Endocr J* 2013; 60: 359-368.
115. Wu C, Lin F, Qiu S, Jiang Z. The characterization of obese polycystic ovary syndrome rat model suitable for exercise intervention *PLoS One* 2014; 9: 99155.
116. Di Pietro M, Parborell F, Irusta G, Pascuali N, Bas D, Bianchi MS, et al. Metformin regulates ovarian angiogenesis and follicular development in a female polycystic ovary syndrome rat model. *Endocrinology* 2015; 156: 1453-1463.
117. Kabiri N, Tabandeh MR, Tabatabaie SR. Beneficial effects of pioglitazone and metformin in murine model of polycystic ovaries via improvement of chemerin gene up-regulation. *Daru* 2014; 22: 39-40.
118. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril* 2009; 91: 456-488
119. Poretsky L. On the paradox of insulin-induced hyperandrogenism in insulin-resistant states. *Endocr Rev* 1991; 12: 3-4.
120. Geisshovel F. A comment on the European Society of Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine consensus of the polycystic ovarian syndrome. *Reprod Biomed Online* 2003; 7: 602-605.
121. Schwartz MW, Seeley RJ. Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *New Engl J Med* 1997; 336: 1802-1811.
122. Franks S, Stark J, Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* 2008; 4: 367-378.
123. Dumesic DA, Padmanabhan V, Abbott DH. Polycystic Ovary Syndrome and Oocyte Developmental Competence. *Obstet Gynecol Surv* 2008; 63: 39-48.
124. Sandera VA, Haponb MB, Sicaroc L, Lombardic VE, Jahnb GA, Motta AB. Alterations of folliculogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Argentina Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2011; 124: 58-64.

125. Tortoriello DV, McMinn J, Chua SC. Dietary induced obesity and hypothalamic infertility in female DBA/2J mice. *Endocrinology* 2004; 145: 1238-1247.
126. Bellver J, Martínez-Conejero JA, Labarta E, Alamá P, Melo MA, Remohí J, et al. Endometrial gene expression in the window of implantation is altered in obese women especially in association with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2011; 95: 2335-2341.
127. Nestler JE, Jakubowitz DJ, Evans WS. Effects of metformin on spontaneous and clomiphene-induced ovulation in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338: 1876-1880
128. Iuorno MJ, Nestler JE. Insulin-lowering drugs in polycystic ovary syndrome. *Obst Gynecol Clin North Am.* 2001; 28: 153–164.
129. De Leo V, La Marca A, Petraglia F. Insulin-lowering agents in the management of polycystic ovary syndrome. *Endoc Rev* 2003; 24: 633–667.
130. Diamanti-Kandarakis E, Piperi C, Korkolopoulou P, Kandarakis E, Levidou G, Papalois A, Patsouris E, Papavassiliou. Accumulation of dietary glycotoxins in the reproductive system of normal female rats. *J Mol Med (Berl)* 2007; 85: 1413-1420.
131. Tyndall V, Broyde M, Sharpe R, Welsh M, Drake AJ, McNeilly AS. Effect of androgen treatment during foetal and/or neonatal life on ovarian function in prepubertal and adult rats *Reproduction* 2012; 143: 21–33.
132. Jahan S, Munir F, Razak S, Mehboob A, Ain QU, Ullah H, et al. Ameliorative effects of rutin against metabolic, biochemical and hormonal disturbances in polycystic ovary syndrome in rats. *J Ovarian Res* 2016; 9: 86.
133. Sun L, Ji C, Jin L, Bi Y, Feng W, Li P, et al. Effects of Exenatide on Metabolic Changes, Sexual Hormones, Inflammatory Cytokines, Adipokines, and Weight Change in a DHEA-Treated Rat Model. *Reprod Sci* 2016; 23: 1242-1249.
134. Liu W, Liu W, Fu Y, Wang Y, Zhang Y. Bak Foong pills combined with metformin in the treatment of a polycystic ovarian syndrome rat model. *Oncol Lett* 2015; 10: 1819-1825.

135. Misugi T, Ozaki K, El Beltagy K, Tokuyama O, Honda K, Ishiko O. Insulin-lowering agents inhibit synthesis of testosterone in ovaries of DHEA-induced PCOS rats. *Gynecol Obstet Invest* 2006; 61: 208-215.
136. Zheng YH, Rengaraj D, Choi JW, Park KJ, Lee SI, Han JY. Expression pattern of meiosis associated SYCP family members during germline development in chickens. *Reproduction* 2009; 138: 483-492.
137. Wang H, Wang X, Zhu Y, Chen F, Sun Y, Han X. Increased androgen levels in rats impair glucose-stimulated insulin secretion through disruption of pancreatic beta cell mitochondrial function. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015; 154: 254-266.
138. Skov V, Glintborg D, Knudsen S, Tan Q, Jensen T, Kruse TA, et al. Pioglitazone enhances mitochondrial biogenesis and ribosomal protein biosynthesis in skeletal muscle in polycystic ovary syndrome. *PLoS One* 2008; 3: 2466.
139. Wingert S, Rieger MA. Terminal differentiation induction as DNA damage response in hematopoietic stem cells by GADD45A. *Exp Hematol* 2016; 44: 561-566.
140. Schmidt J, Weijdegård B, Mikkelsen AL, Lindenberg S, Nilsson L, Brännström M. Differential expression of inflammation-related genes in the ovarian stroma and granulosa cells of PCOS women. *Mol Hum Reprod* 2014; 20: 49-58.
141. Gutierrez-Mariscal FM, Yubero-Serrano EM, Rangel-Zúñiga OA, Marín C, García-Rios A, Perez-Martinez P, et al. Postprandial activation of p53-dependent DNA repair is modified by Mediterranean diet supplemented with coenzyme Q10 in elderly subjects. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014; 69: 886-893.
142. Xu Q, Cai J, Cong Y-B, Xiao S-J, Liu Y, Qin W. A comparative transcriptome and proteome analysis in rat models reveals effects of aging and diabetes on expression of neuronal genes. *Int J Gerontol* 2016;10: 212-217.
143. Bas D, Abramovich D, Hernandez F, Tesone M. Altered expression of Bcl-2 and Bax in follicles within dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovaries in rats. *Cell Biol Int* 2011; 35: 423-429.
144. Honnma H, Endo T, Henmi H, Nagasawa K, Baba T, Yamazaki K, et al. Altered expression of Fas/Fas ligand/caspase 8 and membrane type 1-matrix metalloproteinase

in atretic follicles within dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovaries in rats. *Apoptosis* 2006; 11: 1525-1533.

145. Takahashi N, Harada M, Hirota Y, Zhao L, Yoshino O, Urata Y, et al. A potential role of endoplasmic reticulum stress in development of ovarian hyperstimulation syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2016; 428: 161-169.



## 6. ÖZGEÇMİŞ

1974 İstanbul doğumluyum. İlk ve orta eğitimimi İstanbul'da tamamladım. Bakırköy İmam Hatip Lisesi mezunuyum. 1993 yılında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. Ancak mezuniyetim 2006 Romanya Oradea Üniversitesi Tıp Fakültesindedir. Mecburi hizmetimi Bingöl'de yaptım. 2012 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavını kazandım. 2013 Nisan ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD'da araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu birimde çalışmaya devam etmekteyim.

