

**DEHİDROEPIANDROSTERON İLE POLİKİSTİK OVER  
SENDROMU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA EXENDİN-4'ÜN  
OLASI ETKİLERİNİN, KRONİK ORTA DÜZEYLİ STRES  
ORTAMINDA ARAŞTIRILMASI**

**Burcu KÖKSAL**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Sedat YILDIZ  
Doktora Tezi – 2016**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DEHİDROEPIANDROSTERON İLE POLİKİSTİK OVER SENDROMU  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA EXENDİN-4'ÜN OLASI ETKİLERİNİN, KRONİK  
ORTA DÜZEYLİ STRES ORTAMINDA ARAŞTIRILMASI**

**Burcu KÖKSAL**

**Fizyoloji Anabilim Dalı  
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Sedat YILDIZ**

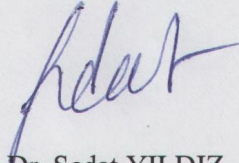
**Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından  
2015/88 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA  
2016**

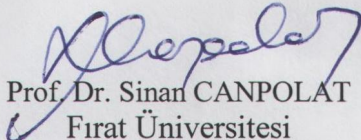
## KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Burcu KÖKSAL**'ın “ **Dehidroepandrosteron ile Polikistik Over Sendromu Oluşturulan Sıçanlarda Exendin-4'ün Olası Etkilerinin, Kronik Orta Düzeyli Stres Ortamında Araştırılması** ” konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

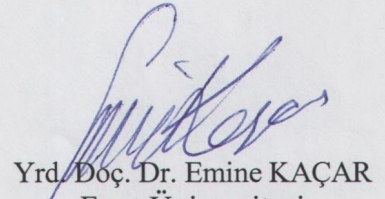
Tez Savunma Tarihi 04/08/2016



Prof. Dr. Sedat YILDIZ  
İnönü Üniversitesi  
Tez Danışmanı  
Jüri Başkanı

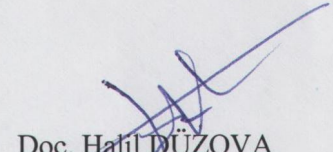
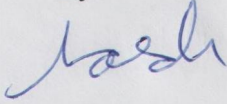


Prof. Dr. Sinan CANPOLAT  
Fırat Üniversitesi  
Üye



Yrd./Doç. Dr. Emine KAÇAR  
Fırat Üniversitesi  
Üye

Prof. Dr. Nigar VARDI  
İnönü Üniversitesi  
Üye



Doç. Halil DÜZOVA  
İnönü Üniversitesi  
Üye

### ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ....../....../2016 tarih ve 2016/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2. 1. Ovaryum Fizyolojisi ve Histolojisi.....	3
2. 2. Menstrüel Döngü.....	6
2. 2. 1. Sıçanda Östrus Döngüsü.....	8
2. 3. Polikistik Over Sendromu Tanımı ve Tarihçesi.....	9
2. 4. PKOS'ta Tanı Kriterleri.....	11
2. 5. PKOS Sıklığı ve Etiyolojisi.....	13
2. 6. PKOS'un Klinik Özellikleri.....	14
2. 7. PKOS'nun Patofizyolojisi.....	17
2. 7. 1. Genetik Faktörler.....	18
2. 7. 2. Nöroendokrin Bozukluk.....	18
2. 7. 3. Hiperandrojenemi ve Intraovarian Faktörler.....	19
2. 7. 4. İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi.....	21
2. 8. PKOS Tedavi Yöntemleri.....	25
2. 8. 1. Kilo Kaybı.....	25
2. 8. 2. Anti Östrojenler.....	25
2. 8. 3. Anti Androjenler.....	25
2. 8. 4. Laparoskopik Ovaryan Drilling (LOD).....	25
2. 8. 5. İnsülin Duyarlılığını Artıran Ajanlar.....	26
2. 9. Stres.....	27

2. 9. 1. Stres Çeşitleri.....	28
2. 9. 2. Stresin Dişi Üreme Sistemi Üzerine Etkisi.....	29
2. 9. 3. Stresin İnsülin Direnci Üzerine Etkisi.....	31
2. 10. Deney Havyanı Modelleri ve Sıçanlarda PKOS Oluşturulması.....	32
2. 11. Sıçanlarda Kronik Orta Düzeyli Stres Modeli.....	33
3. MATERYAL VE METOT.....	35
3. 1. Araştırmanın Türü.....	35
3. 2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Zaman.....	35
3. 3. Gruplardaki Sıçan Sayılarının Belirlenmesi.....	35
3. 4. Deney Hayvanlarının Temini.....	35
3. 5. Stres Çalışmasından Önce Deney Grupları.....	36
3. 5. 1. Kan alma.....	36
3. 5. 2. Serumda İnsülin Değerlerinin Ölçümü.....	36
3. 5. 3. Serumda LH ve FSH Hormon Seviyelerinin Ölçümü.....	37
3. 5. 4. Vajinal Sürüntü Yöntemi.....	37
3. 6. Stres Çalışması Sırasında Deney Grupları.....	38
3. 6. 1. Kronik Orta Düzeyli Stres Yöntemi.....	39
3. 6. 2. Deneyin Sonlandırılması.....	40
3. 6. 3. Serumda Kortikosteron Değerlerinin Ölçümü.....	40
3. 7. Histolojik İncelemeler.....	41
3. 8. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	41
4. BULGULAR.....	43
4. 1. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların Ortalama Ağırlık Değerleri.....	43
4. 2. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların LH ve FSH Değerleri.....	44
4. 3. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların Açlık Kan Glukozu ve Açlık Serum İnsülin değerleri.....	45
4. 4. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların HOMA-IR Değerleri.....	47

4. 5. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların Östrus Döngülerini Tamamlamalarına İlişkin Bulgular.....	48
4. 6. Stres Uygulaması ile Sıçanların Değişen Ortalama Ağırlık Değerleri ve % Ağırlık Değişimleri.....	49
4. 7. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların LH ve FSH Değerleri.....	53
4. 8. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların Açlık Kan Glukozu ve Açlık Serum İnsülin Değerleri.....	55
4. 9. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların HOMA-IR Değerleri.....	58
4. 10. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların Kortikosteron Değerleri.....	59
4. 11. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların Östrus Döngülerini Tamamlamalarına İlişkin Bulgular.....	60
4. 12. Histolojik Bulgular.....	62
4. 12. 1. Ovaryum Bulguları.....	62
4. 12. 2. Pankreas Bulguları.....	66
5. TARTIŞMA.....	70
5. 1. DHEA Kullanılarak PKOS Modelinin Oluşturulmasına İlişkin Bulguların Tartışılması.....	70
5. 1. 1. Ağırlık Değerleri.....	70
5. 1. 2. LH ve FSH Değerleri.....	71
5. 1. 3. Açlık Kan Glukozu, Açlık Serum İnsülin Değerleri ve HOMA-IR Değerleri....	71
5. 1. 4. Östrus Döngüleri.....	72
5. 2. PKOS Modeli Üzerine Stres ve Exe'nin Etkilerine İlişkin Bulguların Tartışılması.....	73
5. 2. 1. Ağırlık Değerleri.....	73
5. 2. 2. LH, FSH ve LH/FSH Değerleri.....	74
5. 2. 3. Açlık Kan Glukozu, Açlık Serum İnsülin Değerleri ve HOMA-IR Değerleri....	75
5. 2. 4. Kortikosteron Değerleri.....	76

5. 2. 5. Östrus Döngüleri.....	77
5. 3. Histolojik Bulguların Tartışılması.....	77
5. 3. 1. Ovaryum Bulguları.....	77
5. 3. 2. Pankreas Bulguları.....	78
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
KAYNAKLAR.....	83
EKLER.....	103
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	103
EK. 2. DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI.....	106

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca akademik bilgi, beceri ve tecrübelerini her daim paylaşan, tezimde danışman olarak belli bir süre emeği geçen ve tez çalışmamda hiçbir zaman yardım ve desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Hacettepe Üniversitesi, Fizyoloji Bölümü, Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ergül ALÇİN'e,

Doktora eğitimim süresince, bilgileriyle bana her zaman yardımcı olan, ilgi ve desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız, değerli danışman hocam Prof. Dr. Sedat YILDIZ'a,

Akademik hayata başladığımdan bu yana benden destek ve yardımlarını esirgemeyen, tüm zorluklarda yanımda olan ve motivasyonumu artıran İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Nigar VARDI'ya,

Tezimin deneylerinde bana çok yardımları olan, bölümümüzün genç asistanları, Özlem BARUTÇU'ya ve Gül Büşra KAYA'ya,

Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinin değerli çalışanları Onur ÖZKAYA'ya ve Gamze KARAKUŞ'a,

İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü asistanlarından Arş. Gör. Azibe YILDIZ'a ve Işıl BAYSAL'a,

Tezimin analizlerinde benden yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşım Arş. Gör. Tuba ÖZGÖÇER'e,

İstatiksel analizlerimde yardım aldığım İnönü Üniveritesi, Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri, Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na ve Yrd. Doç. Dr. Harika GÖZÜKARA BAĞ'a

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli Fizyoloji Bölüm hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma,

Projeye sağlamış oldukları destek dolayısıyla İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Hayatımın her aşamasında bana sonsuz sevgi, güven ve destek veren, bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan, gurur duyduğum canım aileme,

Akademik hayata ilk adım attığımdan bu yana sevinçlerime ve sıkıntılara ortak olan, akademik konularda bana sonsuz destek veren, sevgisini ve sabrını esirgemeyen canım eşim Doç. Dr. Mustafa Serdar KÖKSAL'a

*en içten teşekkürlerimi sunarım...*

## ÖZET

### **Dehidroepiandrosteron ile Polikistik Over Sendromu Oluşturulan Sıçanlarda Exendin-4'ün Olası Etkilerinin, Kronik Orta Düzeyli Stres Ortamında Araştırılması**

**Amaç:** PKOS, üreme çağındaki kadınları etkileyen yaygın bir hastalıktır. PKOS'la beraber kronik strese maruziyet, HPG ve HPA aksını etkileyerek insülin direncinin artmasına sebep olmaktadır. Çalışmada DHEA ile PKOS modeli oluşturulup insülin direnci gelişimi izlenmiştir. Çalışmanın amacı, Exe'in etkilerini PKOS'lu ve PKOS'la birlikte strese maruz kalan insülin direnci olan sıçanlarda araştırmaktır.

**Materyal ve Metot:** PKOS modeli için, 21 günlük Sprague Dawley sıçanlara, 6mg/100g vücut ağırlığı DHEA, 0.2ml susam yağında çözülerek s.c. olarak uygulandı. Çözücü gruplarına ise 0.2 ml susam yağı s.c. olarak verildi. Başlangıçta Kontrol, Çözücü ve PKOS grupları şeklinde oluşturulan gruplara, stres ve Exe grupları da eklendi. PKOS modeli oluşan sıçanlara stres ortamında 4 hafta boyunca Exe 10µg/kg/gün intraperitonel olarak verildi. Sıçanlardan kan örnekleri alınarak, Exe ve stresin, ağırlık, açlık kan glukozu, açlık insülin değerleri, HOMA-IR, LH, FSH ve kortikosteron üzerine etkilerine bakıldı. İnsülin, LH, FSH ve kortikosteron değerleri ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Ayrıca ovaryum ve pankreas dokularına ait histopatolojik görüntüler incelendi.

**Bulgular:** PKOS modeli oluşan sıçanların, ağırlık, açlık kan glukozu, açlık insülin değerleri ile HOMA-IR değerleri ve stres uygulanan grupların kortikosteron değerleri diğer gruplardan anlamlı olarak artış gösterdi. Ayrıca histolojik incelemelerde PKOS'un, ovaryum ve pankreas dokularını olumsuz etkilediği görüldü. PKOS gruplarına Exe uygulandığında, grupların ağırlık, açlık kan glukozu, açlık insülin değerleri ile HOMA-IR ve LH/FSH değerlerinde anlamlı azalma görülürken, PKOS'la beraber strese maruz bırakılan gruba Exe uygulamasının PKOS+Exe kadar etkili olmadığı görüldü. Exe uygulaması PKOS grubunda sağlıklı folikül sayısını artırırken, PKOS+Stres grubunda değişiklik gözlenmedi.

**Sonuç:** Kronik stresin PKOS gibi metabolik rahatsızlıkları olumsuz etkilediği ve tedavi edici ajanların etkilerini kısıtladığı görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** DHEA, PKOS, insülin direnci, kronik stres, Exenatid.

## ABSTRACT

### **Investigation of Possible Effects of Exendin-4 During Exposure to Mild Chronic Stress on Dehydroepiandrosterone-induced Polycystic Ovary Syndrome of Rats**

**Aim:** PCOS is a common disorder that affects women of reproductive age. Exposure to chronic stress in PCOS leads to increase in insulin resistance by affecting HPG and HPA axes. In this study development of insulin resistance was observed after establishment of PCOS model via DHEA. The aim of the study is to investigate effects of Exe on rats with insulin resistance and PCOS in chronic mild stress medium.

**Material and Method:** For PCOS model, DHEA (6 mg/100 g) in 0.2 ml sesame oil was applied subcutaneously to 21-days Sprague Dawley rats. In addition, 0.2 ml sesame oil was injected subcutaneously to rats in solution groups. At the beginning stage of the study, rats were grouped as Control, Solution and PCOS, then stress and Exe groups were also considered in the second stage study. In PCOS groups Exe was applied as intraperitoneally (10 $\mu$ g/kg/day) in stress medium for four weeks. Effects of Exe in stress medium was investigated by taking blood samples and examining weight, fasting blood glucose, fasting blood insulin, HOMA-IR, LH, FSH and corticosterone levels. Levels of insulin, LH, FSH and corticosterone were measured by ELISA method. Histopathological images of pancreas and ovarium were also examined.

**Results:** Weight, fasting blood glucose, fasting blood insulin and HOMA-IR levels of rats with PCOS were significantly higher than the other groups, also corticosterone levels of stress groups were significantly higher than the other groups. In addition harmful effects of PCOS on ovarian and pancreas tissues were observed in histological examinations. Exe application in PCOS groups decreased weight, fasting blood glucose, fasting blood insulin, HOMA-IR and LH/FSH levels of the groups whereas Exe application in PCOS group treated with stress was not as effective as applying Exe on rats with PCOS. Exe application also increased number of healthy follicles in PCOS group whereas there was no change in number of healthy follicles in PCOS+Stress group.

**Conclusion:** Chronic stress has harmful effects on metabolic diseases like PCOS and limits effects of treatment agents in PCOS.

**Key Words:** DHEA, PCOS, insulin resistance, chronic stress, Exenatid.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PKOS	: Polikistik ovaryum sendromu
PKO	: Polikistik over
GnRH	:Gonadotropin salgılatıcı hormon
LH	: Luteinize edici hormon
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GLP-1	: Glukagon benzeri peptit-1
Exe	: Exendin-4
DHEA	: Dehidroepiandrosteron
DHEAS	: Dehidroepiandrosteronsülfat
SHBG	: Cinsiyet hormonu bağlayan globulin
DHT	: Dihidrotestosteron
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
HPG	: Hipotalamus-hipofiz-gonad aksı
HPA	: Hipotalamus-hipofiz-adrenal aksı
P	: Proöstrus
Ö	: Östrus
M	: Metöstrus
D	: Diöstrus
MÖ	: Milattan önce
NIH	: Ulusal Sağlık Örgütü
ESHRE	: European Society for Human Reproduction and Embryology
ASRM	: American Society for Reproductive Medicine
AES	: Androgen Excess Society
CHA	: Kronik hiperandrojenik anovulasyon

FOH	: Fonksiyonel ovarian hiperandrojenizm
AMH	: Anti Müllarian Hormon
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
AGEs	: İleri glikasyon son ürünleri
E2	: Östradiol
IGFBP	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein
IRS	: İnsülin reseptör substratı
GLUT-4	: Glukoz taşıyıcısı-4
MAPK	: Mitogen-activated protein kinases
HOMA	: Homeostatic Model Assesment
IR	: İnsülin direnci
mU	: Mikroünite
L	: Litre
mL	: Mililitre
dL	: Desilitre
mmol	: Milimol
ng	:Nanogram
g	: Gram
mg	: Miligram
LOD	: Laparoskopik Ovaryan Drilling
AVP	: Arjinin-vazopressin
CRH	: Kortikotropin salgılatıcı hormon
ACTH	: Adrenokortikotropin salgılatıcı hormon
5 $\alpha$ -R	: 5 alfa redüktaz
5 $\beta$ -R	: 5 beta redüktaz

11 $\beta$ -HSD1	: 11 beta hidrosisteroid dehidrogenaz 1
CBG	: Kortikosteroid bağlayan globulin
sc	: Subkutanöz
ip	: Intraperitonel
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
dk	: Dakika
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
H-E	: Hematoksilen-Eozin
s.d.	: Standart sapma
$\bar{X}$	: Ortalama

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil No</b>		<b>Sayfa No</b>
Şekil 2. 1.	Dişi üreme sistemi.....	3
Şekil 2. 2.	Ovaryum morfolojisinin şematik gösterimi.....	4
Şekil 2. 3.	GnRH ve gonadotropin sekresyonu.....	7
Şekil 2. 4.	Sıçanda östrus döngüsü.....	8
Şekil 2. 5.	Dişi sıçanlardan vajinal sürüntü ile elde edilen boyanmamış ışık mikroskopik östrus döngüsü görüntüleri.....	9
Şekil 2. 6.	Polikistik ovaryum fenotipleri.....	12
Şekil 2. 7.	PKOS'un Klinik Özellikleri.....	14
Şekil 2. 8.	26 yaşındaki kadının ultrasonda polikistik ovaryum görüntüsü.....	15
Şekil 2. 9.	Ferriman-Galwey skoru.....	16
Şekil 2. 10.	Ovaryumda steroidlerin sentezinin şematik gösterimi.....	19
Şekil 2. 11.	İnsülinin etki mekanizması.....	23
Şekil 2.12.	Exe, memeli GLP-1 ve Glia monster GLP-1'in amino asitlerinin dizilişi.....	26
Şekil 2. 13.	PKOS'da artmış periferel kortizol metabolizması.....	30
Şekil 2. 14.	Hareket alanı sınırlandırılmış stres kafesi.....	33
Şekil 3. 1.	Vajinal sürüntü yönteminin uygulanması.....	38
Şekil 3. 2.	Deney grupları ve deney süresinin özeti.....	39
Şekil 3. 3.	Sıçanların hareket alanı sınırlandırılmış kafeste tutulması.....	40
Şekil 4. 1.	Stres uygulaması öncesi haftalara göre ortalama ağırlıklardaki değişimler.....	44
Şekil 4. 2.	Stres uygulaması öncesi açlık kan glukozu değerleri.....	46
Şekil 4. 3.	Stres uygulaması öncesi açlık serum insülin değerleri.....	46
Şekil 4. 4.	Stres uygulaması öncesi HOMA-IR değerleri.....	47
Şekil 4. 5.	Stres uygulaması öncesi östrus döngüsünün tamamlanma oranı (%).....	49
Şekil 4. 6.	Stres uygulaması ile değişen ortalama ağırlık düzeyleri.....	51
Şekil 4. 7.	Stres uygulaması ile haftalara göre % ağırlık değişimi.....	52

<b>Şekil 4. 8.</b>	Stres uygulaması sonrası LH/FSH oranı.....	55
<b>Şekil 4. 9.</b>	Stres uygulaması sonrası açlık kan glukoz değerleri.....	57
<b>Şekil 4. 10.</b>	Stres uygulaması sonrası açlık serum insülin değerleri.....	57
<b>Şekil 4. 11.</b>	Stres uygulaması sonrası HOMA-IR değerleri.....	58
<b>Şekil 4. 12.</b>	Stres uygulaması sonrası kortikosteron düzeyleri.....	60
<b>Şekil 4. 13.</b>	Stres uygulaması sonrası östrus döngülerini tamamlama oranları (%).....	61
<b>Şekil 4. 14.</b>	Kontrol grubuna ait ovaryumun görünümü.....	63
<b>Şekil 4. 15.</b>	A, Çözücü grubu; tersiyer folikül (kalın ok), sekonder folikül (ince ok), primer folikül (ok başları), korpus luteum (KL). B, Çözücü+Stres grubu; korpus luteum (KL) ve kistik folikül (KF). H-EX40.....	64
<b>Şekil 4. 16.</b>	A, PKOS grubu; atretik folikül (oklar) ve kistik folikül (KF). B, PKOS+Stres grubu; atretik folikül (ok) ve kistik folikül (KF). H-E X40.....	64
<b>Şekil 4. 17.</b>	A, PKOS+Exe grubu; atretik folikül (ok) ve kistik folikül (KF). B, PKOS+Exe+Stres grubu; atretik folikül (ok) ve kistik folikül (KF). H-E X40.....	65
<b>Şekil 4. 18.</b>	Kontrol grubuna ait Langerhans adacığının görünümü. H-E X40.....	67
<b>Şekil 4. 19.</b>	Çözücü (A) ve Çözücü+Stres (B) gruplarında Langerhans adacıklarının periferinde izlenen piknotik nükleuslu hücreler(oklar). H-E X40.....	67
<b>Şekil 4. 20.</b>	PKOS (A) ve PKOS+Stres (B) gruplarında Langerhans adacıklarının konturlarının bozulduğu, periferinde yer alan hücrelerin dejenerasyona uğradığı (kalın ok) ve sinüzoidlerinin dilate olduğu (ince ok) izlenmekte. H-E X40.....	68
<b>Şekil 4. 21.</b>	PKOS+Exe (A) ve PKOS+Exe+Stres (B) gruplarında Langerhans adacıklarının görünümünün PKOS ve PKOS+Stres gruplarındakine benzer olduğu izlenmekte. Kalın oklar dejeneratif hücrelere, ince oklar sinüzoidal dilatasyona işaret ediyor. H-E X40.....	68
<b>Şekil 5. 1.</b>	Exenatidin PKOS ve PKOS+Stres gruplarına etkilerinin özeti.....	80

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo No</b>		<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 4. 1.</b>	Stres uygulaması öncesi sıçanların haftalık ortalama ağırlıklarına (g) ilişkin analiz sonuçları.....	43
<b>Tablo 4. 2.</b>	Stres uygulaması öncesi ortalama LH ve FSH değerlerine ilişkin analiz sonuçları.....	45
<b>Tablo 4. 3.</b>	Stres uygulaması öncesi açlık kan glukozu ve açlık serum insülin değerlerine ilişkin analiz sonuçları.....	45
<b>Tablo 4. 4.</b>	Stres uygulaması öncesi HOMA-IR değerlerine ilişkin analiz sonuçları.....	47
<b>Tablo 4. 5.</b>	Stres uygulaması öncesi kümülatif olarak östrus döngüsünün tamamlanma oranı (%)......	48
<b>Tablo 4. 6.</b>	Stres uygulaması ile değişen ortalama ağırlık (g) düzeylerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.....	50
<b>Tablo 4. 7.</b>	Stres uygulaması ile haftalara göre % ağırlık artışına ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.....	52
<b>Tablo 4. 8.</b>	Stres uygulaması sonrası LH ve FSH değerlerine ilişkin analiz sonuçları.....	54
<b>Tablo 4. 9.</b>	Stres uygulaması sonrası LH/FSH değerlerine ilişkin analiz sonuçları.....	54
<b>Tablo 4. 10.</b>	Stres uygulaması sonrası açlık kan glukozu ve açlık serum insülini değerlerine ilişkin analiz sonuçları.....	56
<b>Tablo 4. 11.</b>	Stres uygulaması sonrası HOMA-IR düzeylerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.....	58
<b>Tablo 4. 12.</b>	Stres uygulaması sonrası kortikosteron düzeylerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.....	59
<b>Tablo 4. 13.</b>	Stres uygulaması sonrası kümülatif olarak östrus döngüsünün tamamlanma oranı (%)......	61
<b>Tablo 4. 14.</b>	Gruplara ait sağlıklı, atretik ve kistik folikül ile korpus luteum sayıları.....	65
<b>Tablo 4. 15.</b>	İstatistiksel karşılaştırma tablosu (p değerleri).....	66
<b>Tablo 4. 16.</b>	Gruplara ait histopatolojik skor sonuçları.....	69
<b>Tablo 4. 17.</b>	İstatistiksel karşılaştırma tablosu (p değerleri).....	69

# 1. GİRİŞ

PKOS, dünya çapında, üreme çağındaki kadınların % 5-10'unu etkileyen en yaygın reproduktif endokrinopatidir (1). En yaygın endokrin rahatsızlıklardan biri olmasına rağmen bireylerin farkındalıkları azdır ve henüz net bir tedavisi yoktur (2). Menstrüel döngünün düzensiz olması veya hiç görülmemesi, yüz ve vücutta aşırı kıllanma, kilo alma, akne, ovaryum kistleri ve saçların incilmesi gibi karakteristik özelliklere sahiptir (2). Ayrıca PKOS'lu kadınlarda Tip II diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalıklar, bozulmuş fertilité, hamilelik problemleri, endometriyal kanser riski gibi uzun ve kısa dönemli rahatsızlıkların görülme sıklığı artmıştır (2-4). Semptomları genellikle menarş döneminde başlayan PKOS'un etiopatogenezi ise henüz aydınlatılamamış olup genetik ve çevresel faktörlerden etkilendiği belirtilmektedir (5-7).

PKOS patofizyolojisi ovaryum ve ovaryumu etkileyen hipotalamus-hipofiz-adrenal akstan etkilenmektedir. PKOS'da gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) pulsunun artmasıyla LH seviyesi yükselmektedir. Bunların sonucunda anovulasyonla ilişkili infertilite, hiperandrojenizm, obezite, insülin direnci, hipertansiyon ve dislipidemi gibi endokrin ve metabolik anormallikler ortaya çıkabilmektedir (8). Metabolik problemlere neden olan insülin direnci, obez ve obez olmayan PKOS'lu kadınların temel sorunudur. PKOS'lu kadınların, insülin direncinin yanında pankreatik beta hücre bozukluklarına da sahip olduğunu ve androjen seviyeleri yüksek olan PKOS'lu kadınların insülin seviyelerinin, normal androjen düzeyine sahip olanlara göre yüksek olduğunu belirtilmiştir. (9). In-vitro çalışmalarda insülinin, PKOS'lu kadınların teka hücrelerinde androjen üretimini uyardığı görülmüştür. İnsülin, granüloza hücrelerinin LH'ya cevabını artırarak bu hücrelerin aşırı uyarılmasına, sonucunda ise folikül büyümesinin engellenerek ovulasyonun olmamasına yol açtığı belirtilmektedir (10).

İnsülin metabolizmasını etkileyen bir diğer faktör de kronik stres durumudur. Hayat kalitesinin azalmasıyla gelişen kronik stres, üreme sistemini olumsuz etkileyerek, ovaryum fonksiyonlarını baskılamaktadır (11). Kronik stres, kortikotropin salıcı hormonu harekete geçirerek adrenokortikotropin salınmasını artırmakta, artan kortizol miktarı karbonhidrat, lipit ve yağ metabolizmasını etkileyerek glikoneogeneze, glikojenolize, lipolize ve insülin direncine sebep olmaktadır (12, 13). Ayrıca kortizol,

protein yıkımına da sebep olarak ortaya çıkan alanin ve diğler çeşitli substratları glukoneogenez yoluyla glikoza çevirerek hiperglisemiye katkıda bulunmaktadır (14).

Tedavi için genellikle anti diyabetik ajanlar önerilmektedir. Bu ajanlardan biri de insan Glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) % 53 benzerlik gösteren Exenatid (Exendin-4, Exe)'dir. Exe, pankreatik beta hücrelerinden klonlanan GLP-1 reseptörünü aktive ederek insülin duyarlılığını artırır, yiyecek tüketimini azaltır ve total kolestrerol ve trigliseritleri azaltarak kardiyovasküler riskin giderilmesini sağlar (15). Ayrıca ovaryum fonksiyonları üzerine olumlu etkilerinin olduğu belirtilmektedir (16).

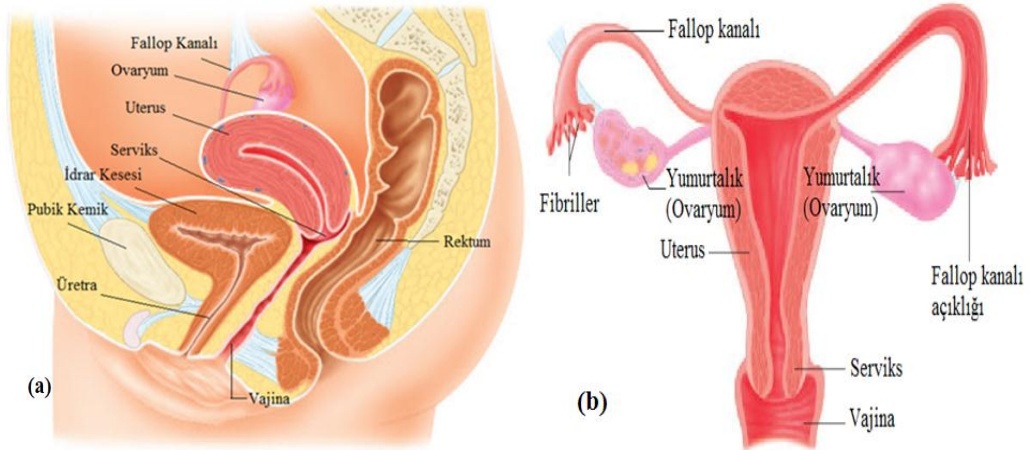
Ancak PKOS'la beraber gelişen insülin direnci üzerine Exe'in etkileri konusunda çalışma sayısı çok azdır. Bu eksikliği gidermek ve stresin PKOS üzerine etkilerini sorgulamak için; PKOS'lu sığınarlarda kronik orta düzeyde stres oluşturularak, Exe'in olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Böylelikle bu araştırmanın hipotezi; Exe'in, PKOS sonucu oluşan insülin direnci üzerine etkisinin, stres ortamından etkileneceği şeklindedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2. 1. Ovaryum Fizyolojisi ve Histolojisi

Dişi üreme sistemi internal (iç) ve eksternal (dış) genital yapılardan oluşmaktadır. Dişi internal üreme organları ovaryumlar, uterin tüpler (fallop kanalı), uterus ve vajinadan meydana gelmektedir (Şekil 2. 1a). Internal ve eksternal genital yapılar, nöronal aktivite ve hormon seviyeleri ile menstrual siklusun ilk başlangıcı olan menarştan, menstrual siklusun sonu olan menapoza kadar düzenli döngüsel değişimler göstermektedir (17).

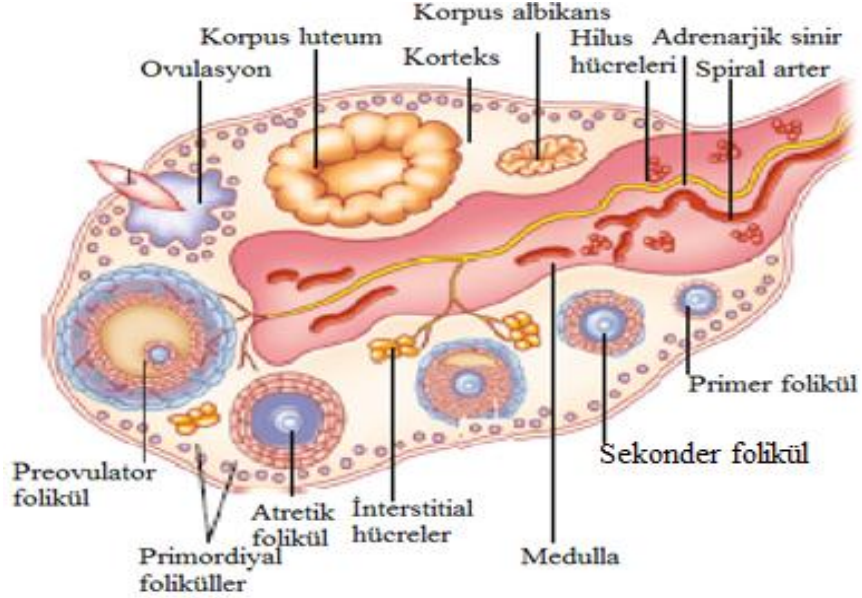
Ovaryumlar pelvis boşluğunun yan duvarına dayalı sağ ve sol olmak üzere iki adettir. 3 cm boyunda, 1,5 cm eninde, 1 cm kalınlığında olan ovaryumlar, uterusun iki yanında yer almakta ve fallop kanalı ile uterusla bağlantı sağlamaktadır (18). Fallop kanallarının ovaryuma bakan kısmında bulunan fimbrialar, ovumun (yumurta) alınmasına yardımcı olmaktadır (Şekil 2. 1b). Ovaryumlar, fetal dönemde gametlerin üretimi (oogenez), oositin olgunlaşması, olgunlaşan oositin fallop tüplerine atılması (ovulasyon) ve cinsiyet hormonlarının üretilmesi gibi fizyolojik görevler üstlenmiştir.



Şekil 2. 1. Dişi üreme sistemi (19).

Ovaryumlar histolojik olarak incelendiğinde, içte medulla, dışta da korteksten oluştuğu görülmektedir. Medulla, zengin kan ve lenf damarları ile adrenarjik sinirleri içeren gevşek bağ dokusu yapısındadır. Korteks ise medullayı çevreleyen ve ovaryum

folikülerini içeren kısımdır. Medulla ile korteks arasında belirgin bir sınır bulunmamakla beraber foliküller, korteksin stromasına dağılmış halde bulunmaktadır (Şekil 2. 2.).



Şekil 2. 2. Ovaryum morfolojisinin şematik gösterimi (20).

Ovaryumlar dıştan tek katlı kübik ya da yassı epitelle örtülüdür. Bu epitele germinal epitel denir. Epitelin altında ovaryum korteksi yoğunlaşarak sıkı bağ doku yapısında tunika albuginayı oluşturmaktadır (17). Ovaryumun fonksiyonel üniteleri ovaryum folikülleridir. Bu foliküller hem üreme hücresi olan gametleri taşıırken hem de endokrin fonksiyon olarak işlev görmektedir (21). Foliküller içinde gelişmekte olan gametlere oosit denmektedir. Gelişim evresine göre histolojik olarak 3 temel tip ovaryum folikülü tanımlanmaktadır.

- Primordiyal folikül,
- Büyümekte olan foliküller; primer ve sekonder (antral) folikül
- Olgun ya da graaf foliküller

Foliküler gelişimin en erken evresi olan primordiyal foliküller, gonadotropin stimülasyonundan bağımsız olarak gelişirler ve fetal gelişimin üçüncü ayında ortaya çıkarlar (22). Primordiyal folikülde, oositi tek katlı yassı folikül hücreleri ya da granuloza hücreleri çevrelemektedir ve olgun ovaryumda tunika albugineanın altında

yer alırlar (22). Primordiyal folikül, fetal ovaryumda geliştikten sonra dinlenme evresine girmekte ve puberteye kadar bu evrede beklemektedir (23).

Bekleme evresinden çıkan primordiyal folikülde, oositi çevreleyen yassı folikül hücreler kübik hale dönüşür ve oluşan foliküle primer folikül denmektedir. Granüloza hücrelerinin sürekli bölünmesiyle üç ila altı tabakalı teka tabakası meydana gelmekte ve oositin büyümesiyle, daha sonra sperm için seçici bağlanma bölgesi oluşturacak olan, zona pellusida denen glikoprotein bir yapı oluşmaktadır (21, 22). Sonraki evrede, sürekli bölünen folikül hücreleri ve kalınlaşan zona pellusida, sekonder folikülü oluşturmaktadır. Folikülü çevreleyen bu hücrelerden, teka interna ve teka eksterna denen tabakalarla, teka kılıfı denen yapı oluşmaktadır. Gelişen folikülün bazal laminasına komşu olan teka interna tabakasında, kolesterolden; dehidroepiandrosteron (DHEA), androstenoidin ve testosteron üretilmektedir (24, 25). Teka internada üretilen kolesterol ürünleri, granüloza hücrelerinde estron ve estradiole dönüştürülmektedir. Teka eksterna tabakası ise ovaryum stroması ile devam etmektedir (26).

Foliküler hücreler arasında meydana gelen küçük hücreler arası boşluklar birleşerek büyük bir boşluk olan antrumu oluşturur ve folikül artık sekonder (antral ya da veziküler) folikül adını almaktadır. Sekonder folikül büyürken, antrum genişlemeye devam etmektedir. Primer oosit bundan sonra artık büyüyemezken, sekonder folikül döngünün yaklaşık 14. gününde maksimal büyüklüğe (çapı yaklaşık 10 mm veya daha fazla) erişir (22). Primer oosit ve onu dıştan saran ışınal düzenlenmiş granüloza hücreleri, kumulus ooforus ve korona radiatayı oluşturmaktadır. Maksimal büyüklüğe ulaşan sekonder foliküller, içlerinde artan folikül sıvısı nedeniyle büyük bir basınca sahiptir. Graaf folikülü de denen bu folikülde ovulasyondan birkaç saat önce I. mayoz bölünme tamamlanmaktadır. Bunun sonucunda sekonder oosit ve birinci kutup cismi oluşmakta ve birinci kutup cismi, oosit ile zona pellusida aralığına atılmaktadır (17). Sekonder oosit ise hemen 2. mayoz bölünmeye girer ve eğer bir sperm tarafından döllenirse bu bölünmeyi tamamlar (22). Olgun bir graaf folikülün yırtılması ile içerdiği sekonder oositin uterus tüplerine alınması olayına ovulasyon denmektedir. Ovulasyon puberteden menapoza kadar olan dönemde 28 günde bir yinelenen periyodik bir olaydır. Bu süre kişiden kişiye değişebilmektedir. İnsanlarda intrauterin hayatın 20. haftasında yaklaşık 6-7 milyon primordiyal folikül bulunmaktadır. Primordiyal foliküllerin yaklaşık 1-2 milyon kadarı doğum zamanında ve 300,000 kadarı da pubertede foliküler atreziye uğramaktadır (27). Puberteden sonra yalnızca 400 folikül ovulasyona uğramaktadır. Geri kalanlar dejenere olmakta ve atretik folikül adını almaktadır.

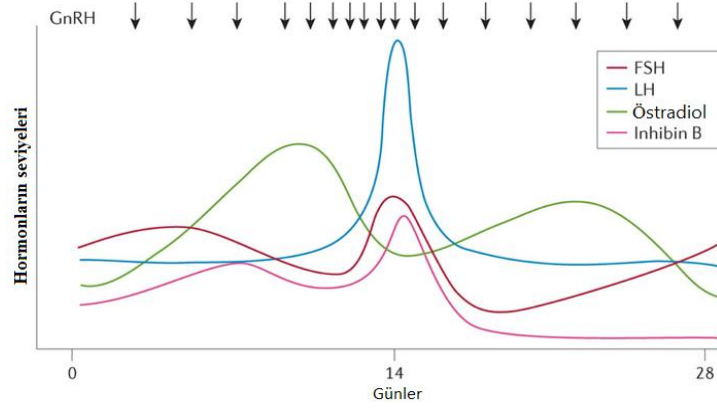
## 2. 2. Menstrüel Döngü

Pubertenin başlamasıyla yaklaşık 28 günde bir tekrarlanan menstrüel döngüler meydana gelmektedir. Menstrüel döngü; foliküler faz ve luteal faz olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. Foliküler faz 10-14 gün kadardır. Bu fazda FSH'nin etkisiyle 6-12 oosit gelişmeye başlar ancak yalnızca bir folikül olgunlaşabilmektedir. Prostaglandinlerin ve proteolitik enzimlerin lokal konsantrasyonlarının artması ile olgunlaşan folikül, duvarı aşarak ovaryum dışına çıkar. Luteal faz ise 14 gün sürmekte ve mensin başlamasıyla son bulmaktadır (19, 28, 29).

Menstrüel döngünün nöroendokrin düzenlenmesi hipotalamusu-hipofiz-ovaryumları/gonad (HPG) aksını kapsayan karmaşık bir mekanizmadır ve bu sürece katılan hormonların salgılanma zamanı ve kalitesi aksın doğru çalışmasını sağlamaktadır (30).

HPG aksı; hipotalamusun GnRH üreten nöronları, hipofiz LH ve FSH salgılayan ön lobu ve ovaryumlardan oluşmaktadır. GnRH'nin sentezi ve salgılanması hipotalamusun anterior ve mediobazal sinir sonlanmalarında yapılmaktadır ve temel olarak ovaryum steroidlerinden etkilenmekle beraber, opiyatlar, katekolaminler, nöropeptit Y gibi diğer faktörlerden de etkilenmektedir. GnRH'nin normal kan dolaşımındaki seviyesi belirlenemediği için, LH seviyesi ile ilişkilendirilmektedir (31).

Düzenli bir menstrüel döngüde, ovaryumların, hipofizden salgılanan gonadotropinlere cevap vermesiyle folikül gelişimi ve ovulasyon olayı meydana gelmekte, buna cevap olarak da ovaryumlardan östradiol, progesteron steroidleri ile inhibin A ve inhibin B gonadal peptitleri sentezlenmektedir. Ovaryumun steroid ve steroid olmayan hormonlarının sentezi, HPG aksı ile kontrol edilmektedir (32). Kadınların GnRH sekresyon pulsunun sıklığı, menstrüel döngü boyunca dinamik olarak düzenlenmektedir. Bir döngünün sonundan diğerinin başlamasına geçişteki sürede LH-GnRH, luteal fazda her 4 saatte bir puls iken, erken foliküler fazda her 90 dakikada 1 puls şeklinde olmaktadır. Orta foliküler faz boyunca GnRH pulsunun frekansı her saatte 1 puls olacak şekilde artmaktadır. Orta foliküler faz ve ovulasyondan sonra GnRH pulsusu her 90 dakikada 1 pulsa yavaşlamakta ve luteal fazın sonuna doğru her 4 saatte 1 puls olacak şekilde tekrar azalmaktadır (Şekil 2. 3.) (31, 33).



**Şekil 2. 3.** GnRH ve gonadotropin sekresyonu (33).

Plazmanın östrojen ve progesteron seviyesi düştüğünde, hipotalamustan GnRH'nın pulsatil şekilde portal dolaşıma verilmesi başlamakta ve ön hipofiz bezinden LH ve FSH salgılanması uyarılmaktadır. Ovaryumlara etki eden bu hormonlardan FSH, birçok ovarian folikülün gelişimini uyararak, östrojen ve inhibin B miktarını artırmaktadır. Olgunlaşmaya başlayan foliküllerin, bir tanesi hariç, gerisi atrezi olur. Olgunlaşan folikülün östrojen salgılamasıyla, endometriyumun fonksiyonel tabakasının kalınlaşması ve büyümesi sağlanmaktadır. Döngünün ortasında LH seviyesinin artmasıyla, FSH sekresyonunun da arttığı görülmekte ancak bu durumun önemi bilinmemektedir. Östrojen ve inhibin B seviyelerinin artması sonucu negatif geri bildirim sistemiyle serum FSH seviyesi düşmeye başlamaktadır (20). Artan östrojen değerlerinin pozitif geri bildirim ile gonadotropin salgısı uyarılarak, büyük LH dalgasının oluşması tetiklenmektedir. Folikül artık daha az östrojen ve progesteron salgılamaktadır. Bu sırada yumurta ilk mayoz bölünmesini tamamlamakta ve büyük LH dalgasından 12-24 saat sonra ovulasyon gerçekleşmektedir (34).

Ovulasyondan kısa bir süre sonra teka folikülü ve yumurtalık folikül duvarları içe çökerek kıvrılmaya başlamaktadır. LH'nın etkisiyle hormon salgılayan bir bez haline gelmektedir. Korpus luteum denen bu yapıdan progesteron ve az miktarda östrojen salgılanmaktadır. Plazma östrojen ve progesteron seviyesinin artmasıyla FSH ve LH baskılanarak, seviyeleri düşmektedir. Olası bir gebelik söz konusu değilse korpus luteum yıkılmaya başlayarak, hormon salgıları azalmaktadır. Plazmada östrojen, inhibin A ve progesteron seviyeleri düşmekte ve döngünün sonunda endometriyum dökülmeye başlamaktadır. Yeni bir döngü ile FSH ve LH sekresyonu tekrar artmaktadır (34).

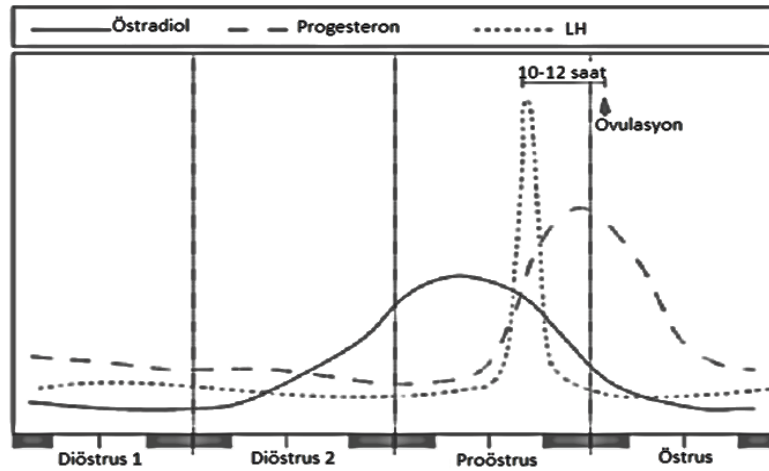
Ancak HPG aksının anormal çalıştığı durumlarda, LH ve FSH hormonlarının

üretimi bozularak over rahatsızlıkları ortaya çıkmaktadır. Menstrüel döngüleri bozulan ve ovulasyonun olmadığı ya da az olduğu bu kadınların ovaryumlarında çoklu kistik yapılar gelişerek polikistik ovaryum denen durum ortaya çıkmaktadır. Bu düzensizliğin bir sonucu olarak kadının, erkeklik hormonlarının (androjenlerin) üretimi artmakta ve başta insülin direnci olmak üzere birçok sağlık problemi beraber gelişmektedir. Bu durum ise kadının hayat kalitesini azaltarak psikolojik stres durumunu artırmaktadır.

### 2. 2. 1. Sıçanda Östrus Döngüsü

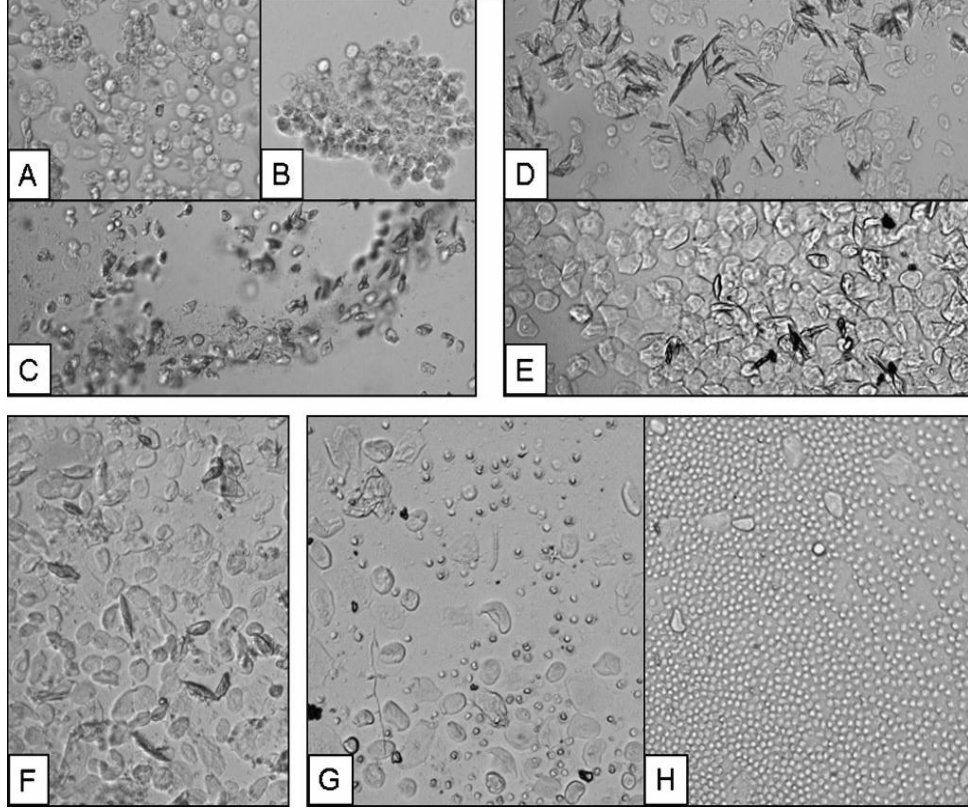
Üreme fiziolojisi araştırmalarında, üreme döngülerinin kısa sürmesinden dolayı (4-5 gün), sıçanlar en çok kullanılan deney hayvanlarıdır. İnsanlardakine benzer olarak dişi sıçanların üreme döngülerinde de cinsiyet hormonları önemli rol oynamaktadır (35). Dişi sıçanların üreme döngüsü östrus döngüsü olarak adlandırılmakta ve proöstrus (P), östrus (Ö), metöstrus (M) (veya diöstrus 1) ve diöstrus (D) (veya diöstrus 2) olmak üzere dört faz gözlenmektedir (36).

Ovulasyon, proöstrusun başından östrus sonuna kadar devam etmektedir. Östrus döngüsü boyunca, prolaktin, LH ve FSH düşük seyrederken, proöstrus fazında artmaktadır. Östradiol seviyesi, metöstrusta artmaya başlayarak, proöstrusta en yüksek seviyeye ulaşıp östrus fazına doğru tekrar azalmaktadır (36). Progesteron sekresyonu ise metöstrus ve diöstrusta kısmen artmaya başlayarak proöstrus fazında tepe değerine ulaşmaktadır. Bu dört faz içinde proöstrus fazı östrojen, progesteron ve LH hormonlarının en yüksek seyrettiği faz olarak dikkat çekmektedir (Şekil 2. 4.) (37, 38).



Şekil 2. 4. Sıçanda östrus döngüsü (38).

Her bir fazın belirlenmesinde, sıçanlardan vajinal sürüntü alınarak ışık mikroskobu ile üç tip hücreye bakılmaktadır: epitel hücreleri, kornifiye olmuş hücreler ve lökositler (Şekil 2. 5.) (36, 38).



**Şekil 2. 5.** Dişi sıçanlardan vajinal sürüntü ile elde edilen boyanmamış ışık mikroskobik östrus döngüsü görüntüleri.

A, B, C: Proöstrus (12 saat); vajinal epitel hücreleri çoğalmıştır ve yığınlar halinde taneli görünümündedir. Lökosit ve mukus nadirdir. D, E: Östrus (14 saat); İğne benzeri keratinize kornifiye hücreler görülmektedir. F: Metöstrus (21 saat); Birkaç kornifiye hücre vardır. Lökositler görünmeye başlar. G, H: Diestrus; Epitel hücrelerinin arasında geniş lökositler göze çarpar (38).

### **2. 3. Polikistik Over Sendromu Tanımı ve Tarihçesi**

Polikistik Over Sendromu (PKOS), dünya çapında, üreme çağındaki kadınların % 5-10'unu etkileyen en yaygın reproduktif endokrinopatidir (1).

Hiperandrojenizm, genişlemiş overler, menstrüyel döngünün düzensiz olması veya hiç görülmemesi, yüz ve vücutta aşırı kıllanma, kilo alma, akne, ovaryum kistleri ve saçların incilmesi gibi hayat kalitesini olumsuz etkileyen karakteristik özelliklere sahiptir. Farklı semptomlar ve bulgular ortaya çıktığından ve tek bir tanı testi olmaması nedeniyle hastalık ifadesi yerine sendrom ifadesinin kullanılması kabul görmüştür (2).

Ayrıca hastaların Tip II diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalıklar, bozulmuş fertilité, hamilelik problemleri, endometriyal kanser riski gibi uzun ve kısa dönemli rahatsızlıklara yakalanma riski yüksektir (3, 4).

Bu sendroma ilişkin en erken bulgular, kadınların erkeksi özelliklere sahip olması ve menstrüel döngünün olmaması şeklinde MÖ 400'lü yıllara kadar dayanır (39). 1800'lü yıllarda anormal uterin kanamalar bu sendrom ile ilişkilendirilmiştir (40). İlk kez 1935 yılında Irving F. Stein ve Michael Leventhal isimli araştırmacılar tarafından tanımlanarak, oligo ya da amenore, hirsütizm, obezite ile ilişkilendirilmiş ve ilk zamanlar "Stein-Leventhal Sendromu" ya da overlerin durumu göze alınarak "polikistik over" olarak adlandırılmıştır (41).

Stein ve Leventhal'in yaptıkları gözlemler sonucunda PKOS'lu yedi kadında, genişlemiş ovaryum ve amenore durumunu rapor etmişlerdir. Bu kadınlardan ikisi obez, dördü hirsütizm, biri ise hem obezite hem de hirsütizm belirtilerine sahiptir (42, 43). İlerleyen zamanlarda, bu sendroma sahip olan kadınların endokrin anormalliklere sahip olduğu görülmüş ve teşhis için biyokimyasal analizler ana ölçüt olmuştur (44).

1957-62 yıllarında yapılan çalışmalarda PKOS'lu kadınların idrarında fazla miktarda intersitisyel hücre uyarıcı hormon aktivitesi gözlenmiştir (45-48).

1970'de Yen ve arkadaşları idrarda yapılan bu gözlemi radyoimmunoassay teknikler kullanarak plazma düzeyinde de göstermişlerdir (49).

1982 yıllarında ultrason cihazının gelişmesiyle beraber yapılan histolojik incelemelerde, her iki ovaryumda çok sayıda kistik yapıların bulunması ve ovaryum hacminde artma olması gibi bulgular bu sendromun ölçütleri arasına girmiştir (50). Ayrıca serumda LH, testosteron ve androstenedion seviyelerinin artması ve buna rağmen düşük ya da normal FSH seviyesi ve östrojen salınımının anormal olması, PKOS'da birçok araştırmacının kabul ettiği endokrin profili oluşturmuştur (51). İlk kez Stein ve Leventhal tarafından tanımlanmasına rağmen, PKOS'un tanı kriterleri, anormal gonadotropin sekresyonu ve hiperandrojenemi bulgularıyla tekrar tekrar gözden geçirilmiştir (52, 53).

## 2. 4. PKOS'ta Tanı Kriterleri

PKOS'la ilgili ilk uluslararası görüşmeler 1990 yılında Amerika'nın Maryland Eyaletinde NIH konferansında yapılmıştır. Ulusal Sağlık Örgütü (NIH) tarafından düzenlenen konferansta araştırmacılara ve klinisyenlere gelecek on yıl faydalı olabilecek tanı kriterleri görüşülmüştür. Ultrasonografi de PKOS görüntüsünün olması, NIH tanı kriterleri içinde yer almamış, sadece destekleyici olarak görülmüştür.

### 1990 NIH Tanı Kriterleri:

1.Kronik anovülasyon.

2.Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları (doğuştan gelen adrenal hiperplazi durumları hariç) (54).

2003 yılında Hollanda'nın Rotterdam kentinde European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) ve American Society for Reproductive Medicine (ASRM) sponsorluğunda yapılan konsensusta, NIH kriterleri yeniden gözden geçirilmiştir. Bu konsensusta NIH kriterlerinden farklı olarak polikistik over yapısının bulunması tanı kriterlerine eklenmiştir. Overlerde çapı 2-9 mm kadar olan 12 veya daha fazla folikülün bulunması veya ovarian hacmin 10 cm<sup>3</sup>'ten daha büyük olması esas alınmıştır. Tanı için en az iki kriterin bulunması PKOS teşhisi için yeterli kabul edilmiştir (55).

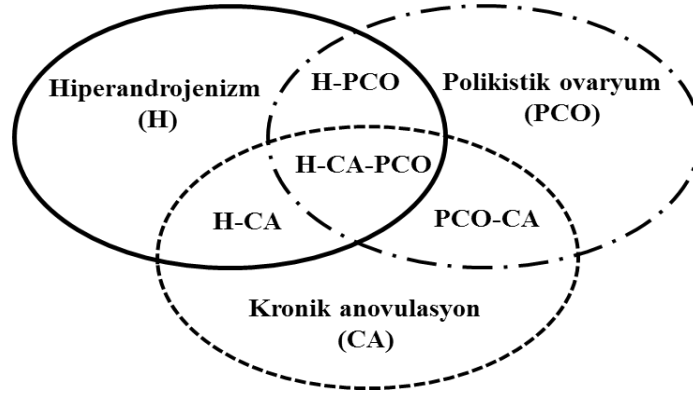
### 2003 Rotterdam (ESHRE/ASRM) Tanı Kriterleri:

1.Oligo-anovulasyon.

2.Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları (doğuştan gelen adrenal hiperplazi durumları hariç).

3.Polikistik overlerin görütülenmesi (55).

PKOS tanılı kadınlarda polikistik overlerin olması ortak bir algı oluşturmuştur. Ancak yapılan çalışmalarda polikistik over morfolojisine sahip kadınların yaklaşık %20-30'unda normal ovulasyonun görülmesi ve bu kadınlarda hiperandrojeneminin bulunmaması klinik açıdan birçok fikir ayrılıklarına yol açmıştır. Bu tutarsızlığı gidermek için 2004 yılında PKOS tanımlamasında dört farklı fenotipten yola çıkılarak olası PKOS kombinasyonları oluşturulmuştur (Şekil 2. 6.).



Şekil 2. 6. Polikistik ovaryum fenotipleri.

- Tip A: Hiperandrojenizm, kronik anovulasyon ve polikistik overler  
 Tip B: Hiperandrojenizm ve kronik anovulasyon  
 Tip C: Hiperandrojenizm ve polikistik overler  
 Tip D: Kronik anovulasyon ve polikistik overler (56)

2006 yılında Androgen Excess Society (AES) PKOS'un temelinde hiperandrojenizmin olduğuna dikkat çekmiş ve her iki kriterde de hiperandrojenizm varlığı söz konusu olarak, PKOS tanı kriterleri oluşturulmuştur.

#### 2006 AES Tanı Kriterleri

- 1) Hirsutizm ve/veya hiperandrojenemi
- 2) Oligo-anovulasyon ve/veya polikistik overler (57, 58).

2009 yılında AES-PCOS organizasyonu ile alınan kararlar yeniden gözden geçirilerek aşağıdaki tanı kriterleri oluşturulmuştur.

#### AES-PCOS Tanı Kriterleri

- 1) Hiperandrojenizm (klinik ve/veya biyokimyasal)
- 2) Oligo-anovulasyon ve/veya polikistik overler
- 3) Diğer nedenlerin ekarte edilmesi\* (53).

\* PKOS'un farklı tanılamalarında ekarte edilmesi gereken hastalıklar androjen sekresyonu yapan tümörler, Kushing Sendromu, 21 hidrosilaz eksikliği, doğuştan adrenal hiperplazi, tiroid hastalıkları, hiperprolaktinemi ve olgunlaşmayan ovaryumlardır.

NIH kriterlerine benzer olarak AES-PCOS kriterlerinde de androjen fazlalığı esastır. PKOS için AES-PCOS tanı kriterleri NIH için daha kapsayıcı iken Rotterdam konsensusu için daha az kapsayıcıdır (40).

2012 yılında Ulusal Sağlık Örgütünün (NIH) PKOS üzerine yaptığı Kanıta Dayalı Metodoloji Çalışmayı'nda aşağıdaki öneriler kayıda alınmıştır:

- Sendromun hipotalamus, hipofiz, yumurtalık ve böbrek üstü bezleri ile etkileşimini kapsayacak şekilde yeniden adlandırılması
- Sendromun Rotterdam tanı kriterlerini de kapsayan daha geniş tanılmasının yapılmasıdır (54).

PKOS için kronik hiperandrojenik anovulasyon (CHA) gibi yeni bir terimleme de düşünülmüştür (59). Ehrmann ve arkadaşları ise fonksiyonel ovarian hiperandrojenizm (FOH) şeklinde PKOS terimlemesine alternatif terimler önermişlerdir (60). CHA ve FOH terimleri PKOS'lu kadınların benzer özelliklerini tanımlamaktadır (61).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Anti Müllerian Hormonun (AMH), PKOS fenotipine sahip kadınlarda arttığı yönündedir. Bu durum henüz tanı kriterleri arasına girmemesiyle beraber gelecek yıllarda PKOS tanı kriterlerinin alt kategorisinde olabileceği düşünülmektedir (62).

## **2. 5. PKOS Sıklığı ve Etiyolojisi**

PKOS kadınlardaki en yaygın endokrin/metabolik rahatsızlıktan biridir. PKOS sıklığı populasyonun değerlendirildiği tanı kriterlerine bağlı değişim göstermektedir. Örneğin Türkiye'deki üreme çağındaki kadınlardaki PKOS sıklığı; NIH kriterlerine göre % 6.1, Rotterdam kriterlerine göre % 19.9, AES kriterlerine göre % 15.3'tür. Benzer şekilde Australya'daki PKOS sıklığı; NIH kriterlerine göre % 8.7, Rotterdam kriterlerine göre % 17.8 ve AES kriterlerine göre % 12 dir (63, 64).

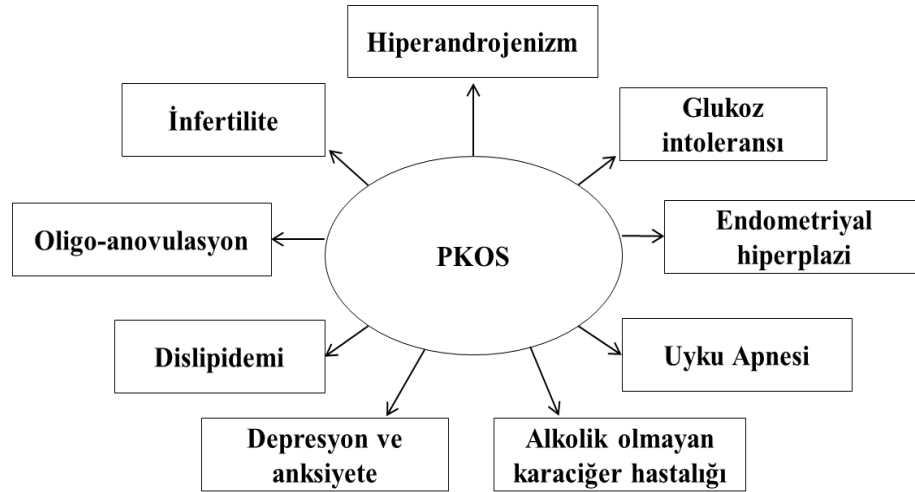
Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 827 kadını NIH kriterlerine göre değerlendirdiğinde, kadınların 456'sı için (% 55'i), Rotterdam kriterlerine göre değerlendirdiğinde 754'ü için (% 91'i) PKOS teşhisi koymuştur (65). Amerika Birleşik Devletleri'nde sağlık sisteminin PKOS için harcadığı miktar yıllık yaklaşık 4 milyar dolardır (66). Durumun bu şekilde olmasıyla PKOS üzerine araştırmaların sayısı artmaktadır. Pubmed'e baktığımızda PKOS ile ilgili yapılan araştırmalar 1956 yılında 8 makale iken 2015'te bu sayı 753'e ulaşmıştır. Bugün iyi tanımlanan bir endokrin

problem olmasına rağmen klinik özellikleri açısından hâlâ tam bir fikir birliğine varılamamıştır (67).

PKOS, yaklaşık 80 yıldan beri tanımlanmış olmasına rağmen, etiyojisi hakkında tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. Sendromun oluşma süreci hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenmektedir (68). Klinik ve biyokimyasal özellikleri açısından homojenite olmadığından etiyojisi tartışmalı olarak kalmıştır. Semptomları genellikle ergenlik döneminde başlayan PKOS kökeninin fetal gelişim boyunca programlandığı düşünülmektedir (69).

## 2. 6. PKOS'un Klinik Özellikleri

PKOS değişken fenotipik karakterlere sahip olduğundan tanı koyulması açısından da tam bir fikir birliği bulunmamaktadır. PKOS'a sahip olan her birey, sendromun şiddetine göre değerlendirilmekte ve tedavisi ona göre yapılmaktadır (70). Sendromun klinik özellikleri arasında menstrüel düzensizliklere bağlı anovulasyon, hiperandrojenizm, infertilite ve diğer metabolik anormallikler bulunmaktadır (Şekil 2. 7.).

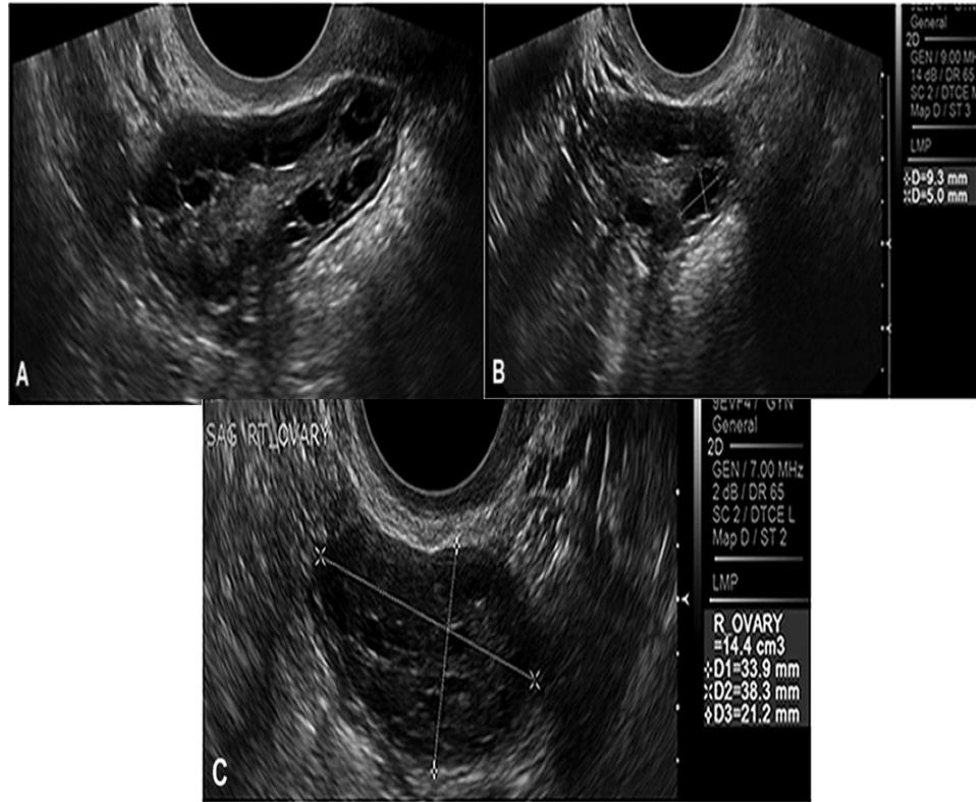


Şekil 2. 7. PKOS'un Klinik Özellikleri (70).

PKOS sahip kadınların %10'da mensin hiç olmadığı durum olan primer amenore ve %75'inde üç aydan daha fazla sürede mensin olmadığı durum olan sekonder amenore görülmektedir (10). Oligoanovulasyon, oligomenore (yıllık 9 döngüden az) veya amenore ile temsil edilir. Progesteron eksikliği ve östrojene cevap olmaması

durumunda normal olmayan uterin kanama bozuklukları görülebilmektedir. Bu menstrüel bozukluklar puberteyle başlamakta ve bundan sonraki dönemlerde de kilo alımıyla beraber artış göstermektedir. PKOS kadınlarında kendi kendine de ovulasyon olabilmektedir. Ancak bunun frekansı bilinmemektedir (2).

PKOS morfolojisinde trans-vajinal ultrason görüntüleme sayesinde ovarian foliküllerin sayısına bakılıp değerlendirme yapılabilmektedir. Ovarian hacim veya ovarian alanın artışı PKO morfolojisinde bir belirleyici olabilmektedir (71). 2003 Rotterdam Konsensusunda PKOS teşhisi için her iki ovaryumda da çapı 2-9 mm olan 12 veya daha fazla folikülün olması ve ovarian hacmin  $10 \text{ cm}^3$ 'ten büyük olması gerekli görülmektedir (Şekil 2. 8.) (72, 73).

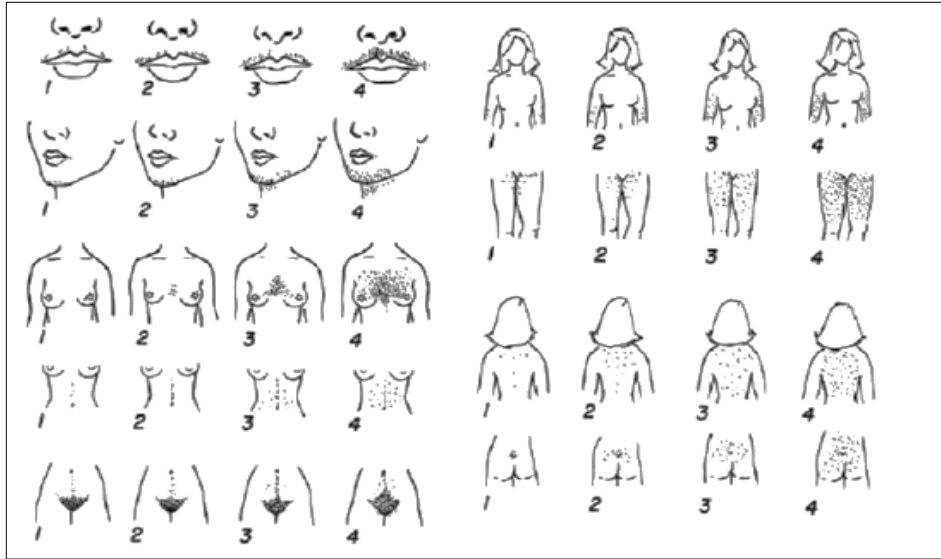


**Şekil 2. 8.** 26 yaşındaki kadının ultrasonda polikistik ovaryum görüntüsü.

(A: 12 veya daha fazla folikül, B: herbirinin çapı 2-9 mm olan foliküller, C: ovarian hacmin  $10 \text{ cm}^3$ 'ten büyük olması) (74).

- PKOS sahip kadınlarda oligoanovulasyondan dolayı infertilite görülme olasılığı yüksektir. Olgun oosit miktarının azalması, uygun olmayan endometriyal değişiklikler ve obezite, infertiliteye neden olmaktadır.

- Anovulasyondan dolayı endometriyal hiperplazi durumu endometriyal kanser riskini artırmaktadır. Kronik hiperinsülinemi, hiperandrojenemi ve obezite bu riskin diğer bileşenlerini oluşturmaktadır (70).
- PKOS'da görülen hiperandrojenizm hem ovarian hem de adrenal orjinlidir. Bu kadınların ovaryumlarından salgılanan testosteron, androstenoidin, dehidroepiendosteron (DHEA), dehidroepiandosteronsülfat (DHEAS), 17a-hidroksiprogesteron ve östron seviyeleri artış göstermektedir (75). Hiperandrojenizm klinik olarak hirsütizm (kılınma artışı), akne ve androjenik alopesi (saç dökülmesi) ile kendini göstermektedir. Serum testosteron miktarı 5 nmol/L'ün üzerinde veya normal laboratuvar değerlerinin en az iki kat üstünde seyreder (76). Ayrıca kadınlarda artan testosteron miktarını ölçmek için vücuttaki kılların yoğunluğunu gösteren Ferriman-Gallwey skorlaması yapılmaktadır (Şekil 2. 9). Objektif değerlendirmeye yapılan bu metotta farklı ırklara ait kişilerde de hiperandrojenizme bağlı hirsütizm değerlendirilmesi yapılabilmektedir (77).



Şekil 2. 9. Ferriman-Gallwey skoru (77).

- PKOS kadınlarında özellikle visseral yağ artışıyla beraber obezite görülebilmektedir (78). Ancak obeziteden bağımsız olarak hiperinsülinemi ve insülin direnci PKOS'lu kadınlarda görülmektedir (79). Bu kadınlarda insülin direncinin oluşmasıyla kasık, koltuk altı, boyun ve diğer deri kıvrımlarında deride kalınlaşmalar ve deri renginin koyulaşması şeklinde akantozis nigrikans

denen klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır (80). Ayrıca bozulmuş glukoz toleransı ve Tip 2 diyabet riski artış göstermektedir.

- İnsülin, hiperandrojenemiye dolaylı olarak etkileyerek cinsiyet hormonu bağlayan globulin protein (SHBG) miktarını düşürmektedir. Bu protein karaciğerde üretilir ve plazmadaki testostereona bağlanarak normal durumlarda serbest testosteron miktarını azaltır. Ancak PKOS'lu kadınlarda SHBG üretimi azalmıştır ve dolaşımdaki serbest testosteron miktarı artmıştır (81).
- Hipertansiyon ve vasküler endotel disfonksiyona yatkınlık vardır ve makrovasküler hastalık riski oldukça yükselmiştir (82). Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyeleri (LDL) artmışken, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol seviyeleri (HDL) azalmıştır (83).
- İnsülin direnci ve obezitenin bir sebebi olarak uyku apnesi PKOS kadınlarında yaygınlık göstermektedir (84). Serum alanin aminotransferaz konsantrasyonu artmıştır ve alkolik olmayan karaciğer rahatsızlığının görülme sıklığı bu hastalarda artış göstermiştir (85).
- İleri glikasyon son ürünleri (AGEs) sadece metabolik sendromda değil ovarian fizyolojide de belirleyici role sahiptir. Serum AGEs konsantrasyonu zayıf ve obez PKOS'li kadınlarda artış göstermektedir (86).
- PKOS'lu kadınlarda obeziteden bağımsız olarak anksiyete ve depresyona yatkınlık durumu artış göstermektedir (87, 88).

## **2. 7. PKOS'nun Patofizyolojisi**

PKOS sonucunda görülen heterojen klinik bulgular, birçok patofizyolojik durumu yansıtmaktadır. Bu bulguların hangisinin anovulasyonu, androjen artışını ve hiperinsülinemiye tetiklediği belirgin olmamakla beraber, bir “kısır döngü” sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (89). Hiperandrojeneminin ana kaynağı ovaryum androjenlerdir. Hiperandrojenemi hem ovaryumlardaki değişikliklerden hem de hipofizin LH pulsunun sıklığından ve buna rağmen FSH'nın düşük amplitüdünden etkilenmektedir. Dahası, adrenal androjenler (DHEA ve DHEAS), PKOS'da androjen artışına katkıda bulunmaktadır. İnsülin direncinin gelişmesi hem ovarian androjen üretimini artırmakta hem de karaciğerde üretilen SHBG azalmasına neden olarak androjen artışına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca yüksek testosteron, insülin direnci ve

obezite ile ilgili olarak kaslardaki sempatik sinir sisteminin artması da PKOS'la yakın ilişkilidir (90).

### **2. 7. 1. Genetik Faktörler**

PKOS ile ilgili yapılan genetik araştırmalarda, sendromun otozomal dominant olarak kalıtıldığı yönünde hipotezler ortaya atılmıştır. Birçok küçük gruplu aile çalışmasında PKOS'nun %51-60 oranında birinci derece yakın akrabalarda görülmesi bu hipotezleri destekler yöndedir (91, 92).

Hiperandrojeneminin genetik temellerine bakıldığında androjen biyosentez yolağındaki enzimleri kodlayan birçok genin bulunduğu ve ovulasyon ya da anovulasyon durumunun çevresel faktörlerden de etkilendiği görülmüştür (93).

Düşük doğum ağırlığı ve fötal dönemde aşırı androjene maruz kalma durumunda da PKOS fenotipinin oluştuğu belirtilmektedir (94).

### **2. 7. 2. Nöroendokrin Bozukluk**

GnRH'nın pulsatil sekresyonu normal hipofiz fonksiyonunda önemlidir ve ön hipofiz hücrelerinde gonadotropin seviyelerinin düzenlenmesi ovarian steroidlerinin feedback mekanizmasıyla düzenlenmektedir. Ovulasyondan önce östrojenin düşük seviyeleri hipofiz seviyesinde LH ve FSH inhibe etmektedir. En çok da FSH'yı inhibe etmektedir (95). Döngünün ortasına doğru östrojenin yükselmesi LH'yı uyarmaktadır. Ek olarak progesteronun azalması LH'nin artmasını sağlamaktadır. PKOS durumunda ise gonadotropin anormalliklerinin sebebinin hipofiz üzerine ikinci bir östrojenin etkisi veya daha fazla androjenik etkinin olması düşünölmektedir (89).

PKOS'da nöroendokrin bozukluklar gonadotropinlerin sekresyonunun değişmesiyle başlamakta ve bu durum anormal foliköl gelişimine neden olmaktadır. PKOS'na sahip kadınların LH seviyeleri, FSH seviyeleriyle karşılaştırıldığında orantısız bir şekilde artmış ve bu kadınların %94'ünde yükselmiş LH/FSH oranına bağlı olarak düzensiz döngüler görölmeye başlamıştır (96).

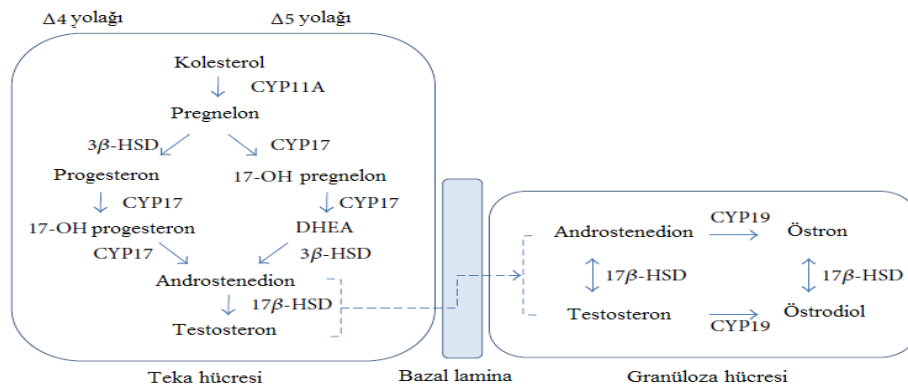
Hipofiz bezinin, GnRH'ya abartılı yanıtları LH seviyesinin yükselmesine neden olmaktadır. LH'nin sürekli yüksek seviyelerde olması ovulasyonun olmamasına ve dolayısıyla korpus luteumun oluşmamasına yol açmaktadır. Bu durumda ise progesteron seviyeleri düşük olacaktır (97). Dahası GnRH pulsunun sıklığı menopozdaki puls

sıklığına benzer bir şekilde ortalama her 50-60 dakikada 1 olacak şekilde artmıştır (98). PKOS'da LH/GnRH pulsundaki artma LH lehine ilerleyerek hiperandrojenemiye ve bozulmuş foliküler olgunlaşmaya sebep olmaktadır. 1991'de yapılan bir çalışmada, PKOS ile beraber anovulasyon özellik gösteren kadınlara, dışardan progesteron verilerek GnRH'nın puls sıklığının azaldığını ve FSH seviyesinin artarak foliküler gelişimi sağladığını belirtmektedir (99).

### 2. 7. 3. Hiperandrojenemi ve Intraovarian Faktörler

Androjenler PKOS patofizyolojisinde merkezi rol oynamaktadır. Hiperandrojenemi, androjen biyosentezi ve metabolizmasında bozukluk olan erkeklerde ve PKOS'lu kadınlarda görülmektedir (100-102). Saç kaybı ve hirsütizm gibi rahatsızlıklara neden olan androjen fazlalığında, androjenlerin serumdaki konsantrasyonu ve androjen reseptör sayısı önem taşımaktadır (103, 104).

Üreme çağındaki kadınlarda, kanda bulunan östrojen ve androjenlerin en önemli kaynağı ovaryumlardır. Androjenler periferik doku ve hedef organlarda biyoaktif androjenlere ve östrojenlere transforme olmaktadır. Doğurgan bir kadında plazma testosteron seviyesinin %50'si ovaryum kaynaklıdır ve bunun %25'i overlerden direkt sekrete edilirken, kalan %25'i androstenoidin öncüsünün periferde transforme edilmesiyle oluşmaktadır. Adrenal korteks, DHEA, DHEAS ve androstenoidin öncülerinin periferik dönüşümü ile diğer %50'lik kısma katkı sağlamaktadır (105). PKOS'da artan androjenlerin ana kaynağı ovaryumlar olmasına rağmen, adrenal androjenlerin artması da bu sendromun genel özelliğidir (106). Kadınlarda erkek tipi kılardan sorumlu olan androjenlerden en çok üretileni androstenedion hormonudur, bu hormon daha sonra testosteron hormonuna dönüşmektedir (Şekil 2. 10.) (107).



Şekil 2. 10. Ovaryumda steroidlerin sentezinin şematik gösterimi (90).

PKOS'lu kadınlarda adrenokortikal steroidlerin öncü steroidleri olan pregnenolon, 17-hidroksipregnenolon, DHEA, androstenedion, 11-deoksikortizol ve kortizol seviyeleri artış göstermektedir (108).

Genç kadınlarda günlük testosteron üretimi 300 mg kadarken testislerde üretilen testosteron miktarı günlük 5000-7000 mg kadardır. Testosteron androjen reseptörlerine (AR) bağlanarak etkisini göstermektedir. Hedef dokuda ise 5 alfa redüktaz enzim aktivitesine bağlı dihidrotestosteron (DHT) öncüsü olarak görev almaktadır. DHT, androjen reseptörlerine yüksek affinite göstermektedir. Testosteron ve androstenedion aromataz enzim aktivitesi nedeniyle östradiol ve östron için prekürsör görevi görmektedir (105). Dolaşımdaki serbest testosteron ve östrodiolün büyük bir kısmı albumin (birçok hormon ve vitamin bağlanır) ve beta globuline, SHBG, (DHEA, DHEAS androstenedion, östron veya progesteron gibi diğer steroidleri bağlar) bağlanarak taşınmaktadırlar. Testosteronun SHBG'ye affinitesi albumine göre 20 kat daha fazladır (105).

Ancak PKOS durumunda karaciğerde SHBG üretimi azaldığından dolayı dolaşımdaki serbest testosteron miktarı artmıştır (81).

Ayrıca, 1990 yıllarında izole edilmiş PKOS'lu teka hücre kültürlerinde bu hücrelerin aşırı miktarda androstenoidin, progesteron, 17 $\alpha$ -hidroksiprogesteron ve dehidroepiandrosteron ürettiği belirlenmiştir (24, 25).

Bu bulgular PKOS'da intriksik kusur olduğu görüşüne yol açıp steroid sentez yolunda PKO genlerinin araştırılmasını sağlamıştır. Steroid sentez yolunda birçok genin rol oynadığı bulunmuş ancak PKOS'da bu yollardaki kesin genetik mekanizma hâlâ aydınlatılamamıştır (109).

Yapılan çalışmalarda CYP11A, CYP17 ve 3 $\beta$ -HSD ekspresyonu PKOS'lu kadınların teka hücrelerinde artış göstermektedir (110, 111). Ayrıca CYP21 geni ile kodlanan konjenital adrenal hiperplaziden sorumlu olan sitokrom P450 21-hidroksilaz mutasyonlarının sıklığı PKOS'lu kadınlarda artış göstermektedir (89, 112).

Kalıtsal olarak PKOS'da ovarian teka hücrelerinin aşırı androjen üretiminin yanı sıra, bu sendroma sahip kadınlarda teka hücrelerinin artan LH miktarına karşı aşırı duyarlı olduğu belirlenmiştir (25). Steroidal androjenezin artması sonucu PKOS'lu kadınlarda teka interna tabakasında kalınlaşmalar görülmektedir (113).

PKOS'lu kadınların erken folikül gelişimi normalden dominant folikül seçimindeki anormalliklerden dolayı anovulasyon görülmektedir (114). Bu anormal durum, erken foliküler faz boyunca olması gereken FSH'nın normal seviyesinden az

olmasından kaynaklanmaktadır (115). PKOS kadınlarında FSH'nın düşük olma sebebi bilinmemektedir. Normalde kadınlarda ovaryumdan salınan E2 (östradiol) ve inhibin, FSH sekresyonunu inhibe etmektedir. PKOS'da E2 konsantrasyonu orta foliküler fazdaki konsantrasyonuna yakinken, inhibin B seviyeleri yüksek bulunmuştur. İnhibin-B'nin dolaşımdaki düzeyinin yükselerek FSH düzeylerini baskıladığını düşünülmektedir (116).

PKOS'lu kadınların ovaryumlarında hem granüloza hem de teka hücrelerinin fonksiyonlarının bozulduğu görülmektedir. Dominant folikülün seçiminin başarız olması sonucu anovulasyon ve oligoovulasyon veya amenore durumu PKOS kadınlarında sık görülmektedir (100).

Ovaryan teka hücrelerinden androjen substrat üretimi, yüksek LH'nun kontrolündedir. LH'na göre daha düşük oranda olan FSH, foliküler granüloza hücreleri tarafından üretilen androjenik substratların aromatzasyonun bozulmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda intra-ovaryan androjenlerde artış meydana gelmekte ve ovarian folikülün gelişiminin bozulduğu ve ovulasyonun olmadığı bir ortam oluşmaktadır (117).

Ovarian androjen artışında birçok intraovarian parakrin faktör rol oynamaktadır. Bunlardan biri de AMH'dur. AMH, folikülün granüloza hücreleri tarafından üretilen peptit yapılı bir hormondur (118). Son on yıldan bu yana AMH küçük antral foliküllerin sayılarını belirlemede kullanılmaktadır (119). AMH, folikül oluşumunu inhibe edici özelliğe sahiptir ve FSH aktivitesini inhibe ederek veya aromataz aktivitesini bloklayarak indirekt olarak androjen üretimine neden olmaktadır. Böylece serumdaki AMH konsantrasyonu antral folikül sayısı ve menstrüel bozukluklar ile orantılı bulunmaktadır (120). PKOS'lu kadınlarda AMH seviyesi  $10 > \text{ng/ml}$  üzerindedir (121-125). Ancak bu durum tanı kriterleri arasında henüz yerini almamıştır. Konu ile ilgili daha fazla homojen bilgilere ihtiyaç bulunmaktadır (126).

PKOS kadınlarda androjen üretimini artıran diğer önemli durum ise hiperinsülineminin olmasıdır (127).

#### **2. 7. 4. İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi**

Pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin, vücuttaki insülin reseptörlerine bağlanarak hücrelerin glukoz alımını sağlamaktadır. İnsülin direnci geliştiğinde, hücreler glukoz alamayacağı için, pankreastan daha fazla insülin salgılanmakta ve

hiperinsülinemi durumu ortaya çıkmaktadır (128). İnsülin direnci, insülinin metabolik aktivitesine duyarlılığın azalması şeklinde tanımlanmaktadır (129). Glisemik düzenlemede insülinin etkisinin azalması karaciğer, iskelet kası ve adipoz doku gibi insüline duyarlı dokuları etkilemektedir. Hiperandrojenizm ve insülin direnci PKOS'lu kadınların en yaygın karakteristiklerindedir ve (79) PKOS gelişimi ile patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Ancak insülin direnci PKOS'un tanı kriterleri arasında yer almamaktadır (72, 130). Hiperandrojeninin mi insülin direncine sebep olduğu ya da hiperinsülineminin mi hiperandrojenimiye sebep olduğu tartışmalıdır (131).

PKOS ve insülin direnci arasındaki ilişkinin en erken raporlarından biri 1921 yılında Emile Achard ve Joseph Thiers tarafından sakallı diyabetli kadınlardan elde edilmiştir. 1976 yılında insülinin PKOS'da kritik bir rolü olduğu belirlenmeye başlamıştır. Daha sonraki çalışmalarda PKOS'lu kadınlarda açlık serum insülin konsantrasyonunun testosteron ve androstenedionla pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir. (132-134).

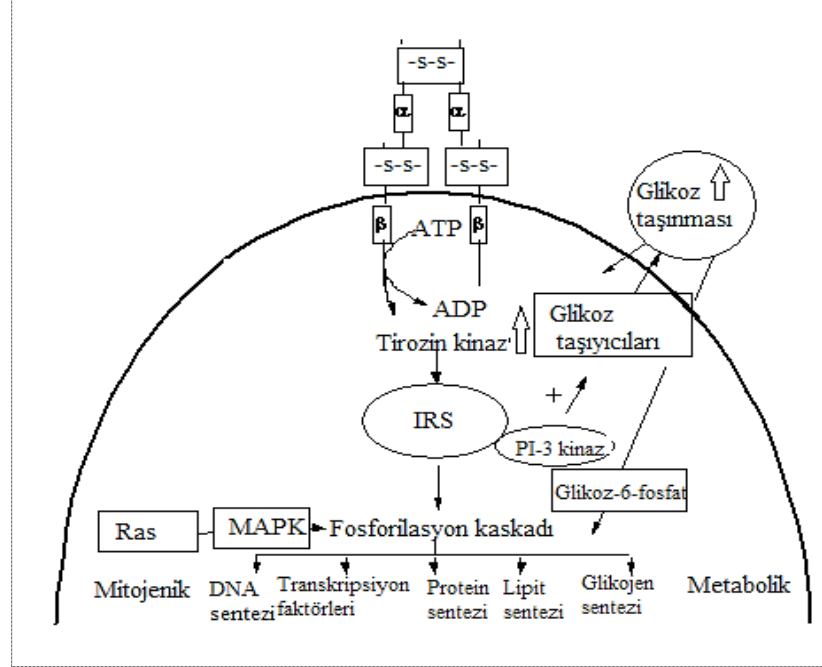
PKOS'da insülin direncinin yanı sıra, pankreatik beta hücrelerinin insülin sekresyonunda bozulma gibi durumlar da belirtilmektedir (135). Bazal şartlar altında insülin sekresyonunun artması ve yemeklerden sonra ise az salgılanması insülin yetersizliğine sebep olmaktadır. Tip II diyabetli hastalara benzer olan bu durum, PKOS'lu kadınlarda sıkça karşılaşılmakta olup, glukoz intoleransının gelişmesiyle Tip II diyabete birinci dereceden yakınlığı oluşturmaktadır. Kilo kaybı ile insülin direnci azalmış olsa da beta hücre hasarı düzelmemektedir (136).

İnsülin sekresyon bozuklukları, hiperandrojeneminin gelişmesine neden olmaktadır. İnsülinin, LH hormonuna teka hücrelerinin duyarlılığını artırarak androjen sekresyonunu artırma yönünde direk etkisi bulunurken, serum LH pulslarının amplitüdünü artırarak indirek olarak androjen sekresyonunu artırmaktadır (137). Bunun yanı sıra, karaciğerdeki SHBG proteinin ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayan proteinin (IGFBP) üretimini azaltarak teka hücrelerinin androjen üretimini artırmaktadır (138).

Ayrıca folikül hücresinin büyümesini tutuklayarak olgunlaşmamış folikül oluşumuna ve anovulasyona sebep olabilmektedir (139).

İnsülinin normal hücrelerdeki etki mekanizmasına bakacak olursak; insulin reseptörü, iki ekstraselüler alfa ünitesi ve iki transmembran beta alt üniteye sahip heterotetramerik bir proteindir. İnsülin reseptörünün alfa alt ünitesine bağlanan insülin, beta alt ünitesindeki tirozin kinaz aktivitesini uyarır ve böylece bir sinyal serisi

başlatılmış olur. İnsülinin hücredeki birçok işlevi iki ana mekanizma ile gerçekleşir. İlki insülinin metabolik etkisi ve enerjinin düzenlenmesidir. Diğer hücrenin çoğalması ve hayatta kalması ile ilgili mitojenik etkisidir (Şekil 2. 11.) (40).



Şekil 2. 11. İnsülinin etki mekanizması (140).

İnsülinin metabolik etkileri ile ilgili araştırmalarda, PKOS'da kas ve yağ dokuların her ikisinde insülin duyarlılığında kısmi azalmanın olduğu gösterilmektedir (141). Bu çalışmalarda PKOS'lu kadınlardan alınan fibroblast ve kas dokularında insülin reseptörünün beta alt ünitesindeki otofosforilasyon olayının bozulduğu belirlenmiştir (142). Ayrıca bu kadınların kas fibrillerinden alınan doku örneklerinde, insülin direncinin, insülin reseptör substratının (IRS) tirozin fosforilasyonu yerine serin fosforilasyonunun olmasıyla oluştuğu, bu durumun da insülin sinyal iletimini bozduğu görülmüştür (143).

Kas ve yağ dokusundaki hücre membranlarına glukoz taşıyıcısı olan GLUT-4'ün bağlanması insülin ile indüklenmektedir. Yapılan çalışmalarda PKOS'lu kadınlardan alınan yağ dokusu örneklerinde GLUT-4 ekspresyonunun azaldığı bunun sonucunda da hücre içi glukoz alımının bozulduğu ve tipik metabolik insülin direncinin oluştuğu belirtilmektedir (144).

İnsülin, hücre çoğalması ve farklılaşması gibi mitojenik etkilere de sahiptir. Mitojenik yol, farklı sinyal yollarından dolayı insülinin metabolik yolundan etkilenmemektedir (145).

İnsülinin, mitojenik aktivitesini düzenleyen MAPK (Mitogen-activated protein kinases) yolağı Ras/Raf/MEK/ERK sinyal iletim kaskadları ile bağlantılıdır (146). In vitro çalışmalarda PKOS da, Ras/Raf/MEK/ERK sinyal iletim yolağında aktivite azalmasının olduğu ve bunun sonucunda ovaryum teka hücrelerinde androjen üretiminin arttığı gösterilmektedir (147).

In vivo çalışmalarda ise PKOS'lu kadınlarda, insülin salınımının baskılanması ile ovaryan sitokrom P 450c 17 alfa aktivitesinin ve dolaşımdaki testosteron seviyelerinin azaldığı görülmüştür (148, 149).

İnsülin direncinin ölçümünde birçok test kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları; bazal insülin düzeyi testleri, hiperglisemik glukoz klemp tekniği, öglisemik glukoz klemp tekniği, intravenöz insülin tolerans testi, oral glukoz tolerans testi ve HOMA (Homeostatic Model Assesment) testleridir. Bu testlerden öglisemik glukoz klemp testi insülin duyarlılığının değerlendirilmesinde altın standart kabul edilmektedir ancak, uygulama zorluğu ve testin pahalı olmasından dolayı başka yöntemler kullanılmaktadır. İnsülin direncini ölçmede kullanılan en yaygın yöntemlerden biri homeostatik model insülin direnci (HOMA-IR) ölçüm yöntemidir (150).

HOMA-IR şu şekilde hesaplanmaktadır:

$$\text{HOMA-IR} = \text{açlık serum insülin değeri (mU/L)} \times \text{açlık glukoz (mmol/L)} / 22,5$$
 ya da (151)

$$\text{HOMA-IR} = \text{açlık serum insülin değeri (ng/mL)} \times \text{açlık glukoz (mg/dL)} / 405$$
 (152).

PKOS da insülin direnci hem metabolik hem de üreme problemlerine neden olduğundan PKOS popülasyonunda HOMA-IR yöntemi kullanılarak insülin direncinin derecesini ve sıklığını ölçmek klinik olarak önemli görülmektedir (129, 153).

Bu yöntemle göre yüksek HOMA-IR puanları ile insülin direncinin olması doğru orantılıdır. HOMA-IR skorunun, 2.5 veya 3.5'ten büyük olması (154) bazı çalışmalarda ise 2-2.5'tan büyük olması (155) insülin direnci varlığı ile ilişkilendirilmektedir.

## **2. 8. PKOS Tedavi Yöntemleri**

### **2. 8. 1. Kilo Kaybı**

PKOS'lu kadınlarda artan yağ dokusu, insülin direnci ve hiperandrojenizmi artırarak semptomların şiddetlenmesine sebep olmaktadır. Kişiyeye uygun diyet ve egzersiz yöntemleriyle, vücut ağırlığının %5 ila %10 azaltılması, ovulasyon olayını düzelterek menstrüyel döngülerin düzelmesini, akne ve hirsütizmin azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Ek olarak, yapılan çalışmalarda vücut ağırlığı kontrolünün, SHBG seviyelerini artırarak insülin direncinin azalmasına katkı sağladığı belirtilmektedir (156-158).

### **2. 8. 2. Anti Östrojenler**

Klomifen sitrat gibi anti östrojenik ilaçlar ovulasyon olayının olmadığı ya da az olduğu PKOS'lu kadınlarda, hipotalamus ve hipofizdeki östrojen reseptörlerini baskılayarak FSH salınmasını artırır. Böylece ovulasyon için yeterince rezerv varsa ovulasyon olayı indüklenecek ve gebe kalma şansı artırılmış olacaktır (55).

Yine bir anti östrojenik olan letrozol ise, aromataz inhibitörü olarak görev yapmaktadır. Androjenlerin östrojene dönüşümünü inhibe ederek FSH miktarının artmasını sağlamaktadır (159).

### **2. 8. 3. Anti Androjenler**

PKOS tedavisinde, genellikle ön hipofizden LH'yı baskılamak için anti androjenler, (siproteron asetat ve etinil östrodiyol kombinasyonu) verilmiş ve bu tedavinin, akne ve hirsütizmde etkili olduğu görülmüştür (130).

Ayrıca, testosteron ile dihidrotestosteron inhibisyonu yapan ilaçlar (Spironolakton), steroid olmayan anti androjen ilaçlar (Flutamid), testosteronu dihidrotestosterona dönüştüren 5 $\alpha$  redüktazı inhibe eden ilaçlar (Finasterid) kullanılmaktadır (130).

### **2. 8. 4. Laparoskopik Ovaryan Drilling (LOD)**

Klomifen sitrata dirençli olan normal kilodaki, yüksek LH seviyesine sahip olan kadınlara uygulanmaktadır. Ovulasyon olayının sağlanabilmesi için elektrokoter veya

lazer ile ovaryumun üzerinde 4-5 adet delik açılarak yapılmaktadır. Çoklu gebelik riski azdır (160).

### 2. 8. 5. İnsülin Duyarlılığını Artıran Ajanlar

PKOS'a yönelik tam bir tedavi şeklinin olmaması nedeniyle, artmış olan insülin direnci düşürülerek bu sendromun metabolizma ve üreme ile ilgili fonksiyon bozukluğunun giderilmesi çalışma konuları arasındadır (161).

Anti diyabetik ajanlar, hücrelerin insülin duyarlılığını artırarak ve insülin salınmasını azaltarak insülin direncinin azaltılmasına katkıda bulunmaktadır. PKOS da, ovulasyon sıklığını artıran, bilinen en iyi oral anti diyabetik ajan metformindir. Metformin, karaciğer ve diğer periferik dokularda glukoz alımını uyarmaktadır. Ayrıca glukoneogenez inhibe etmekte, hepatik glukoz çıkışını azaltmakta ve bağırsaklarda glukoz absorpsiyonunu artırmaktadır (162). İnsülin seviyesinin azalmasıyla dolaşımdaki total ve serbest androjen miktarı azalarak PKOS'daki hiperandrojenizm üzerine olumlu etkiler göstermektedir (30).

Son yıllarda PKOS'la beraber artan insülin direncini azaltmak için inkretin hormon analogları (GLP-1 agonistleri) araştırılmaya başlanmıştır (163).

Sentetik adı Exenatid (Exendin-4, Exe) olan bu ajan, ilk kez 1992 yılında Jong Eng tarafından *Glia monster* adlı sürüngenin tükürüğünden izole edilmiştir ve memeli inkretini olan GLP-1'e %53 benzerlik göstermektedir (Şekil 2. 12.) (164).



Şekil 2. 12. Exe, memeli GLP-1 ve Glia monster GLP-1'in amino asitlerinin dizilişi (165).

GLP-1, insülin salınımını uyaran, glukagon sekresyonunu baskılayan, mide boşalmasını inhibe eden, iştah ve yiyecek alımını azaltan bir inkretin (ince bağırsak) hormonudur (166). Hiperinsülinemi tedavisinde inkretin mimetikleri tercih edilmiş ve yaygın olarak GLP-1 reseptör agonistleri çalışılmıştır. Exe, GLP-1 reseptörlerine yüksek afinitede bağlanarak, endojen GLP-1 etkisi olan glukoz bağımlı insülin

sekresyonu, gastrik boşalmanın geciktirilmesi, glukagon baskılanması, iştah baskılanması ve  $\beta$ -hücre kitlesini artırıcı etkiler göstermektedir (167). Ayrıca in vivo ve in vitro çalışmaların her ikisinde, pankreasın beta hücre çoğalmasını teşvik ettiği, adacık neogenezini artırdığı ve periferik dokularda insülin duyarlılığının düzenlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (168).

Bu nedenle daha çok diyabetin tedavisinde kullanılan Exe, GLP-1 reseptörünü aktive ederek insülin duyarlılığını artırmakta, yiyecek tüketimini azaltmakta ve total kolestrerol ve trigliseritleri azaltarak kardiyovasküler riskin giderilmesini sağlamaktadır (15).

PKOS ile oluşan metabolik sendromlar üzerine Exe'in olumlu etkiler oluşturabileceği düşünülmektedir. Ancak, Exe'in ovaryum ve endometriyum üzerine koruyucu etkilerinin olduğu belirten çalışma sayısı çok az olup araştırılmaya ihtiyaç duyulmaktadır (16). Ayrıca Exe'in pankreasta beta hücre kitlesini kanserleşme yönünde artırdığına yönelik bilgiler konunun incelenmesini gerektirmektedir (167).

PKOS'un tedavisinde genellikle hedef, kişinin insülin direncini kırmak ve androjen seviyelerini düzenlemek ise de, bu tedaviler uygulanırken PKOS'lu kadınların stres durumları takip edilmemekte veya göz ardı edilmektedir. Hâlbuki PKOS tanılı kadınların, sağlıklı bireylere göre daha yüksek düzeyde depresyon puanına sahip olduğu, yaklaşık yarısında ruh ve düşünce bozuklukları ve algısal bozuklukların olduğu rapor edilmektedir (87). PKOS'la beraber gelişen menstrüel bozukluklar, fiziksel görüntüde değişiklikler (aşırı kılınma, obezite, akne) ve gebe kalma zorlukları gibi klinik özellikler nedeniyle duygusal stres de gelişebilir. Bu durum kişinin hayatın getirdiği stres durumlarına karşı toleransını azaltmaktadır (87).

Bu nedenle PKOS'lu kadınlara yönelik tedavi uygulanırken kadının strese maruz kalma durumu ayrıca değerlendirilmelidir. Stresin azaltılması ya da giderilmesi, PKOS tedavisinde olumlu sonuçlar almayı sağlayabilir.

## **2. 9. Stres**

Organizmanın homeostazisini bozan herhangi bir uyarı (169) olarak tanımlanan stres, enfeksiyon hastalıklardan, psikiyatrik bozukluklardan, cerrahi travmadan veya sosyo-ekonomik durumlardan dolayı oluşabilmektedir. Vücudun strese cevabı ise davranışsal, anatomik ve nörokimyasal değişim ile olabilmektedir (170, 171).

İlk kez 1930’larda tıp alanındaki stresle ilgili çalışmalara öncülük eden Hans Selye, stres kavramını “vücudun bunalıma uyum sağlamak için gösterdiği tepki” olarak tanımlamıştır (172). Modern toplumlarda, artan sosyal etkileşimlerin memnuniyetsizliğinden, çevresel koşulların bozulmasına kadar, fizyolojiyi etkileyen stres durumu artış göstermektedir (173).

### **2. 9. 1. Stres Çeşitleri**

Amerikan Psikolojik Derneğine göre akut stres, epizodik akut stres ve kronik stres olmak üzere üç tip stres çeşiti bulunmaktadır (174).

Stresin en yaygın biçimi olan akut stres, yakın geçmiş ve yakın gelecekteki beklenti ve baskılardan kaynaklanmaktadır. Küçük dozlarda heyecan verici olabilen akut stres, yüksek dozda yorucu olabilmektedir. Aşırı kısa süreli stres, kişide psikolojik sıkıntı, anksiyete, sinirlilik, baş ağrıları, gerginlik, mide ve sindirim sistemi rahatsızlıkları gibi rahatsızlıklara sebep olabilmektedir. Stres problemi ortadan kalkınca rahatsızlıklar sona ermektedir (174).

Epizodik kelime anlamı olarak “ara sıra meydana gelen” anlamındadır. Sık sık akut stres yaşayan kişiler epizodik akut stres yaşarlar. Epizodik akut stres yaşayan kişiler öfkeli, sinirli, endişeli tutum göstermektedirler. Hayatları sürekli kriz ve karışıklık halinde olduğundan saldırgan bir durum sergileyebilirler. Bu nedenle çalıştıkları yerlerde problem yaşama eğilimleri fazladır ve takım çalışmalarında başarısızlık sergilerler. Episodik akut stres yaşayan kişilerde, baş ağrıları, migren, yüksek tansiyon, çene ağrıları ve kalp hastalıkları görülebilmektedir. Kişiler rahatsızlık durumunun derecesine göre profesyonel yardım alabilmektedirler (174).

Akut stres heyecan verici ve uyarıcı olabilirken, kronik stres bu özelliklere sahip değildir. Vücudu günden güne yıpratıcı ve insanlara eziyet veren bir stres türüdür. Hem fiziksel hem de zihinsel sağlığı olumsuz anlamda etkileyen kronik stres, çöküş veya ölümle sonuçlanabilir. Temelinde yoksulluk, sorunlu aile yaşantısı, mutsuz evlilikler ve istenmeyen işler olabilmektedir. Kişi içinde bulunduğu durumdan hiç bir çıkış yolu olmadığını düşünür ve artık çözüm aramaktan vazgeçer. Kronik stres, intihar, şiddet, kalp krizi, felç hatta bazen kanser şeklinde ölüme sebebiyet vermektedir. Tedavisi oldukça güç ve zahmetli olabilmektedir (174).

Bireyler, hayatta kalabilmeleri için, akut strese uygun fizyolojik ve davranışsal cevaplar geliştirebilirler. Ancak kronik stres durumunda stresin etkisi tüm vücut

metabolizması üzerine olmaktadır. Stresin temel hormonal cevapları olan glukokortikoidler ve katekolaminler hem direk hem de dolaylı olarak özellikle glukoz ve üreme sistemi üzerine etki gösterirler (175). Vücutta insülin direnci ile beraber, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok metabolik rahatsızlıklara sebep olan kronik stres, aynı zamanda, kadınlarda cinsiyet gelişiminin yavaşlaması, ovulasyonun gecikmesi ve düşük olayları gibi üreme sistemini etkileyen durumlara da neden olabilmektedir (176-179).

### **2. 9. 2. Stresin Dişı Üreme Sistemi Üzerine Etkisi**

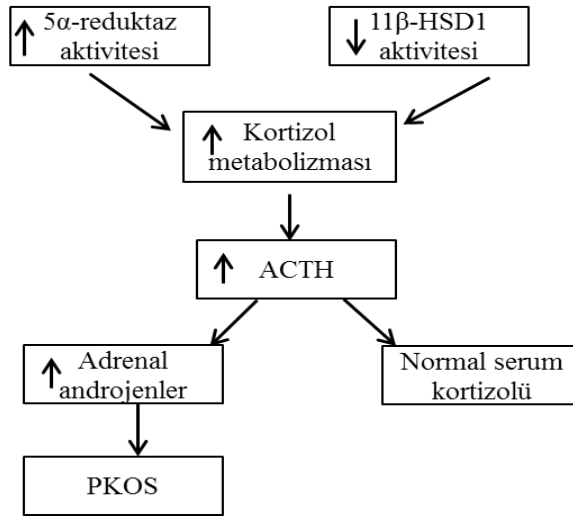
Stresle ve üreme sistemi bozuklukları arasında kuvvetli bir ilişki söz konusudur (180). Stresle beraber aktive olan HPA aksı dişı üreme sistemi üzerinde baskılayıcı etki göstermektedir (181). HPA aksı, değişen şartlar veya dişı çevreden gelen tehdit durumları belirli bir eşik değerini aştığında aktive olmaktadır (182). Bu aksın uyarılması sonucu, hipotalamusun paraventricüler nükleusunda bulunan nöroendokrin nöronlarından, arjinin-vazopressin (AVP) ve kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) sentezi ile sekresyonu yapılmaktadır. CRH ve AVP aktivitesiyle ön hipofizden adrenokortikotropin salgılatıcı hormon (ACTH) sekresyonu olmaktadır. ACTH ise adrenal kortekse etki ederek, kolesterolden, önemli bir glukokortikoid olan kortizolün üretimini uyarmaktadır. Glukokortikoidlerin üretimi yeterli miktara ulaştığında, hipofiz ve hipotalamusa negatif feedback ile etki ederek CRH ve ACTH sekresyonunu durdurmaktadır (183-185).

Stresle beraber artan CRH ve beta endorfin gibi CRH tarafından indüklenen proopiomelakortin peptitleri, hipotalamustan GnRH salınımını baskılamakta (186) bunun sonucunda ise LH sekresyonu, ovaryum östrojen ve progesteron biyosentezi ve östrojen aktiviteleri inhibe olmaktadır (177).

CRH ve reseptörlerinin ovaryumlar, uterus ve plasenta gibi dişı üreme organlarında bulunması oluşan stres durumunun üreme sistemi üzerindeki önemine dikkat çekmektedir. Vücuttaki bu dokularda CRH üretiminin artması, ovulasyonun olmamasından, korpus luteumun bozularak sekresyonunun azalmasına, düşük riskini artırarak infertiliteye sebep olmasına ve hiperkortikolizmden eklampsiye kadar birçok patolojik risk oluşturmaktadır (177).

Dahası PKOS'a sahip kadınlarda androjen üretiminin artması (60) kortizol metabolizmasını etkilemektedir (89).

Kortizol metabolizmasının temeli; karaciğerdeki 5 alfa redüktaz ( $5\alpha$ -R) ve 5 beta redüktazın ( $5\beta$ -R) geri dönüşümsüz inaktivasyonu ile karaciğer ve yağ dokuda bulunan 11 beta hidroksisteroid dehidrogenaz 1 ( $11\beta$ -HSD1) tarafından kortizolün geridönüşümlü olarak kortizona çevrilmesinden oluşmaktadır. Bu teoriye göre, artan periferel kortizol metabolizması,  $5\alpha$ -R'ı artırmakta (89) ve böylece kortizolün inaktivasyonunu başlatmaktadır veya  $11\beta$ -HSD1 aktivitesi bozulmaktadır. Bundan dolayı kortizolün oluşum mekanizması bozulacağından bu durumun normal serum kortizol seviyesine ulaşabilmesi için negatif feedback etkisiyle ACTH sekresyonu artmaya başlayacaktır. PKOS'lu kadınlarda kortizolün üriner metabolitlerinin atılmasının anormal olması bu hipotezi desteklemektedir (89, 106).



Şekil 2. 13. PKOS'da artmış periferel kortizol metabolizması (89).

PKOS'daki  $5\alpha$ -R ve  $11\beta$ HSD1 aktivitesindeki bu değişim henüz anlaşılmiş değildir. Bu durum PKOS'lu kadınların yarısından fazlasında aşırı kilo veya obezite görülmesine dayandırılrsa da yapılan çalışmalarda zayıf PKOS'lu kadınlarda da  $11\beta$ HSD1 aktivitesinin değiştiği görülmüştür (89).  $11\beta$ HSD1 aktivitesindeki azalmanın  $11\beta$ HSD1 inhibitörlerinin PKOS'lu kadınlarda artması ile ilişkilendirilmiştir. Diğer bir durumun ise PKOS'daki yüksek östrojen seviyeleri ile ilgili olduğu yönündedir. Özellikle östrojenin östron formunun, karaciğerde  $11\beta$ HSD1 aktivitesini azalttığı belirtilmektedir (Şekil 2. 13.) (188).

Ayrıca sempatik sinir lifleri, ovaryumlarda geniş çaplı dağılım göstermektedir. Bu nedenle sempatik liflerdeki uyarıların artması, ovaryan folikül gelişimini bozarak, kistik yapılar oluşturan anovulasyon döngü düzensizliklerine sebep olmaktadır. Sempatik sinir sisteminin kronik aktivasyonu ovaryum fonksiyonlarını etkilemektedir. Bu nedenle PKOS'lu kadınların tedavisinde stres kontrolünün yapılması önem teşkil etmektedir (189).

### **2. 9. 3. Stresin İnsülin Direnci Üzerine Etkisi**

Kortizol metabolizmasındaki bozulmaya ek olarak, sempatik aktivitenin artması ile yükselen kortizol; insülin direnci, hipertansiyon, dislipidemi, visseral obezite, ateroskleroz ve kardiyovasküler rahatsızlıklara yol açabilmektedir (190). Uzun süreli kortizol sekresyonu; insülin direncine, adipositlerde trigliseritlerin birikimine ve serbest yağ asitlerinin salınmasına neden olan lipoprotein lipaz aktivitesinin artmasına neden olmaktadır (191). Bunların sonucunda ise glukoz metabolizması bozulmakta ve insülin direnci oluşmaktadır. Artan kortizol ve insülin direnci büyüme hormonu ve cinsiyet hormonlarının seviyesini azaltmakta ve özellikle visseral bölgede yağ birikimine neden olmaktadır (192).

Kortizol, karaciğerde glukoneogenezi aktive ederek de kan glukoz düzeyini artırmaktadır. Glukoneogenez ile alanin, laktat ve gliserol gibi karbonhidrat olmayan moleküller glukozla çevrilmektedir. Ayrıca protein yıkımını artırarak başta alanin olmak üzere çeşitli substratların glukozla çevrilmesine ve hiperglisemiye katkıda bulunmaktadır (14).

Stres durumunda salgılanan epinefrin ve norepinefrin katekolaminleri, başta karaciğer ve iskelet kasında glukojenolize sebep olarak hiperglisemiye neden olmaktadır (193). Ayrıca epinefrin, insülin reseptörüne bağlanıp, reseptör aktivitesini azaltarak insülin direncini artırmaktadır (194). Stres cevabında katekolaminlerle beraber glukokortikoidlerin ve renin-anjiyotensin II'nin artması insülin duyarlılığını etkilemektedir. İnsülin duyarlılığının oluşması ya insülin reseptör ekspresyonundaki bir bozulmadan dolayı, ya da hücre içine glukoz alımındaki sinyal yolağında bir patolojiden kaynaklanmaktadır. İskelet kası, kalp kası ve adipoz dokudan bulunan glukoz taşıyıcılarından GLUT-4'ün yapısal bozukluğu da insülin direncine sebep olmaktadır (14).

Hiperandrojenizm ve hiperinsülineminin PKOS'lu kadınlarda geniş ölçüde bulunmasına ek olarak, kronik strese maruz kalma, PKOS'la beraber görülen komplikasyonların artmasına sebep olacaktır. Bu nedenle PKOS'lu kadınlara yönelik tam bir tedavi şeklinin olmaması ve kullanılan tedavi yöntemlerinin ise kronik stres dikkate alınmadan yapılması PKOS tedavisini olumsuz yönde etkileyecektir. Bugüne kadar yapılan PKOS'la ilgili çalışmalarda stres faktörü dikkate alınmamıştır. Tasarlanan bu çalışmada kronik orta şiddetteki stres faktörünün, PKOS'la beraber gelişen insülin direnci tedavisine, nasıl etki ettiği araştırılacaktır. Elde edilecek stres faktörü bulgularına göre PKOS tedavisi için kliniğe gelen hastalarda stres durumları da göz önüne alınarak tedavi yaklaşımı yeniden değerlendirilebilir.

## **2. 10. Deney Hayvanı Modelleri ve Sıçanlarda PKOS Oluşturulması**

PKOS'nun heterojen yapıda olması ve teşhisinde evrensel olarak fikir birliğinin olmaması nedeniyle, PKOS üzerine etkin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Etik ve lojistik kısıtlamalar, deneylerin insanlar üzerinde yapılmasını mümkün kılmamaktadır. Bu nedenle, PKOS'nun birçok veya tüm özelliklerini yansıtan uygun hayvan modelleri ile hem PKOS patofizyolojisi daha iyi anlaşılacak hem de daha uygun tedavi yöntemleri geliştirilebilecektir. Koyun ve insan olmayan primatlarda, prenatal dönemde androjene maruziyetle PKOS'un karakteristik özellikleri oluşturulmaktadır. Ancak bu modeller oldukça pahalı olmakta ve genetik manipulasyonların kullanımına uygun olmamaktadır. Kemirgen modelleri, PKOS gelişimiyle ilgili biyolojik mekanizmaları deşifre etmek için çok yönlü bir araç sağlamaktadır. Diğer hayvan türleri yerine sıçan ve fare kullanımı bu hayvanların, kolay tutulabilme-taşınabilme, üreme zamanlarının kısa olması ve dolayısıyla kısa zamanda yavru alabilme, östrus döngülerinin kısa olması ve genetik manipulasyonlara uygunluğu tercih edilme sebeplerindedir. Ayrıca, HPG aksı, ovaryan folikül gelişim süreçleri ve ovulasyon olayının düzenlenmesi insanlardaki paralellik göstermektedir. Ek olarak, PKOS oluşturulan kemirgenlerde, PKOS'lu insanlardaki hiperandrojenizm, yüksek LH, menstrüel döngü bozuklukları, foliküler kistik yapıların olması ve değişen insülin duyarlılığı gibi rahatsızlıklar görülmektedir (195-197).

Kemirgenler ve insanların PKOS'un üreme ve endokrin özelliklerinin paralellik göstermesi nedeniyle bu çalışmada Sprague Dawley sıçan türü tercih edilmiştir.

PKOS oluşturabilmek için kullanılan hormonal metotlar arasında;

- Androjenler; androstenedion (A4), testosteron (T), dihidrotestosteron (DHT), dehidroepiandrosteron (DHEA)
- Östrojenler; östrodiol benzoat (EB), östrodiol (E2), E2 valerat
- Aromataz inhibitörleri; letrozol
- Antiprogesterinler; RU486 bulunmaktadır.

Bu çalışmada uygulama kolaylığı ve finansal uygunluğun yanı sıra, insanlardaki PKOS'a benzer olarak düzensiz döngüler, bozulmuş ovulasyon, çoklu kistik yapılar, (195) ve insülin direnci göstermesi (163) açısından DHEA tercih edilmiştir. DHEA, postnatal 22-23 günlük sıçanlara 6 mg/ 100g olacak şekilde 6 haftaya kadar verilebilmektedir (195).

## 2. 11. Sıçanlarda Kronik Orta Düzeyli Stres Modeli

Stres tipinin uygulanması gerçek hayatta maruz kalınan stres uyarana bağlı olarak değişmektedir. İnsanların yaşam sürelerince maruz kaldıkları stres durumları hafif düzeyli streslerden travmatik streslere değişim göstermektedir. Strese cevapları bakımından insanlardaki organ ve sistemlere fizyolojik olarak oldukça benzedikleri için, kemirgenler araştırma modellerinde en iyi seçenek olmaktadır. Uzun süreli mesleki stresin etkilerini test etmek için kullanılacak en iyi model orta şiddette stres oluşturmaktır. Kronik orta düzeyli stres için hareket alanı kısıtlandırılmış stres modeli kullanılmaktadır (Şekil 2. 14.).



Şekil 2. 14. Hareket alanı sınırlandırılmış stres kafesi (182).

Bu stres modelinde kullanılan sıçanların su ve yem almaları engellenmiştir. Bu özellikteki kafesler 6 cm genişliğinde, 7 cm yüksekliğinde ve 18 cm uzunluğunda, her sıçana bir bölme olacak şekilde tasarlanmıştır. Birbirlerini görebilecek şekilde hazırlanan bu kafeslerde sıçanlar, hergün 30 dk.'dan 2 saate kadar tutulabilmektedir. Sıçanların tüyleri ile oynamaları stres belirtisi olarak kabul edilmektedir (182). Ayrıca stres boyunca insanlarda salınan kortizol yerine kortikosteron salınımı olmaktadır (198). Kortikosteron seviyesi, kortikosteroid bağlayan globulin (CBG) ile sıçan serumunda, kan plazmasında ve diğer ilişkili sıvılarda bakılabilmektedir.

Bu çalışmada da DHEA kullanılarak obez olmayan sıçanlarda PKOS modeli oluşturulmuştur. PKOS modeli başarılı bir şekilde oluşturulduktan sonra, insülin direnci olan sıçanlarda Exe'in etkileri PKOS'lu veya PKOS'la birlikte strese maruz kalan sıçanlarda araştırılmıştır. Literatürde PKOS'a bağlı olarak gelişen hiperinsülinemi için Exe uygulamaları ile ilgili çalışmalar çok azdır ve genellikle Exe uygulamaları daha çok obezite ve diyabet üzerinedir. Obez olmayan PKOS'lu kadınlarda insülin direnci görülmektedir ve bu kişilerde Exe'in etkilerini sorgulayan bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan çalışma, bu eksikliğe ışık tutma potansiyeli taşımaktadır. Bugüne kadar yapılan PKOS'la ilgili çalışmalarda stres faktörü dikkate alınmamıştır. Bu eksikliği gidermek ve stresin PKOS üzerine etkilerini sorgulamak için; PKOS'lu sıçanlarda kronik orta düzeyde stres oluşturularak, Exe'in olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Böylece insülin direnci için PKOS'lu kadınlara verilen ilaçların stres durumunda nasıl etki göstereceği araştırılıp, stresin bu tedaviler üzerinde olumsuz etki göstermesi durumunda PKOS'lu kadınların öncelikle stresten uzaklaştırılması sağlanıp, daha sonra tedaviye başlanma vurgusu yapılacaktır. Böylelikle gereksiz ilaç kullanımı ve zaman kaybının önlenmesi umulmaktadır.

## **3. MATERYAL VE METOT**

### **3. 1. Araştırmanın Türü**

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen 2015/88' nolu doktora tez projesidir.

### **3. 2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Zaman**

Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan onay ile (16.01.2015 tarih, 2015/A-07 protokol numaralı), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında 30.10.2015-25.02.2016 tarihleri arasında yapıldı.

### **3. 3. Gruplardaki Sıçan Sayılarının Belirlenmesi**

$\alpha$  (Tip I hata) değeri=0.05, İstatistiksel güç  $(1 - \beta)$ =0.80, Grup sayısı=7, Belirlenmek istenen etki değeri=1.5 $\sigma$ -2 $\sigma$ . Bu değerler dikkate alınarak, her gruptaki denek sayıları 10 adet olarak belirlendi. Deneysel uygulamalar sırasında farklı gruplardan ölen 3 sıçan, belirlenen istatistiksel gücü etkilemediğinden çalışmaya devam edildi.

### **3. 4. Deney Hayvanlarının Temini**

İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden, doğum tarihleri bilinen, 21 günlük dişi Sprague Dawley cinsi 70 adet sıçan temin edildi. Yavru sıçanlar tartılıp, ağırlıkları kaydedildikten sonra, her bir kafeste 5 tane olacak şekilde rastgele ayrıldı. Her sıçan kuyruğundan boyanarak numaralandırıldı. Sıçanlar deney boyunca sabit oda (22°C±2) sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ve havalandırılmalı ortamda tutuldu. Bütün sıçanlar standart pelet sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Kafeslerin temizliği haftada bir defa olmak üzere yapıldı.

Deney grupları, stres çalışmasından önce 3 grup, stres çalışması sırasında 7 grup olarak belirlendi. Haftada bir defa tartılan sıçanların ağırlıkları kaydedildi.

### 3. 5. Stres Çalışmasından Önce Deney Grupları

#### Stres Çalışmasından Önce Gruplar:

1. Grup: Kontrol n=10
2. Grup: PKOS n=39
3. Grup: Çözücü n=18

Kontrol grubuna çalışma boyunca herhangi bir kimyasal işlem uygulanmadı.

PKOS grubuna, DHEA (Acros 154980100) 6 mg/100 g vücut ağırlığı/0.2 ml susam yağı olacak şekilde vajinal açıklık oluşuncaya kadar her gün subkutan (sc) olarak verilerek PKOS modeli oluşturuldu (199).

Çözücü grubuna, 0.2 ml susam yağı vajinal açıklık oluşuncaya kadar her gün sc olarak verildi.

#### **3. 5. 1. Kan alma**

Vajinal açıklık oluştuktan sonra, vajinal sürüntü yapılarak östrus döngü takibi yapıldı. Diöstrus döngüsüne giren sıçanların, bir gece öncesinde yemleri toplanıp, aç bırakılarak, LH, FSH, açlık kan glukoz düzeyi ve açlık serum insülin değerlerinin tespiti için, kuyruklarından kan örneği alındı. Kan örneği alınırken, sıçanlar hafif eter anestezi altında tutuldu. Kuyrukların önce birkaç kez ılık su ile sonra etil alkol ile silinerek, kuyruk veninin görünmesi sağlandı. 1cc'lik insülin enjektörü kullanılarak kuyruk venlerinden 1 ml kadar kan örnekleri alındı. Bu işlemden sonra sıçanlar kendi kafeslerine konuldu.

On Call Plus kan glukometresi yardımıyla, açlık kan glukozları mg/dl biriminde ölçülüp, kaydedildi. Geri kalan kan örneklerinin serum ve kan hücreleri 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek ayrıldı. Serum örnekleri ependorf tüplere alınarak, insülin, LH ve FSH analizleri için -20°C'de muhafaza edildi.

#### **3. 5. 2. Serumda İnsülin Değerlerinin Ölçümü**

Sıçanların açlık serum insülin değerinin belirlenmesi için rat insülin ELISA kiti (Kat. No: YHB0584Ra, Yehuda Biotechnology, Çin) kullanıldı ve kitle beraber gelen kit protokolü uygulandı. Bu kit, sıçanlarda insülin düzeyini belirlemek için, biotin çiftli antikor sandviç teknolojisini temel alan ELISA yöntemini kullanmaktadır. 450 nm

dalgaboyunda ölçülen sonuçların birimi mIU/L olarak belirlendi, açlık kan glukozları ve açlık serum insülin değerleri ile HOMA-IR değerleri hesaplandı.

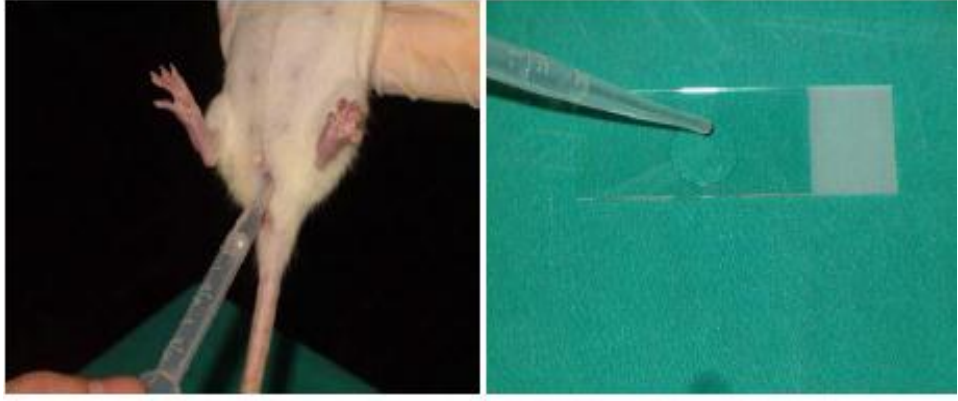
HOMA-IR = Açlık Serum İnsülin Değeri (mU/L) x Açlık Glukozu (mmol/L)/ 22,5

### **3. 5. 3. Serumda LH ve FSH Hormon Seviyelerinin Ölçümü**

Serum LH ve FSH seviyelerinin ölçümü için sıçan LH ve FSH'sına uygun olarak kaplanmış 96 mikrokuyucuklu plak (Nunc Roskilde, Danimarka) kullanıldı. Serum örnekleri ve standartlar antikora bağlanması için inkübe edildi. Daha sonra antijenlerle solid fazda yarışmalı bağlanma için kaplı plaklara aktarıldı. Plaklar yıkandı ve streptavidin peroksidaz ile konjuge olan ikincil antikorlar her bir kuyucuğa eklendi. Substratlara tetrametilbenzidin eklenerek renk değişimi gözlemlendi. Plaklar 450 nm dalga boyunda plak okuyucu (Biotek Synergy HT, Winooski, VT, USA) ile okundu. Sıçan LH ve FSH primer antikorları (tavşan anti-rat LH ve tavşan anti-rat FSH) Dr. A. Parlow (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases National Hormone and Peptide Program, National Institutes of Health, USA)'dan elde edildi. Streptavidin peroksidaz ile konjuge olan ikincil antikorlar ise (keçi anti tavşan IgG) Sigma-Aldrich'ten satın alındı. Analizler LH için 1 ng/ml, FSH için 2 ng/ml duyarlılığında yapıldı.

### **3. 5. 4. Vajinal Sürüntü Yöntemi**

PKOS modelinin kontrolü için, vajinal açıklık oluşan sıçanlardan her gün aynı saatte 10 günlük vajinal sürüntü alındı. Bütün sıçanların vajinal açıklık zamanı 60. gün olarak sabitlendi. Pastör pipetine yaklaşık 0.5 ml serum fizyolojik çekildi. Sürüntü yapılacak sıçan, karnı yukarı bakacak şekilde yardımcı kişi tarafından sıkıca tutuldu. Pipet ucu yaklaşık 0.5-1 cm kadar vajinaya yerleştirilerek serum fizyolojik içeri verildi. Pipet ucunu dışarı çıkarmadan vajinaya püskürtülen sıvı tekrar pipetin içine çekildi ve daha önceden hazırlanmış olan temiz lamın üzerine alındı. Boyamaya gerek olmadan, ışık mikroskopunda incelenerek östrus fazları kaydedildi.



Şekil 3. 1. Vajinal sürüntü yönteminin uygulanması.

### 3. 6. Stres Çalışması Sırasında Deney Grupları

#### Stres Çalışması Sırasında Gruplar:

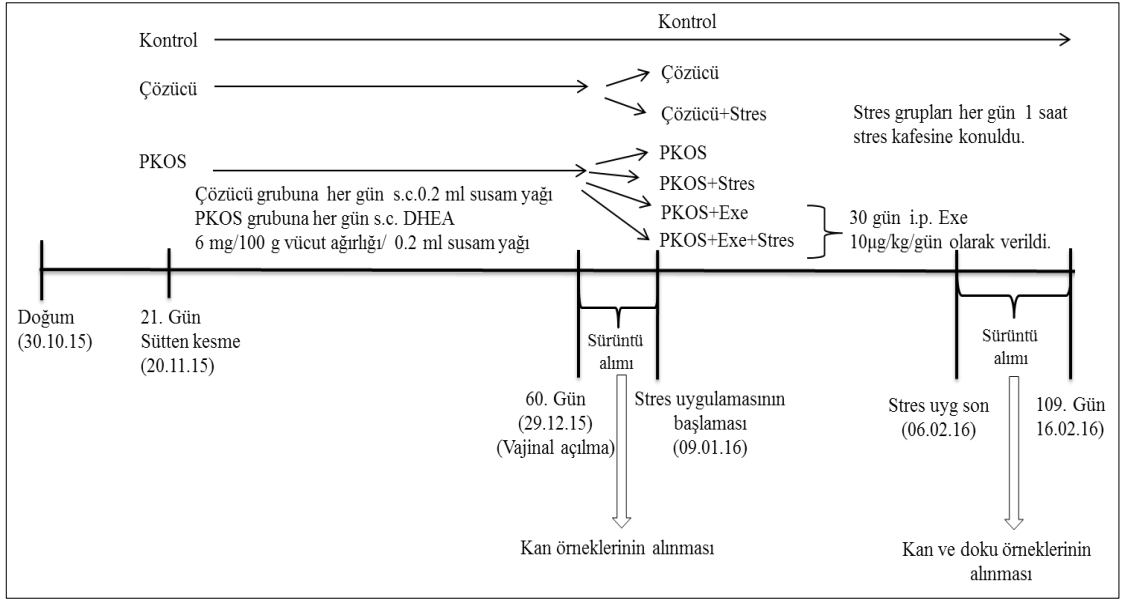
- |                         |      |
|-------------------------|------|
| 1. Grup: Kontrol        | n=10 |
| 2. Grup: Çözücü         | n=8  |
| 3. Grup: Çözücü+Stres   | n=10 |
| 4. Grup: PKOS           | n=10 |
| 5. Grup: PKOS+Stres     | n=10 |
| 6. Grup: PKOS+Exe       | n=9  |
| 7. Grup: PKOS+Exe+Stres | n=10 |

Çalışmanın bu kısmında Kontrol, Çözücü ve PKOS gruplarına herhangi bir kimyasal işlem uygulanmayıp, deney süresince normal sıçan yemi ile beslendi.

Çözücü+Stres ve PKOS+Stres gruplarına 30 gün boyunca kronik orta düzeyli stres uygulandı.

PKOS+Exe grubuna, 30 gün boyunca 10 µg/kg/gün Exenatid (Byetta) intraperitoneal (i.p.) olacak şekilde verildi (16).

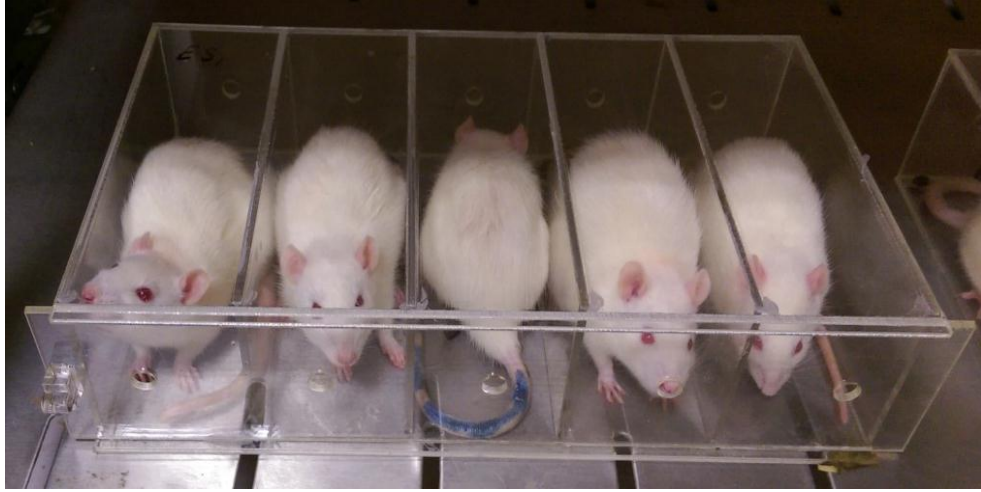
PKOS+Exe+Stres grubuna, 30 gün boyunca 10 µg/kg/gün Exenatid (Byetta) i.p. olacak şekilde verildi ve 30 gün boyunca kronik orta düzeyli stres uygulandı.



**Şekil 3. 2.** Deney grupları ve deney süresinin özeti.

### 3. 6. 1. Kronik Orta Düzeyli Stres Yöntemi

Çalışmada kronik orta düzeyli psikolojik stres oluşturmak için, her biri 6 cm genişliğinde, 7 cm yüksekliğinde ve 18 cm uzunluğunda olan, 5 adet bölmeden oluşan, hareket alanı sınırlandırılmış kafesler kullanıldı. Kafeslerde sıçanların nefes alabilmeleri için arka ve önde birer tane olmak üzere 1 cm genişliğinde yuvarlak delikler açıldı. Sıçanların 30 gün boyunca, 23°C’de, bölmelere su ve yem verilmeden her gün aynı saatte, 1 saat bekletilerek strese girmeleri sağlandı. Sıçanların tüyleri ile oynamaları, işeme, defekasyon ve sık soluk alma stres belirtisi olarak kabul edildi (182, 200). 1 saatlik süre sonunda sıçanlar kendi kafeslerine konuldu ve stres kafesleri su ile yıkayıp kurutularak ertesi güne hazır hale getirildi.



**Şekil 3. 3.** Sıçanların hareket alanı sınırlandırılmış kafeste tutulması.

### **3. 6. 2. Deneyin Sonlandırılması**

30 günlük Exe uygulamasından sonra 10 gün boyunca bütün gruplardaki sıçanlardan vajinal sürüntü alınarak, sıçanların östrus döngüleri takip edildi. Döngü takipleri biten sıçanlar, bir gece öncesinde yemleri toplanıp, aç bırakılarak 30 gün sonundaki açlık kan glukoz değerlerinin ölçümü için, kuyruklarından kan örneği alındı. On Call Plus kan glukometresi yardımıyla, açlık kan glukozu ölçülerek mg/dl olarak kaydedildi. Sıçanları anestezi altına almak için, 90 mg/kg i.p./10mg/kg i.p. olacak şekilde ksilazin/ketamin uygulandı. Sonrasında sıçanların kalplerinden enjektör yardımıyla yaklaşık 5 ml kadar kan alınıp, sarı kapaklı ayırıcı jel içeren tüplere aktarıldı. Kan örneklerinin serum ve kan hücreleri 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek ayrıldı. Serum örnekleri ependorf tüplere alınarak, insülin, LH, FSH ve kortikosteron analizleri için -20°C'de muhafaza edildi.

Ayrıca histolojik incelemeler için pankreas ve ovaryum doku örnekleri, doku hacminin en az on katı olacak şekilde, %10'luk formaldehit içeren şişelere alındı.

### **3. 6. 3. Serumda Kortikosteron Değerlerinin Ölçümü**

Sıçanların serum kortikosteron değerinin belirlenmesi için rat Kortikosteron ELISA kit (Kat. No:201111300, Sunredbio, Çin) kullanıldı ve kitle beraber gelen kit protokolü uygulandı. Bu kit, sıçanlarda serum kortikosteroid düzeyini belirlemek için, çiftli antikor enzime bağlı immünosorban yöntem sandviç teknolojisini temel alan

ELISA, yöntemini kullanmaktadır. 450 nm dalgaboyunda ölçülen sonuçların birimi ng/ml olarak belirlendi.

### **3. 7. Histolojik İncelemeler**

Deney sonunda alınan ovaryum ve pankreas dokuları %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Tespit sonunda çeşme suyunda yıkanan dokular, dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Ovaryumdan elde edilen parafin bloklardan 100-120 µm aralıklarla 4 adet kesit alındı. Deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilen kesitlere hematoksilin-eozin (H-E) boyama metodu uygulandı. Boyanan preparatlar Leica DFC-280 araştırma mikroskopu ile Leica Q Win Image Analiz Sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd.,Cambridge, UK) kullanılarak incelendi.

Ovariyal histolojik değerlendirmede, folikül tipleri ve korpus luteum sayıldı. Buna göre; tek katlı yassı granüloza hücrelerinden oluşan folikül primordiyal folikül, tek katlı veya çok katlı kübik granüloza hücrelerinden oluşan folikül ise primer folikül olarak değerlendirildi. Antral boşluğun gözlemlendiği foliküller sekonder follikül, follikül sıvısı ile dolu tek bir boşluğun bulunduğu ve kumulus ooforusun olduğu folikül Graff follikülü olarak tanımlandı. Oositin bulunmadığı, zona pellusida ve granüloza hücrelerinin dejenere olduğu foliküller atretik folikül olarak değerlendirildi. İncelmiş granüloza hücre katmanı ve kalınlaşmış teka interna hücre tabakası ile içi sıvı dolu büyük yapılar ise kistik folikül olarak değerlendirildi.

Pankreas kesitlerinde ise Langerhans adacıkları; sinüzoidal dilatasyon, hücre dejenerasyonu (intrasellüler vakuolizasyon ve piknotik nükleus) yönünden değerlendirildi. Histolojik değişiklikler; yok (0), hafif (1), orta (2), şiddetli (3) olarak skorlandı.

### **3. 8. Verilerin İstatistiksel Analizi**

Araştırmanın verileri, IBM SPSS Statistics 21.0 Windows paket programı ile analiz edildi. Verilerin normal dağılım varsayımı, Shapiro Wilk testi ile kontrol edildi. Buna göre tüm verilerin normal dağılım gösterdiği belirlendi. Varyansların homojen olup olmadığını belirlemek için Levene Testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için Tek Yönlü Anova Testi uygulandı. İkili karşılaştırmalar için varyansların homojen olduğu durumlarda Bonferroni düzeltmesi yapılırken, varyansların homojen olmadığı durumlarda ise Games-Howell testi yapıldı.

Ovaryum ve pankreas dokularına ait histolojik bulguların istatistiksel analizi, SPSS istatistiksel yazılım programı (SPSS for Windows version 17) ile yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bütün veriler ortalama±standart sapma ( $\bar{X}\pm s.d.$ ) olarak ifade edildi.  $p<0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Sıçanların, stres uygulaması öncesi elde edilen bulguları ile stres uygulaması sonrası elde edilen bulguları aşağıda sunulmuştur.

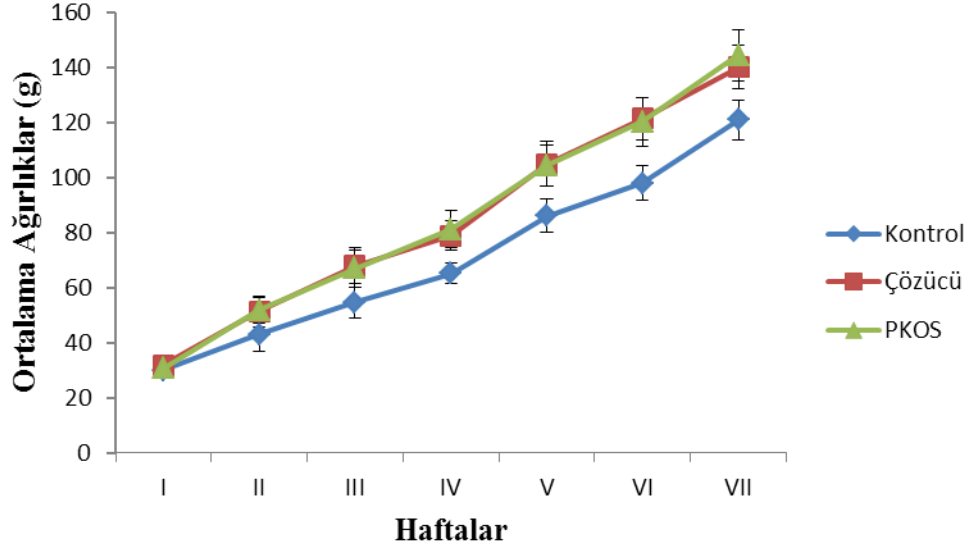
### 4. 1. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların Ortalama Ağırlık Değerleri

Kontrol, Çözücü ve PKOS gruplarının stres uygulaması öncesi, haftalara göre ortalama ağırlık ölçümlerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4. 1. ve Şekil 4. 1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4. 1.** Stres uygulaması öncesi sıçanların haftalık ortalama ağırlıklarına (g) ilişkin analiz sonuçları.

Gruplar	Haftalar ( $\bar{X}\pm s.d.$ )						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol (n=10)	30.0±2.1 <sup>a</sup>	43.1±6.4 <sup>a</sup>	54.7±5.5 <sup>a</sup>	65.2±3.7 <sup>a</sup>	86.2±5.9 <sup>a</sup>	98.1±6.4 <sup>a</sup>	121.1±7.2 <sup>a</sup>
Çözücü (n=18)	31.8±3.1 <sup>a</sup>	51.5±5.6 <sup>b</sup>	68.1±6.44 <sup>b</sup>	79.0±5.4 <sup>b</sup>	105.0±8.0 <sup>b</sup>	121.4±7.8 <sup>b</sup>	140.2±7.9 <sup>b</sup>
PKOS (n=39)	30.7±2.8 <sup>a</sup>	51.8±4.7 <sup>b</sup>	66.7±6.7 <sup>b</sup>	81.3±6.7 <sup>b</sup>	104.4±7.6 <sup>b</sup>	120.3±8.9 <sup>b</sup>	144.5±9.4 <sup>b</sup>
<i>p</i>	0.205	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p<0.001$ ).



**Şekil 4. 1.** Stres uygulaması öncesi haftalara göre ortalama ağırlıklardaki değişimler.

Tablo 4. 1. ve Şekil 4. 1.'de görüldüğü gibi stres uygulaması öncesi ağırlık değerlerinin istatistiksel analizinde, ilk hafta gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmamıştır. Ancak 2. haftadan itibaren DHEA verilen PKOS grubu ve sadece susam yağı verilen Çözücü gruplarının ağırlık kazanımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir.

#### 4. 2. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların LH ve FSH Değerleri

Stres uygulaması öncesi sıçanların LH ve FSH değerlerine ilişkin sonuçlar Tablo 4. 2.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4. 2.** Stres uygulaması öncesi ortalama LH ve FSH değerlerine ilişkin analiz sonuçları.

	Grup	n	$\bar{X}\pm s.d.$	<i>p</i>
LH (ng/mL)	Kontrol	10	5.91±0.73	0.065
	Çözücü	18	5.64±0.96	
	PKOS	39	5.22±0.94	
FSH (ng/mL)	Kontrol	10	4.63±0.85	0.404
	Çözücü	18	5.25±1.11	
	PKOS	39	5.20±1.38	

Tablo 4. 2.'de görüldüğü gibi ortalama LH ve FSH değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

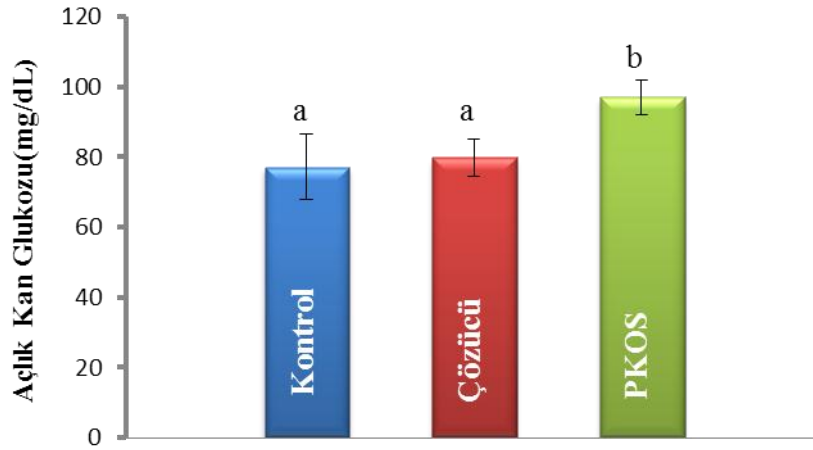
#### 4. 3. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların Açlık Kan Glukozu ve Açlık Serum İnsülin Değerleri

Stres uygulaması öncesi sıçanların açlık kan glukozu ve açlık serum insülin değerlerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4. 3, Şekil 4. 2. ve Şekil 4. 3.'te gösterilmiştir.

**Tablo 4. 3.** Stres uygulaması öncesi açlık kan glukozu ve açlık serum insülin değerlerine ilişkin analiz sonuçları.

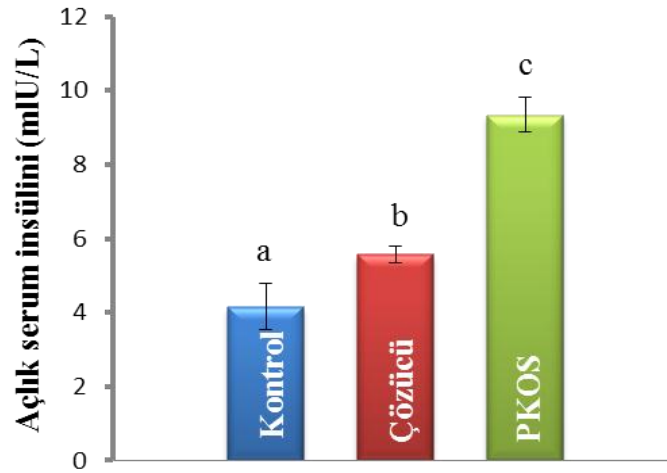
	Grup	n	$\bar{X}\pm s.d.$	<i>p</i>
Glukoz (mg/dL)	Kontrol	10	77.20±9.2 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	18	79.81±5.3 <sup>a</sup>	
	PKOS	39	97.10±4.9 <sup>b</sup>	
İnsülin (mIU/L)	Kontrol	10	4.16±0.62 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	18	5.57±0.24 <sup>b</sup>	
	PKOS	39	9.35±0.46 <sup>c</sup>	

Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p<0.001$ ).



**Şekil 4. 2.** Stres uygulaması öncesi açlık kan glukozu değerleri.

(a ve b birbirinden  $p < 0.001$  düzeyinde farklıdır.)



**Şekil 4. 3.** Stres uygulaması öncesi açlık serum insülin değerleri.

(a, b ve c birbirinden  $p < 0.001$  düzeyinde farklıdır.)

Grupların stres uygulaması öncesi açlık kan glukoz değerlerine incelendiğinde PKOS grubunun, Kontrol ve Çözücü gruplarından istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu görülmektedir. Ancak Kontrol ve Çözücü grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Grupların stres uygulaması öncesi açlık serum insülin değerleri incelendiğinde, üç grubun değerlerinin birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Kontrol grubu en düşük değere sahipken, PKOS grubu en yüksek değere sahip görülmektedir.

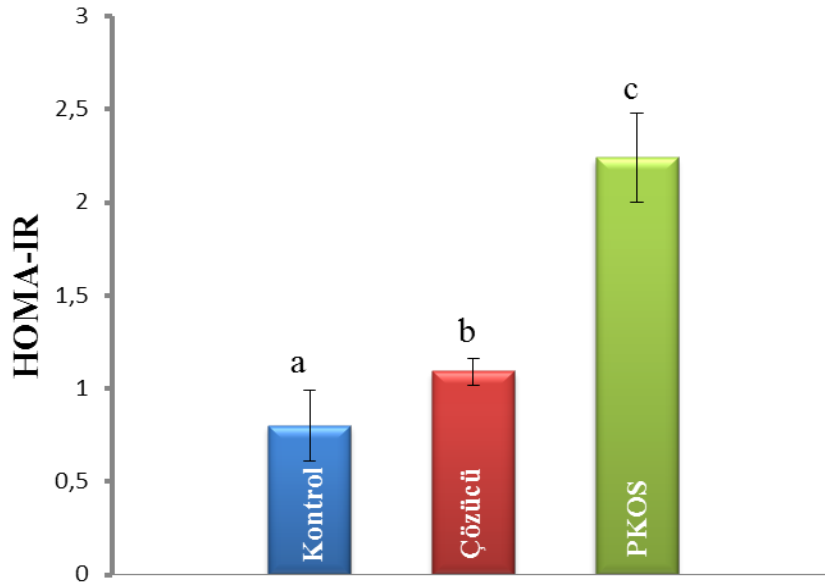
#### 4. 4. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların HOMA-IR Değerleri

Kontrol, Çözücü, PKOS gruplarının stres öncesi HOMA-IR değerlerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları ise Tablo 4. 4. ve Şekil 4. 4.'te gösterilmiştir.

**Tablo 4. 4.** Stres uygulaması öncesi HOMA-IR değerlerine ilişkin analiz sonuçları.

Değişken	Grup	n	$\bar{X} \pm s.d.$	<i>p</i>
HOMA-IR	Kontrol	10	0.80±0.2 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	18	1.09±0.1 <sup>b</sup>	
	PKOS	39	2.24±0.2 <sup>c</sup>	

Farklı harf taşıyan gruplar birbirinden farklıdır ( $p < 0.001$ ).



**Şekil 4. 4.** Stres uygulaması öncesi HOMA-IR değerleri.

(a, b ve c birbirinden  $p < 0.001$  düzeyinde farklıdır.)

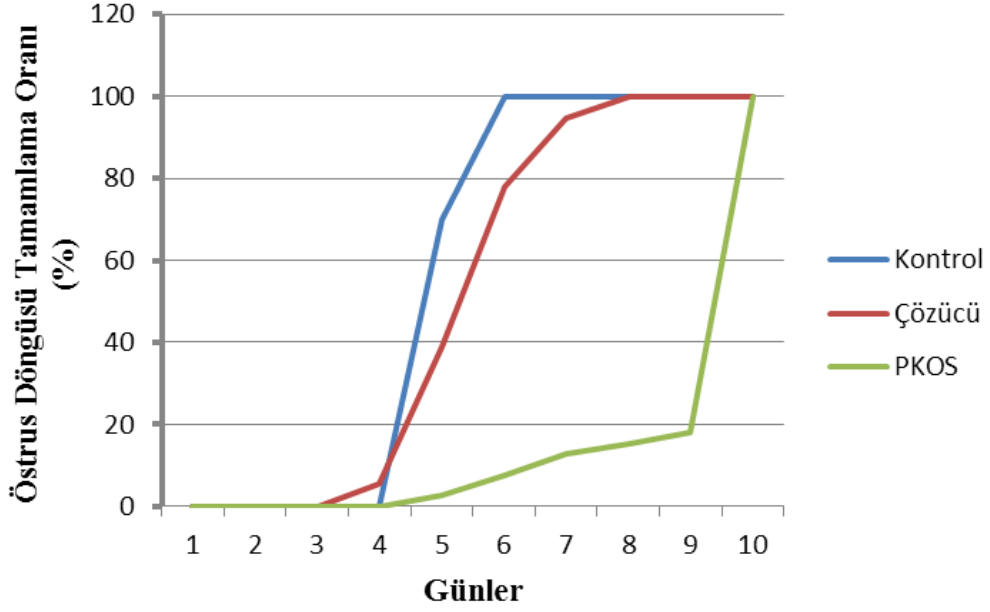
Stres uygulaması öncesi HOMA-IR değerleri, Kontrol, Çözücü ve PKOS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir.

#### 4. 5. Stres Uygulaması Öncesi Sıçanların Östrus Döngülerini Tamamlamalarına İlişkin Bulgular

Stres uygulaması öncesinde, grupların 10 günlük östrus döngü tamamlama sonuçlarına ilişkin bulgular Tablo 4. 5. ve Şekil 4. 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 4. 5.** Stres uygulaması öncesi kümülatif olarak östrus döngüsünün tamamlanma oranı (%).

Gözlem Zamanı	Kontrol (n=10)	% Değer	Çözücü (n=18)	% Değer	PKOS (n=39)	% Değer
1.Gün	0		0		0	
2.Gün	0		0		0	
3.Gün	0		0		0	
4.Gün	0		1	5.5	0	
5.Gün	7	70.0	7	38.9	1	2.6
6.Gün	10	100.0	14	77.8	3	7.7
7.Gün	0		17	94.4	5	12.8
8.Gün	0		18	100.0	6	15.4
9.Gün	0		0		7	18.0
10. Gün	0		0		39	100.0



**Şekil 4. 5.** Stres uygulaması öncesi östrus döngüsünün tamamlanma oranı (%).

Yapılan döngü takip işlemleri sonucunda, Kontrol grubunun östrus döngülerini diğer gruplara göre erken tamamladığı görülmektedir. Çözücü grubu, östrus döngüsünü ağırlıklı olarak 5. ve 6. günlerde tamamlarken, PKOS grubunda bu süre 10. güne kadar uzamaktadır.

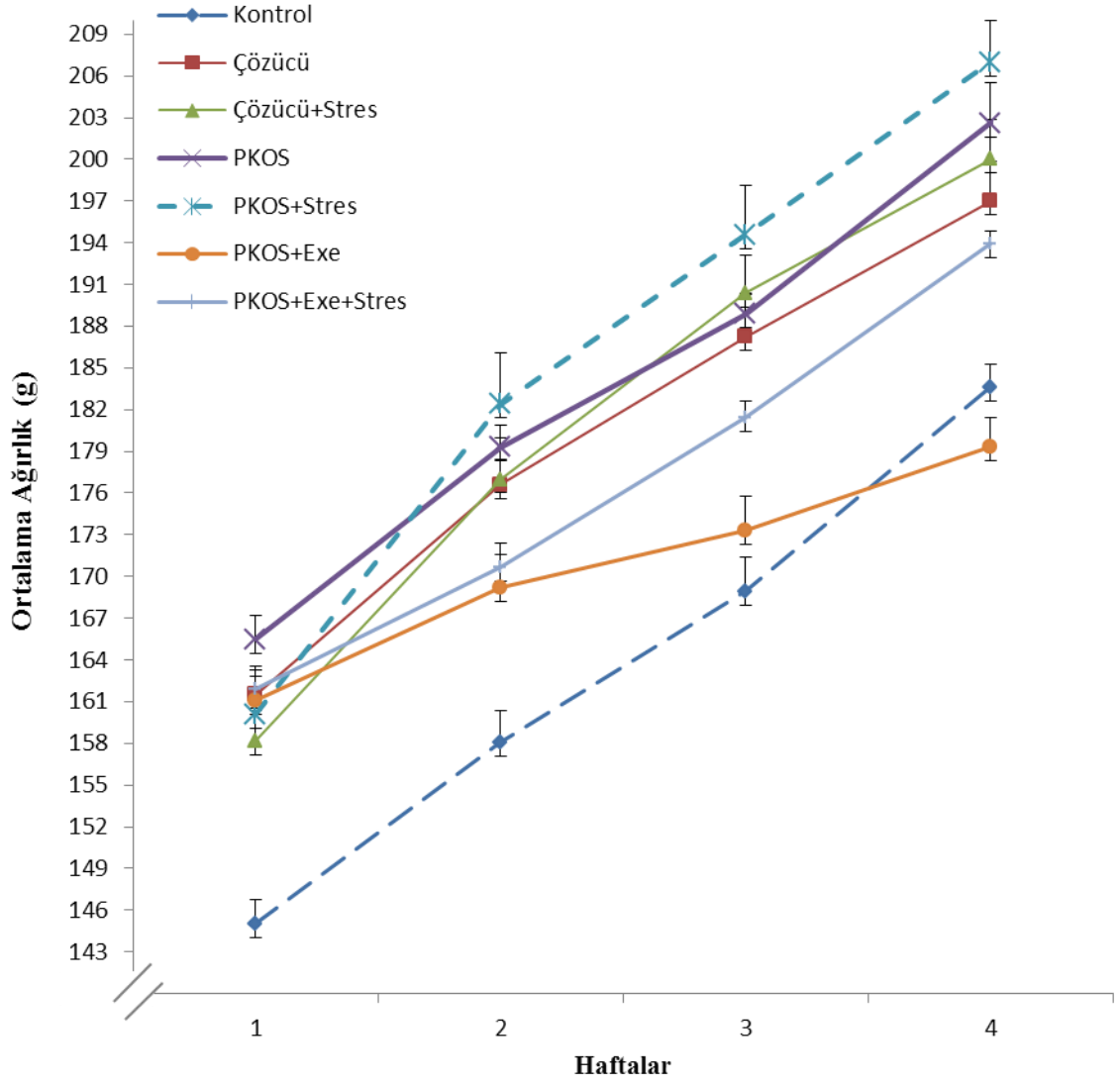
#### **4. 6. Stres Uygulaması ile Sıçanların Değişen Ortalama Ağırlık Değerleri ve % Ağırlık Değişimleri**

Kontrol, Çözücü, Çözücü+Stres, PKOS, PKOS+Stres, PKOS+Exe ve PKOS+Exe+Stres gruplarının stres uygulaması ile değişen ortalama ağırlık ve % ağırlık değişim düzeylerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4. 6, Tablo 4. 7, Şekil 4. 6. ve Şekil 4. 7.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4. 6.** Stres uygulaması ile değişen ortalama ağırlık (g) düzeylerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.

Gruplar	n	Haftalar $\bar{X}\pm s.d.$			
		1	2	3	4
Kontrol	10	145.0 $\pm$ 5.5 <sup>a</sup>	158.1 $\pm$ 7.1 <sup>a</sup>	168.9 $\pm$ 7.9 <sup>a</sup>	183.6 $\pm$ 5.2 <sup>a</sup>
Çözücü	8	161.5 $\pm$ 5.0 <sup>b</sup>	176.6 $\pm$ 5.1 <sup>b,c</sup>	187.2 $\pm$ 8.7 <sup>b</sup>	197 $\pm$ 7.9 <sup>b,c</sup>
Çözücü+Stres	10	158.2 $\pm$ 6.9 <sup>b</sup>	177 $\pm$ 9.5 <sup>b,c</sup>	190.4 $\pm$ 8.7 <sup>b</sup>	200 $\pm$ 8.9 <sup>b,c</sup>
PKOS	10	165.5 $\pm$ 5.3 <sup>b</sup>	179.3 $\pm$ 5.1 <sup>b</sup>	188.9 $\pm$ 4.4 <sup>b</sup>	202.6 $\pm$ 9.4 <sup>b,c</sup>
PKOS+Stres	10	160.1 $\pm$ 10.8 <sup>b</sup>	182.4 $\pm$ 11.5 <sup>c</sup>	194.6 $\pm$ 11.0 <sup>b</sup>	207 $\pm$ 9.3 <sup>b</sup>
PKOS+Exe	9	161.1 $\pm$ 5.2 <sup>b</sup>	169.2 $\pm$ 6.7 <sup>c</sup>	173.3 $\pm$ 7.4 <sup>a,c</sup>	179.3 $\pm$ 6.3 <sup>a</sup>
PKOS+Exe+Stres	10	161.9 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>	170.7 $\pm$ 5.4 <sup>c</sup>	181.4 $\pm$ 3.9 <sup>c</sup>	193.9 $\pm$ 3.0 <sup>c</sup>
<i>p</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p < 0.001$ ).

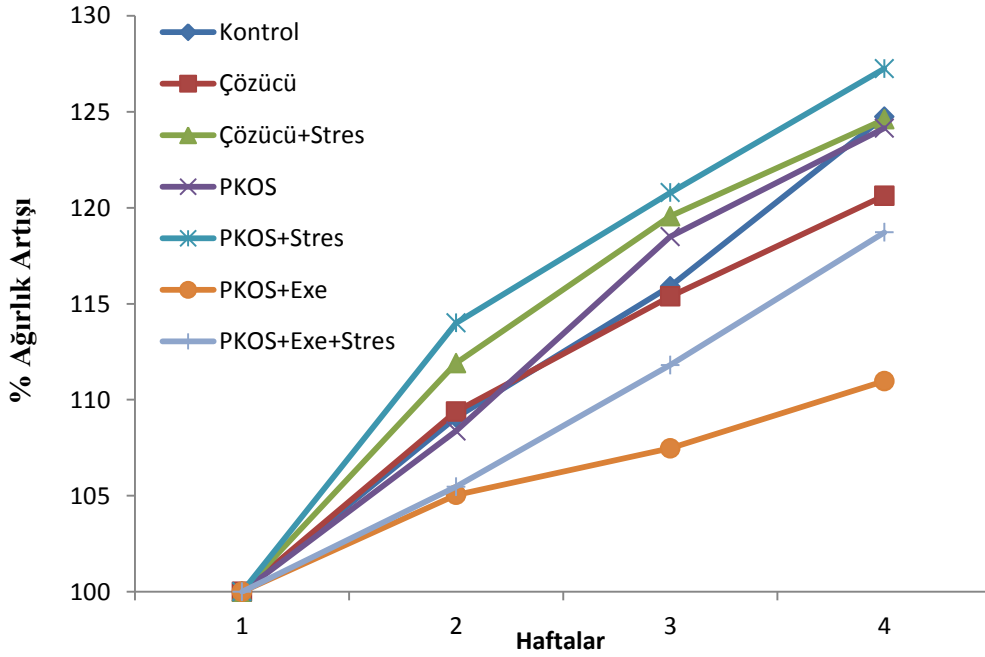


Şekil 4. 6. Stres uygulaması ile değişen ortalama ağırlık düzeyleri.

**Tablo 4. 7.** Stres uygulaması ile haftalara göre % ağırlık artışına ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.

Gruplar	n	Haftalara Göre % Ağırlık Artışı			
		1	2	3	4
Kontrol	10	100	109.1 <sup>a</sup>	115.9 <sup>a,b</sup>	124.7 <sup>a</sup>
Çözücü	8	100	109.4 <sup>a,b</sup>	115.4 <sup>a,b</sup>	120.6 <sup>a,d</sup>
Çözücü+Stres	10	100	111.9 <sup>b</sup>	119.5 <sup>b</sup>	124.6 <sup>a</sup>
PKOS	10	100	108.4 <sup>a</sup>	118.5 <sup>a,d</sup>	124.1 <sup>a,d</sup>
PKOS+Stres	10	100	113.9 <sup>b</sup>	120.7 <sup>b</sup>	127.2 <sup>c</sup>
PKOS+Exe	9	100	105.1 <sup>a</sup>	107.4 <sup>c</sup>	110.9 <sup>b</sup>
PKOS+Exe+Stres	10	100	105.1 <sup>a</sup>	111.8 <sup>a,c</sup>	118.7 <sup>d</sup>
<i>p</i>			0.05	0.05	0.05

Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4. 7.** Stres uygulaması ile haftalara göre % ağırlık değişimi.

Tablo 4. 6. ve Tablo 4. 7. ile Şekil 4. 6. ve Şekil 4. 7.'de verilen sıçanların 4 haftalık stres uygulaması sırasında alınan ağırlık değerleri incelendiğinde, stres uygulanan grupların genel olarak ağırlık ortalamalarının stres uygulanmayan kontrollerine göre yüksek değerlerde olduğu görülmektedir.

Exe verilen grupların ağırlık ortalamalarının, genel olarak düşük olduğu görülmektedir. PKOS ve PKOS+Exe gruplarının ağırlık ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. PKOS+Exe grubunun ağırlık ortalaması, PKOS grubuna göre 2. haftadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Yine PKOS+Stres ve PKOS+Exe+Stres gruplarının ağırlık ortalamaları incelendiğinde 2. haftadan itibaren, PKOS+Exe+Stres grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir ağırlık azalması olduğu görülmektedir.

Çözücü ve Çözücü+Stres grupları incelendiğinde, Çözücü+Stres grubunun ağırlık ortalamasının Çözücü grubuna göre yüksek olduğu görülmekte ancak bu iki grup arasında ağırlık ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir. PKOS+Exe grubunun ağırlık ortalamaları ilk iki hafta Kontrol grubundan anlamlı bir şekilde yüksek iken, 3. ve 4. haftalarda ortalama ağırlık değerleri düşerek Kontrol grubuna yaklaşmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık durumu görülmemektedir.

#### **4. 7. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların LH ve FSH Değerleri**

Stres uygulaması sonrası sıçanların LH ve FSH değerlerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4. 8, Tablo 4. 9. ve Şekil 4. 8'de gösterilmektedir.

**Tablo 4. 8.** Stres uygulaması sonrası LH ve FSH değerlerine ilişkin analiz sonuçları.

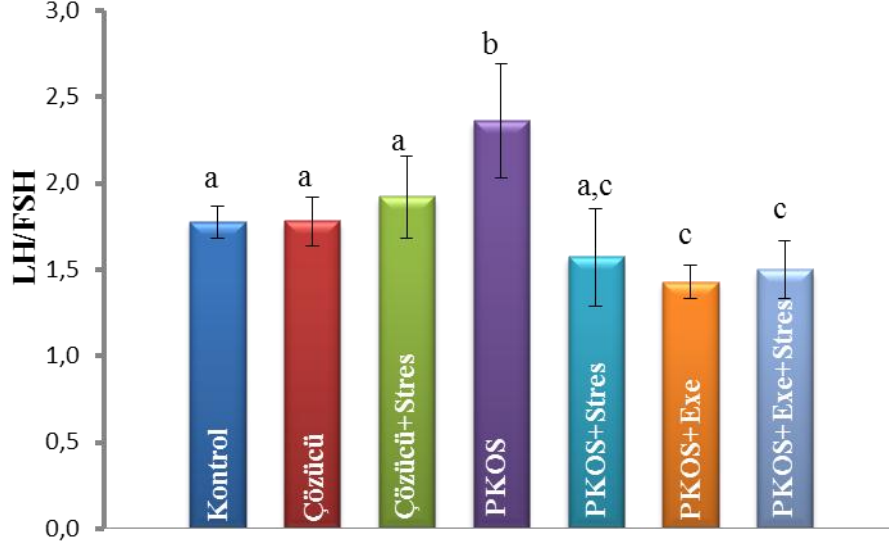
Değişken	Gruplar	n	$\bar{X}\pm s.d.$	<i>p</i>
LH (ng/mL)	Kontrol	10	18.76±0.59 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	8	19.47±0.84 <sup>d</sup>	
	Çözücü+Stres	10	20.12±0.45 <sup>b,d</sup>	
	PKOS	10	20.97±0.79 <sup>b</sup>	
	PKOS+Stres	10	17.18±2.75 <sup>a,c,d</sup>	
	PKOS+Exe	9	15.70±0.80 <sup>c</sup>	
	PKOS+Exe+Stres	10	15.92±0.78 <sup>c</sup>	
FSH (ng/mL)	Kontrol	10	10.59±0.72 <sup>a,b</sup>	0.003
	Çözücü	8	11.00±0.96 <sup>b</sup>	
	Çözücü+Stres	10	10.63±1.38 <sup>a,b</sup>	
	PKOS	10	9.05±1.35 <sup>a</sup>	
	PKOS+Stres	10	11.00±0.93 <sup>b</sup>	
	PKOS+Exe	9	11.04±0.99 <sup>b</sup>	
	PKOS+Exe+Stres	10	10.76±1.31 <sup>b</sup>	

Her bir değişken için aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 4. 9.** Stres uygulaması sonrası LH/FSH değerlerine ilişkin analiz sonuçları.

Değişken	Gruplar	n	$\bar{X}\pm s.d.$	<i>p</i>
LH/FSH	Kontrol	10	1.78±0.9 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	8	1.78±0.1 <sup>a</sup>	
	Çözücü+Stres	10	1.92±0.2 <sup>a</sup>	
	PKOS	10	2.36±0.3 <sup>b</sup>	
	PKOS+Stres	10	1.58±0.3 <sup>a,c</sup>	
	PKOS+Exe	9	1.43±0.1 <sup>c</sup>	
	PKOS+Exe+Stres	10	1.50±0.2 <sup>c</sup>	

Her bir değişken için aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 4. 8.** Stres uygulaması sonrası LH/FSH oranı.

(a, b ve c birbirinden  $p < 0.05$  düzeyinde farklıdır.)

Stres uygulaması sonrası sıçanların LH değerleri incelendiğinde Exe verilen grupların LH değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde düşük olduğu görülmektedir. FSH değerleri incelendiğinde ise PKOS grubunun FSH değerinin diğer gruplara göre daha düşük olduğu görülmektedir.

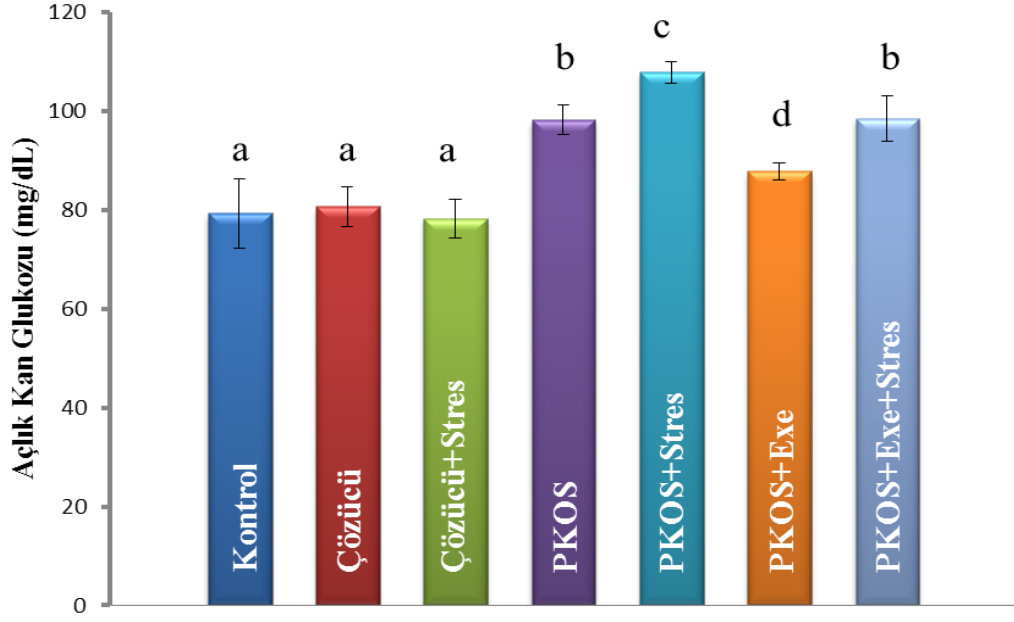
#### 4. 8. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların Açlık Kan Glukozu ve Açlık Serum İnsülin Değerleri

Stres uygulaması sonrası sıçanların açlık kan glukozu ve açlık serum insülin değerlerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4. 10, Şekil 4. 9. ve Şekil 4. 10.'da gösterilmektedir.

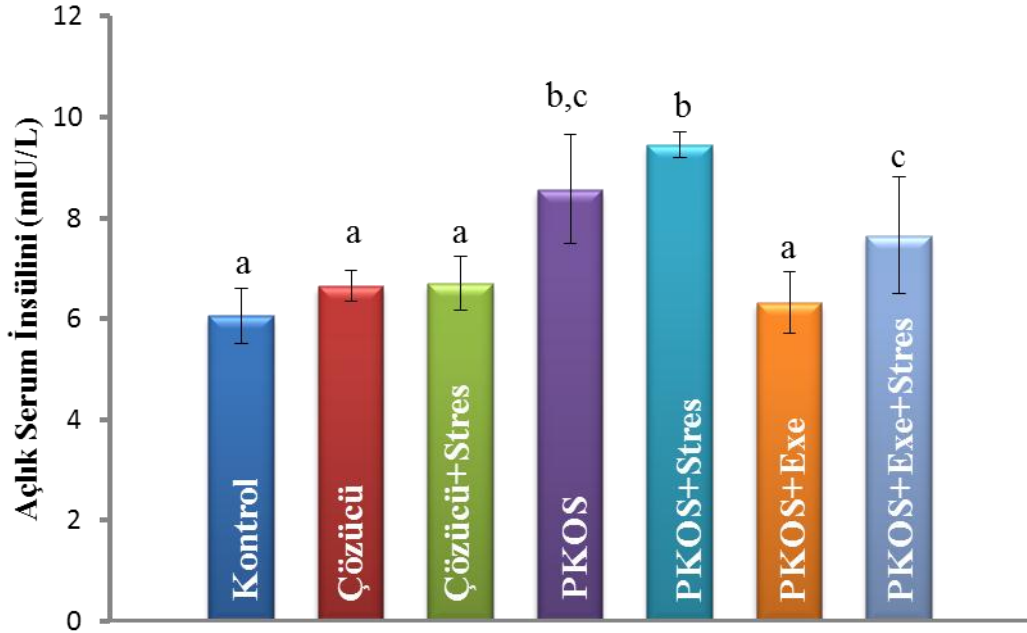
**Tablo 4. 10.** Stres uygulaması sonrası açlık kan glukozu ve açlık serum insülini değerlerine ilişkin analiz sonuçları.

Değişken	Gruplar	n	$\bar{X}\pm s.d.$	<i>p</i>
Glukoz (mg/dL)	Kontrol	10	79.30±6.97 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	8	80.66±4.09 <sup>a</sup>	
	Çözücü+Stres	10	78.25±3.96 <sup>a</sup>	
	PKOS	10	98.25±3.00 <sup>b</sup>	
	PKOS+Stres	10	107.87±2.23 <sup>c</sup>	
	PKOS+Exe	9	87.85±1.76 <sup>d</sup>	
	PKOS+Exe+Stres	10	98.50±4.49 <sup>b</sup>	
İnsülin (mIU/L)	Kontrol	10	6.06±0.54 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	8	6.64±0.30 <sup>a</sup>	
	Çözücü+Stres	10	6.70±0.53 <sup>a</sup>	
	PKOS	10	8.56±1.08 <sup>b,c</sup>	
	PKOS+Stres	10	9.44±0.26 <sup>b</sup>	
	PKOS+Exe	9	6.32±0.61 <sup>a</sup>	
	PKOS+Exe+Stres	10	7.65±1.15 <sup>c</sup>	

Her bir değişken için aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p < 0.05$ )



**Şekil 4. 9.** Stres uygulaması sonrası açlık kan glukoz değerleri.  
(a, b, c ve d birbirinden  $p<0.05$  düzeyinde farklıdır.)



**Şekil 4. 10.** Stres uygulaması sonrası açlık serum insülin değerleri.  
(a, b ve c birbirinden  $p<0.05$  düzeyinde farklıdır.)

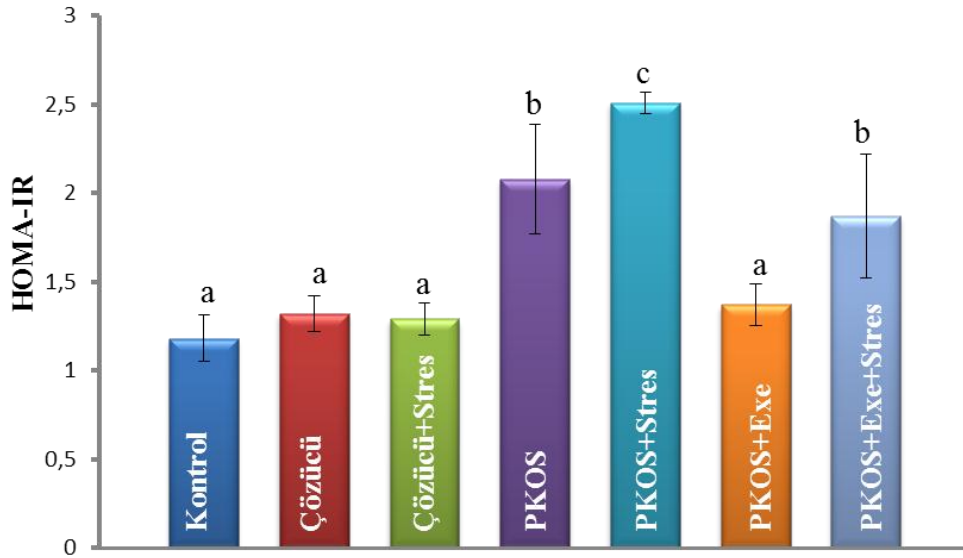
#### 4. 9. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların HOMA-IR Değerleri

Deney gruplarının stres uygulaması sonrası HOMA-IR düzeyleri açısından karşılaştırılmalarına ilişkin analiz sonuçları ise Tablo 4. 11. ve Şekil 4. 11.'de sunulmaktadır.

**Tablo 4. 11.** Stres uygulaması sonrası HOMA-IR düzeylerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.

Değişken	Gruplar	n	$\bar{X}\pm s.d.$	<i>p</i>
HOMA-IR	Kontrol	10	1.18±0.13 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	8	1.32±0.10 <sup>a</sup>	
	Çözücü+Stres	10	1.29±0.09 <sup>a</sup>	
	PKOS	10	2.08±0.31 <sup>b</sup>	
	PKOS+Stres	10	2.51±0.06 <sup>c</sup>	
	PKOS+Exe	9	1.37±0.12 <sup>a</sup>	
	PKOS+Exe+Stres	10	1.87±0.35 <sup>b</sup>	

Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p < 0.001$ ).



**Şekil 4. 11.** Stres uygulaması sonrası HOMA-IR değerleri.

(a, b ve c birbirinden  $p < 0.001$  düzeyinde farklıdır.)

Elde edilen test sonuçları; PKOS+Stres grubunun stres uygulaması sonrası HOMA-IR değerlerinin, diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu göstermiştir. Kontrol, Çözücü, Çözücü+Stres ve PKOS+Exe gruplarının, HOMA-IR değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemektedir. Sadece Exe uygulamasının HOMA-IR değerlerini düşürdüğü, fakat stres durumunda Exe uygulamasının aynı etkiyi oluşturmadığı belirlenmiştir. Hatta PKOS+Stres+Exe ve PKOS grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir.

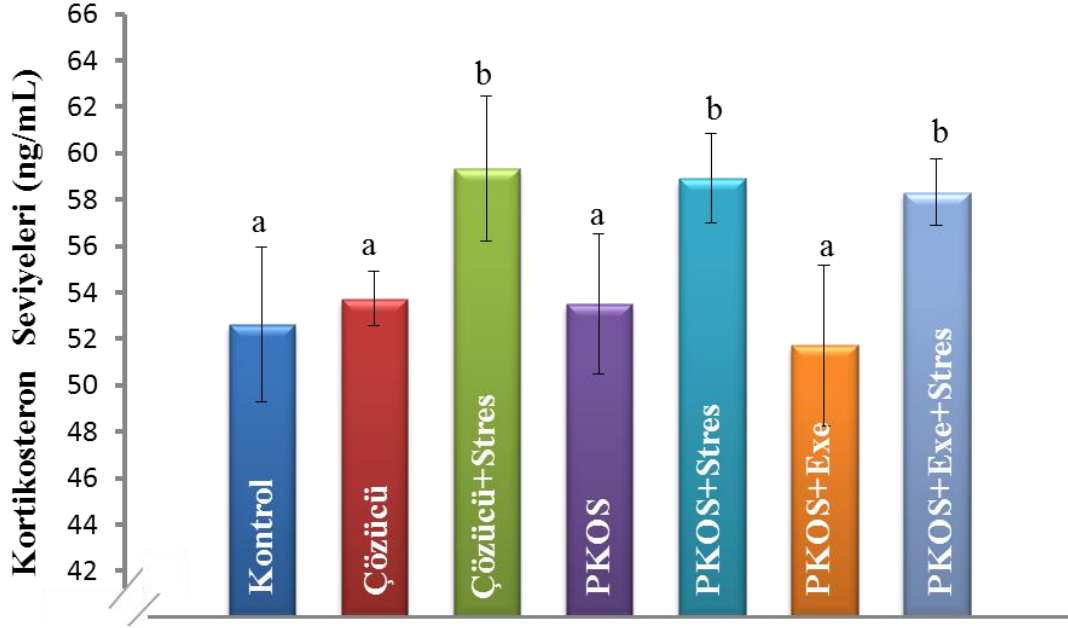
#### 4. 10. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların Kortikosteron Değerleri

Stres uygulaması sonrası, stres uygulanan grupların kortikosteron düzeylerine ilişkin analiz sonuçları Tablo 4. 12.'de ve Şekil 4. 12'de gösterilmiştir.

**Tablo 4. 12.** Stres uygulaması sonrası kortikosteron düzeylerine ilişkin istatistiksel analiz sonuçları.

Değişken	Gruplar	n	$\bar{X}\pm s.d.$	<i>p</i>
Kortikosteron (ng/mL)	Kontrol	10	52.62±3.33 <sup>a</sup>	0.000
	Çözücü	8	53.74±1.19 <sup>a</sup>	
	Çözücü+Stres	10	59.34±3.11 <sup>b</sup>	
	PKOS	10	53.49±3.01 <sup>a</sup>	
	PKOS+Stres	10	58.92±1.90 <sup>b</sup>	
	PKOS+Exe	9	51.72±3.47 <sup>a</sup>	
	PKOS+Exe+Stres	10	58.33±1.44 <sup>b</sup>	

Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar farklıdır ( $p < 0.001$ ).



**Şekil 4. 12.** Stres uygulaması sonrası kortikosteron düzeyleri.  
(a ve b birbirinden  $p < 0.001$  düzeyinde farklıdır.)

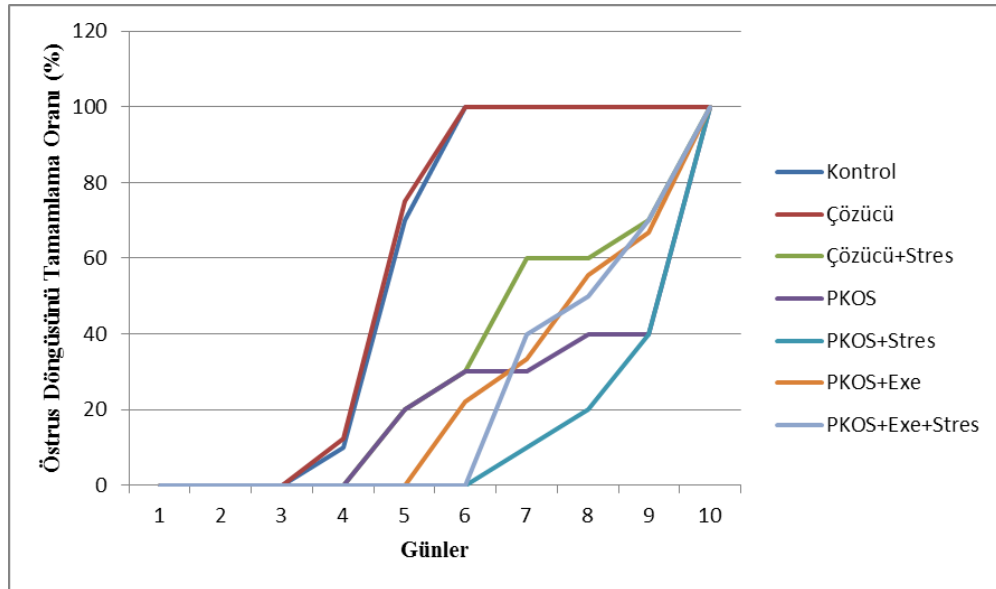
Tablo 4. 12. ve Şekil 4. 12’de, stres uygulaması yapılan grupların kortikosteron seviyesinin, kendi kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir yüksek olduğu gösterilmektedir.

#### **4. 11. Stres Uygulaması Sonrası Sıçanların Östrus Döngülerini Tamamlamalarına İlişkin Bulgular**

Stres uygulaması sonrasında, grupların 10 günlük östrus döngü tamamlama sonuçlarına ilişkin bulgular Tablo 4. 13. ve Şekil 4. 13.’de gösterilmiştir.

**Tablo 4. 13.** Stres uygulaması sonrası kümülatif olarak östrus döngüsünün tamamlanma oranı (%).

Gözlem Zamanı	Kontrol	%	Çözücü	%	Çözücü+Stres	%	PKOS	%	PKOS+Stres	%	PKOS+Exe	%	PKOS+Exe+Stres	%
1.Gün	0		0		0		0		0		0		0	
2.Gün	0		0		0		0		0		0		0	
3.Gün	0		0		0		0		0		0		0	
4.Gün	1	10	1	12.5	0		0		0		0		0	
5.Gün	7	70	6	75	2	20	2	20	0		0		0	
6.Gün	10	100	8	100	3	30	3	30	0		2	22.2	0	
7.Gün	0		0		6	60	0		1	10	3	33.3	4	40
8.Gün	0		0		0		4	40	2	20	5	55.5	5	50
9.Gün	0		0		7	70	0		4	40	6	66.7	7	70
10. Gün	0		0		10	100	10	100	10	100	9	100.0	10	100
n	10		8		10		10		10		9		10	



**Şekil 4. 13.** Stres uygulaması sonrası östrus döngülerini tamamlama oranları (%).

Tablo 4. 13.'ye göre, Kontrol ve Çözücü grubunun, diğer gruplara göre östrus döngüsünü daha erken tamamladıkları görülmektedir. PKOS ve PKOS+Stres gruplarında, östrus döngülerini 10. güne kadar uzatan sıçanların sayılarının daha fazla olduğu görülmektedir. Exe verilen gruplarda ise östrus döngülerini tamamlayan sıçanların sayıları 6. ve 7. günlerden itibaren dağılım göstermekle beraber, PKOS ve PKOS+Stres gruplarına göre östrus döngülerini daha erken tamamladıkları görülmektedir.

## **4. 12. Histolojik Bulgular**

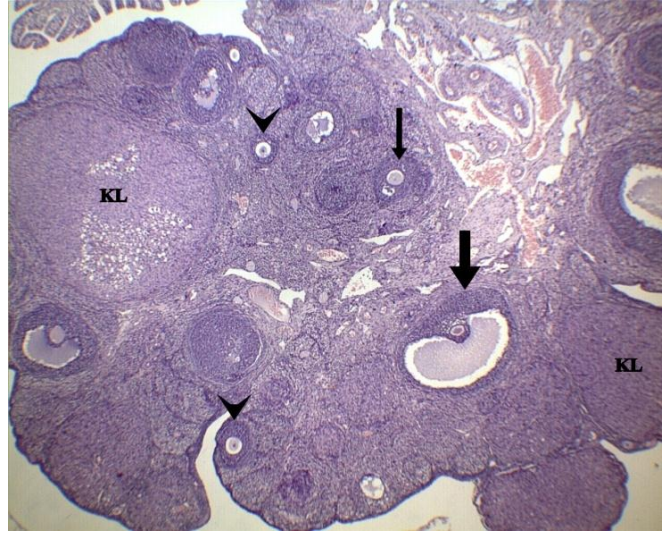
### **4. 12. 1. Ovaryum Bulguları**

Kontrol grubunda ovaryum yapısı normal görünümdeydi (Şekil 4. 14). Ovaryum germinal epitelinin yer yer kübik, prizmatik ve yassı epitel hücrelerinden oluştuğu gözlemlendi. Ovaryum korteksinde farklı gelişim aşamalarında olan foliküller ve korpus luteum yapıları belirgin olarak izlendi. Kortekste sağlıklı foliküller dışında atretik foliküllere de sıklıkla rastlandı. Gevşek bağ dokusu olan medullada çok sayıda kan ve lenf damaları izlendi. Bu grupta toplam sağlıklı folikül sayısı ortalama olarak  $24.0 \pm 11.3$  olarak tespit edildi.

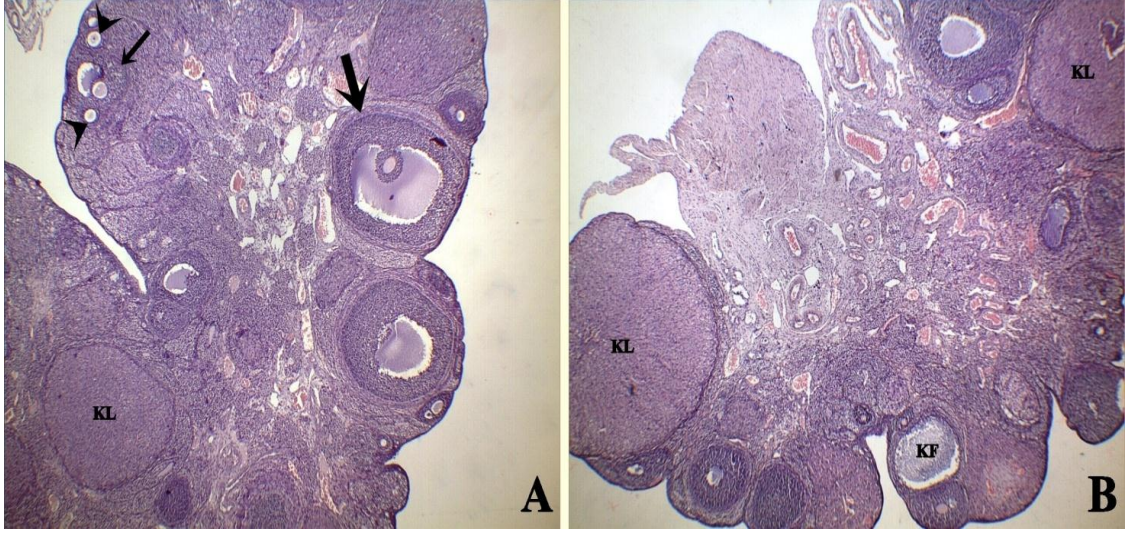
Çözücü grubuna ait ovaryumların genel görünümü Kontrol grubuna benzer olarak izlendi (Şekil 4. 15/ A). Bu grupta toplam sağlıklı folikül sayısı  $20.33 \pm 8.08$  tespit edildi. Çözücü+Stres grubunda ise, nadiren kistik foliküller gözlemlendi (Şekil 4. 15/B). Diğer yandan bu grupta atretik folikül sayısının çözücü grubuna göre arttığı, ancak bu artışın anlamlı olmadığı saptandı ( $p > 0.05$ ).

Kistik folikül sayısı, PKOS grubunda  $0.94 \pm 1.29$ , PKOS+Stres grubunda  $0.85 \pm 1.25$  olarak tespit edildi (Şekil 4. 16, A ve B). Bu gruplarda kistik folikül sayısının Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı saptandı ( $p < 0.05$ ). Toplam sağlıklı folikül sayısının, PKOS ( $17.3 \pm 11.1$ ) ve PKOS+Stres ( $18.8 \pm 10.5$ ) gruplarında Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Bu gruplarda, atretik folikül sayısı bakımından Kontrol grubuna göre artış olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Diğer yandan atretik, kistik ve toplam folikül sayısı bakımından PKOS ve PKOS+Stres grupları arasında da anlamlı bir fark izlenmedi ( $p > 0.05$ ).

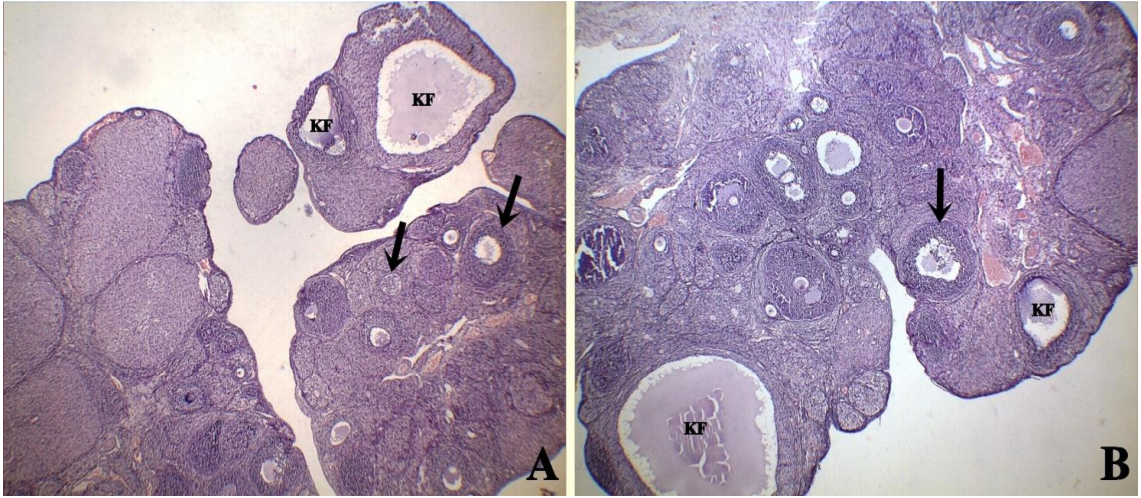
Exe uygulanan PKOS grubunda toplam sağlıklı folikül sayısının PKOS grubuna göre anlamlı derecede arttığı tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Şekil 4. 17/A). Ancak atretik ve kistik folikül sayısı bakımından bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ). Diğer yandan, PKOS+Exe grubu ile PKOS+Exe+Stres grupları arasında da toplam folikül, atretik folikül ve kistik folikül sayıları açısından anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Şekil 4. 17/B). Tablo 4. 14.'te gruplara ait folikül ve korpus luteum sayıları, Tablo 4. 15.'te ise  $p$  değerleri verilmiştir.



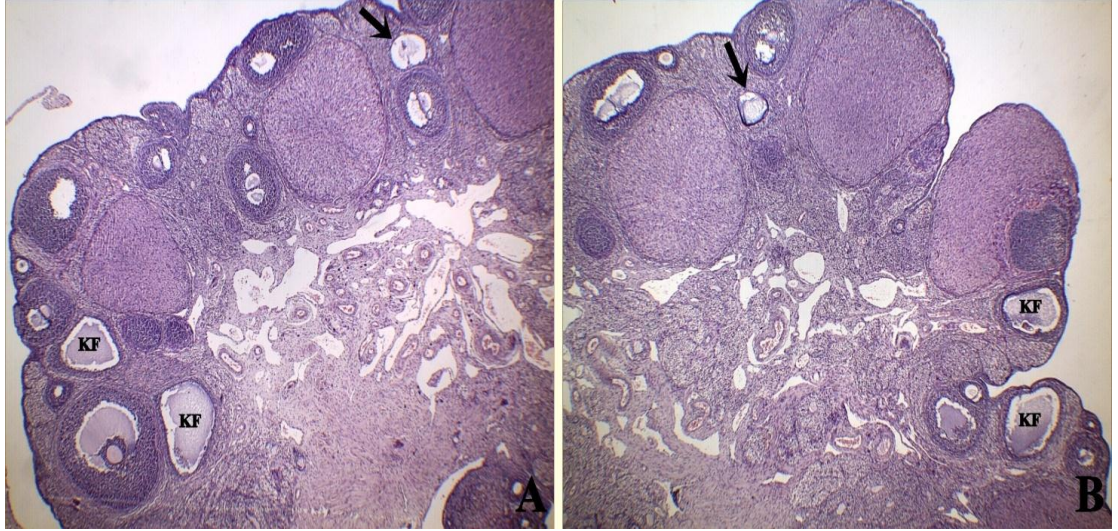
**Şekil 4. 14. Kontrol** grubuna ait ovaryumun görünümü. Tersiyer folikül (kalın ok), sekonder folikül (ince ok), primer folikül (ok başları) ve korpus luteum (KL). H-E X40.



**Şekil 4. 15. A, Çözücü** grubu; tersiyer folikül (kalın ok), sekonder folikül (ince ok), primer folikül (ok başları), korpus luteum (KL). **B, Çözücü+Stres** grubu; korpus luteum (KL) ve kistik folikül (KF). H-E X40.



**Şekil 4. 16. A, PKOS** grubu; atretik folikül (oklar) ve kistik folikül (KF). **B, PKOS+Stres** grubu; atretik folikül (ok) ve kistik folikül (KF). H-E X40.



**Şekil 4. 17. A, PKOS+Exe grubu; atretik folikül (ok) ve kistik folikül (KF). B, PKOS+Exe+Stres grubu; atretik folikül (ok) ve kistik folikül (KF). H-E X40.**

**Tablo 4. 14.** Gruplara ait sağlıklı, atretik ve kistik folikül ile korpus luteum sayıları.

	Kontrol	Çözücü	Çözücü+ Stres	PKOS	PKOS+ Stres	PKOS+ Exe	PKOS+ Exe+Stres
Primordiyal Folikül	15.1±9.3	9.6±6.5	10.9±5.2	10.0±7.1	9.8±7.1	15.2±11.8	9.5±7.2
Primer Folikül	7.3±3.0	8.5±3.2	8.4±3.9	5.6±3.8	6.8±4.0	7.6±3.2	6.0±3.7
Sekonder Folikül	1.5±1.5	1.9±1.1	1.3±1.1	1.7±1.8	1.9±1.7	1.6±1.1	1.6±1.5
Tersiyer Folikül	0.2±0.4	0.3±0.4	0.1±0.3	0.1±0.3	0.2±0.3	0.1±0.1	0.1±0.4
Top.Sağlıklı Folikül	24.0±11.2	20.3±8.0	20.7±7.67	17.3±11.1	18.8±10.5	24.41±14.1	17.23±10.9
Korpus Luteum	8.2±3.5	8.1±2.0	7.2±3.5	7.4±2.4	6.3±3.6	6.1±3.3	6.8±2.2
Atretik Folikül	3.8±3.4	3.9±2.2	4.8±2.0	4.8±3.2	4.7±3.2	5.7±2.4	4.8±3.3
Kistik Folikül	0.09±0.3	0.42±0.7	0.69±1.0	0.94±1.3	0.85±1.3	0.81±1.2	0.68±1.1

**Tablo 4. 15.** İstatistiksel karşılaştırma tablosu (p değerleri).

	Kontrol- Çözücü+Stres	Kontrol- PKOS	Kontrol- PKOS+Stres	Kontrol- PKOS+Exe	Kontrol- PKOS+Exe+Stres	Ç-özücü- Çözücü+Stres	PKOS- PKOS+Stres	PKOS+Exe- PKOS+Exe+Stres	PKOS- PKOS+Exe	PKOS+Stres- PKOS+Exe+Stres
Primordiyal Folikül	0.059	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>	0.652	<b>0.001</b>	0.087	0.946	<b>0.012</b>	<b>0.046</b>	0.623
Primer Folikül	0.245	<b>0.009</b>	0.251	0.776	<b>0.041</b>	0.688	0.107	<b>0.022</b>	<b>0.004</b>	0.336
Sekonder Folikül	0.961	0.814	0.340	0.602	0.963	0.075	0.438	0.640	0.766	0.347
Tersiyer Folikül	0.664	0.664	0.605	0.161	0.739	<b>0.027</b>	0.325	0.252	0.306	0.363
Top.Sağlıklı Folikül	0.300	<b>0.002</b>	<b>0.034</b>	0.914	<b>0.002</b>	0.636	0.370	<b>0.010</b>	<b>0.011</b>	0.270
Korpus Luteum	0.478	0.745	<b>0.015</b>	<b>0.044</b>	0.250	0.395	<b>0.049</b>	0.312	0.073	0.126
Atretik Folikül	<b>0.020</b>	0.139	0.276	<b>0.001</b>	0.153	0.182	0.622	<b>0.041</b>	0.084	0.741
Kistik Folikül	<b>0.003</b>	<b>0.001</b>	<b>0.003</b>	<b>0.002</b>	<b>0.008</b>	0.429	0.691	0.592	0.713	0.638

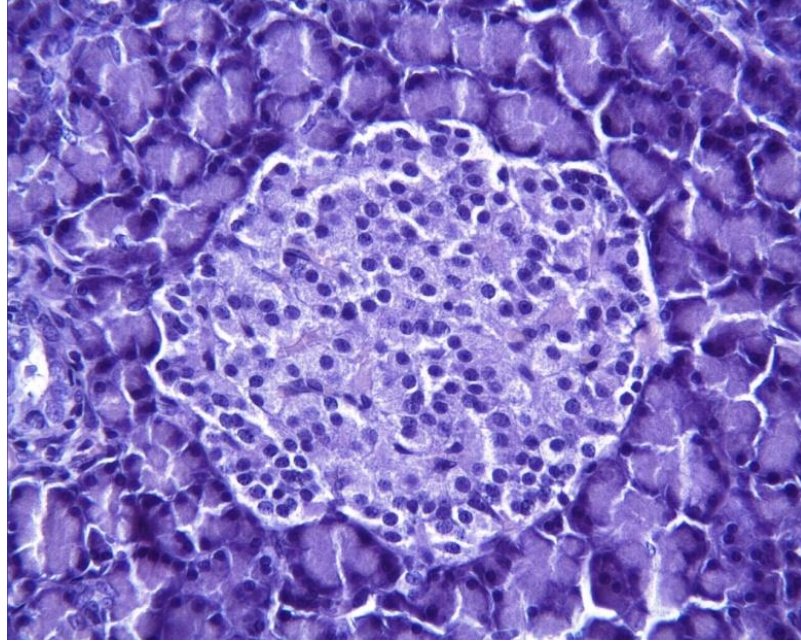
#### 4. 12. 2. Pankreas Bulguları

Kontrol grubuna ait kesitlerde Langerhans adacıkları normal histolojik görünümde izlendi (Şekil 4. 18). Çözücü ve Çözücü+Stres gruplarında yer yer piknotik nükleuslu dejenerere hücreler içeren Langerhans adacıklarına rastlandı (Şekil 4. 19, A ve B).

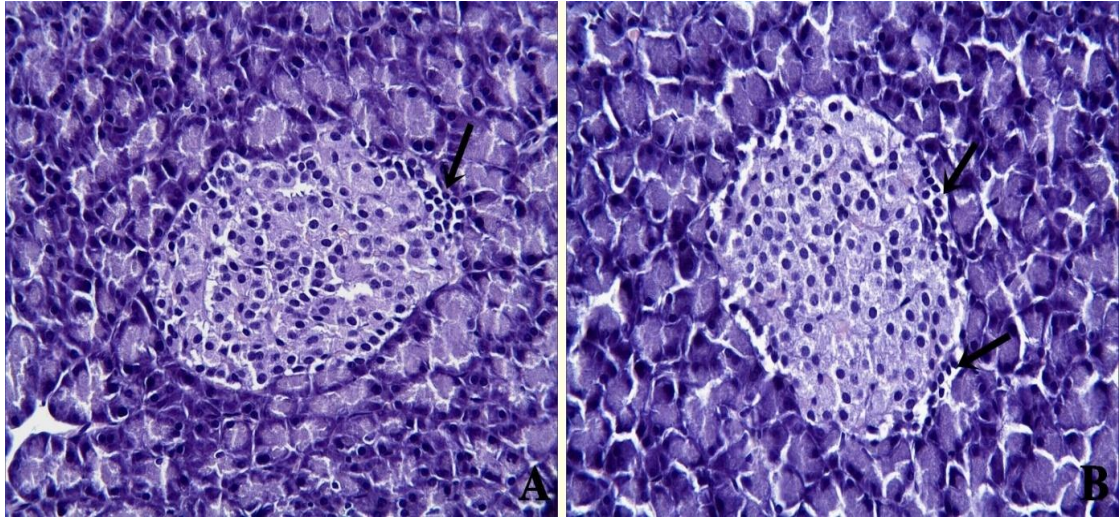
PKOS grubunda, Langerhans adacıklarının konturlarında bozulma, özellikle periferik alanlarında bulunan hücrelerde dejeneratif değişiklikler (piknotik nükleus, intrasellüler vakuolizasyon) gözlemlendi. Ayrıca bu grupta adacık sinüzoidlerinde dilatasyon izlendi (Şekil 4. 20, A ve B). Diğer yandan, dejeneratif değişiklikler izlenen adacıklar bakımından PKOS+Stres grubunda, PKOS grubuna göre artış izlendi, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ).

Exe uygulanan gruplarda ise anormal histolojik görünüme sahip Langerhans adacıklarında, Exe uygulanmayan PKOS gruplarına göre azalma izlendi. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) (Şekil 4. 21, A ve B).

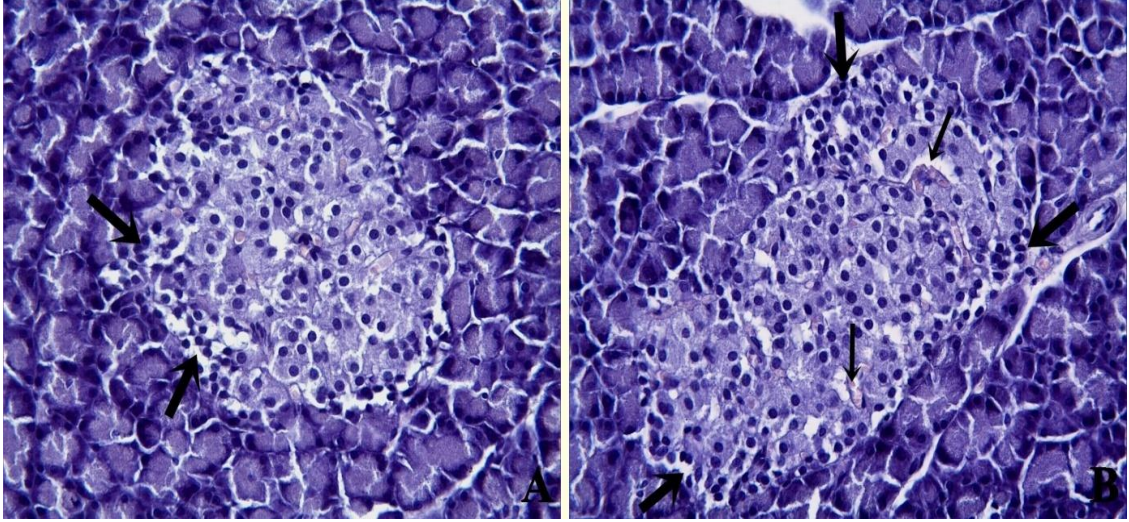
Tablo 4. 16.'da gruplara ait histopatolojik skor sonuçları, Tablo 4. 17'da *p* değerleri verilmiştir.



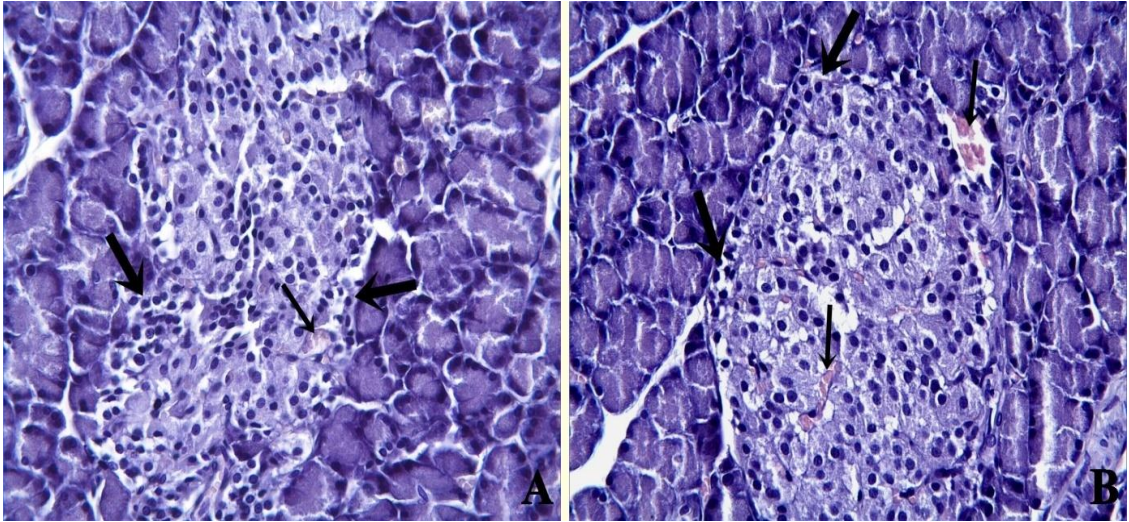
**Şekil 4. 18.** Kontrol grubuna ait Langerhans adacığının görünümü. H-E X40.



**Şekil 4. 19.** Çözücü (A) ve Çözücü+Stres (B) gruplarında Langerhans adacıklarının periferinde izlenen piknotik nükleuslu hücreler(oklar). H-E X40.



**Şekil 4. 20. PKOS (A) ve PKOS+Stres (B) gruplarında Langerhans adacıklarının konturlarının bozulduğu, periferinde yer alan hücrelerin dejenerasyona uğradığı (kalın ok) ve sinüzoidlerinin dilate olduğu (ince ok) izlenmekte. H-E X40.**



**Şekil 4. 21. PKOS+Exe (A) ve PKOS+Exe+Stres (B) gruplarında Langerhans adacıklarının görünümünün PKOS ve PKOS+Stres gruplarındakine benzer olduğu izlenmekte. Kalın oklar dejeneratif hücrelere, ince oklar sinüzoidal dilatasyona işaret ediyor. H-E X40.**

**Tablo 4. 16.** Gruplara ait histopatolojik skor sonuçları.

	Kontrol	Çözücü	Çözücü+ Stres	PKOS	PKOS+ Stres	PKOS+ Exe	PKOS+ Exe+Stres
Langerhans Adacığı	0.08±0.28	0.48±0.65	0.68±0.75	1.04±0.79	1.24±1.09	0.88±0.73	0.95±0.97

**Tablo 4. 17.** İstatistiksel karşılaştırma tablosu (p değerleri).

	Kontrol- Çözücü+Stres	Kontrol- PKOS	Kontrol- PKOS+Stres	Kontrol- PKOS+Exe	Kontrol- PKOS+Exe+Stres	Çözücü- Çözücü+Stres	PKOS- PKOS+Stres	PKOS+Exe- PKOS+Exe+Stres	PKOS- PKOS+Exe	PKOS+Stres- PKOS+Exe+Stres
Langerhans Adacığı	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	0.307	0.584	0.958	0.473	0.379

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada PKOS'la beraber gelişen insülin direncine karşı Exe'in olası tedavi edici etkileri, kronik orta düzeyli stres ortamında araştırılmıştır. Stres uygulaması öncesi DHEA verilip sıçanların ağırlık, LH, FSH, açlık kan glukozu, açlık serum insülini, HOMA-IR ve östrus döngülerini tamamlamalarına bakılarak PKOS modeli bulguları elde edilmiştir. PKOS modeli oluştuktan sonra, sıçanların ağırlık, LH, FSH, LH/FSH, açlık kan glukozu, açlık serum insülini, HOMA-IR, kortikosteron ve östrus döngülerini tamamlama bulgularının kronik orta düzeyli stres ortamından nasıl etkilendiğine ilişkin sonuçları ile sıçanların ovaryum ve pankreas dokularına ait histolojik görüntü bulguları tartışılacaktır.

### 5. 1. DHEA Kullanılarak PKOS Modelinin Oluşturulmasına İlişkin Bulguların Tartışılması

#### 5. 1. 1. Ağırlık Değerleri

Stres uygulamasından önce üç grup şeklinde denemeye alınan sıçanların, 7 hafta boyunca ortalama ağırlık değerleri elde edilmiştir. Tablo 4. 1. ve Şekil 4. 1. incelendiğinde DHEA verilen grup (PKOS) ile susam yağı verilen (Çözücü) grubun ağırlık ortalamalarının, Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir. PKOS grubunda meydana ağırlık artışının DHEA uygulamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü PKOS fenotipinin bir sonucu olarak androjen miktarının artması, lipit ve karbonhidrat metabolizmasına katılan enzim ve proteinlerin ekspresyonunu etkileyerek adipositlerde hipertrofiye sebep olmaktadır (78). Bu bulgu Sun ve arkadaşlarının, sıçanlara DHEA uygulayarak vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı artışını gösterdikleri çalışmayla desteklenmektedir (163). Benzer şekilde Bloch ve arkadaşları, insanlarla yürüttükleri çalışmada, DHEA uygulamasının vücut-kitle indeksinde istatistiksel olarak önemli artışlar sağladığını rapor etmişlerdir (201). Diğer bir ortalama ağırlık artışının görüldüğü Çözücü grubunda ise ağırlık artışına, susam yağının katkısı olduğu düşünülmektedir. Hala ve Magbolah'ın yaptıkları çalışmada susam yağı verilen grubun, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ağırlık artışı olduğunu kaydetmişlerdir (202). Bhaskaran ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise susam yağı verilen grubun diğer gruplara göre

ağırlığının yüksek olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmektedir (203). Çalışmamızda sıçanlara 60. gününe kadar her gün 0.2 ml susam yağının çözücü olarak subkutan verilmesinin, ağırlık artışına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

### **5. 1. 2. LH ve FSH Değerleri**

Çalışmada DHEA enjeksiyonu ile PKOS fenotipinin oluşturulması amaçlanmış olmakla beraber PKOS modeli oluşturulmasında altın bir standart bulunmamaktadır (196). Cinsiyet steroidlerinin adrenal öncüsü olan ve androjen biyosentezinde görev alan DHEA, sıçanların ovaryumlarında kistik yapılar oluşturması ve insülin direnci geliştirmesi bakımından deneysel PKOS oluşturulmasında kullanılmaktadır (204). LH ve FSH hormon seviyeleri incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı görülmektedir (Tablo 4. 2). PKOS modeli oluşturmak için verilen DHEA'nın uzun süreli uygulamalarında LH düzeyinde anlamlı artışın olmadığı literatürle de desteklenmektedir. Caldwell ve arkadaşları, postnatal dönemde farelere uzun süreli (90 gün) DHEA verilmesinin, LH seviyesinde anlamlı bir artışa yol açmadığını belirlemiş ve LH faktörünün klasik PKOS gelişiminde anahtar bir rol oynamadığını savunmuşlardır (196). Ayrıca, Abramovich ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, DHEA verilen sıçanların LH düzeylerinde artmadan ziyade, azalmanın olduğu ve DHEA'nın, HPG aksı negatif geribildirim ile etkileyerek LH düzeyini azalttığı belirtilmektedir (205). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde LH ve FSH değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

### **5. 1. 3. Açlık Kan Glukozu, Açlık Serum İnsülin Değerleri ve HOMA-IR Değerleri**

Sıçanların stres uygulaması öncesi alınan kan örneklerinden açlık kan glukozu ve açlık serum insülin değerleri elde edilip HOMA-IR hesaplanmıştır. Glukoz ve insülin değerleri incelendiğinde (Tablo 4. 3, Şekil 4. 2 ve Şekil 4. 3), DHEA verilen PKOS grubunun glukoz ve insülin değerlerinin, Kontrol ve Çözücü grubundan anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir. İnsülin direncinin değerlendirilmesinde, tek başına açlık kan glukozu ve açlık serum insülin değerleri ele alınmayıp, bunlardan elde edilen HOMA-IR hesaplanmıştır. Bu değer ise DHEA verilen PKOS grubunda en yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 4. 4, ve Şekil 4.4.). HOMA-IR değerinin >2.2

olması durumunda insülin direnci oluştuğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır (206, 207). Bizim çalışmamızda PKOS grubunun HOMA-IR değeri  $2.24 \pm 0.2$  olup, DHEA ile PKOS modeli oluşturulmasında insülin direncinin geliştirdiğini düşündürmektedir. Postnatal prepubertal sıçanlara DHEA uygulanması; östrus döngü bozukluklarına, ovaryumda kistik foliküllerin gelişmesine, dolaşımda DHEA seviyesinin artmasına, androstenedion ve testosteron seviyelerinin artmasına neden olmaktadır. Bu durum sadece ovaryum üzerine etkili olmayıp glukoz metabolizması üzerine de etkili olmaktadır (208). İnsülin direnci, ovaryan ve adreanal androjen miktarının artmasına bağlı olarak PKOS'da gelişen patolojik bir durumdur. Konu ile ilgili olarak Sun ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçanlara DHEA verilmesi sonucu HOMA-IR değerlerinin arttığını belirtilmektedir (163). Yine Sander ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise DHEA verilmesi sonucu açlık kan glukoz değerlerinde değişiklik olmazken, açlık insülin seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı rapor edilmiştir (209). Çalışmamızda DHEA verilen PKOS grubunun hem açlık kan glukozu hem de açlık insülin değerleri diğer gruplara göre artış göstermiştir. Buna bağlı olarak HOMA-IR değeri artmıştır ve bu durum DHEA verilerek PKOS modeli oluşumunda insülin direnci gelişimini destekler yöndedir.

#### **5. 1. 4. Östrus Döngüleri**

Puberteye ulaşan sıçanların östrus döngüleri vajinal sürüntü yöntemi ışık mikroskopunda 10 gün boyunca her gün incelenmiştir. Tablo 4. 5'de DHEA verilen PKOS grubunun östrus döngü tamamlama süresinin %82.1 oranında uzadığı görülmektedir. Bu bulgu, DHEA verilmesinin sıçanlarda PKOS oluşturduğuna dair destekleyici bir sonuç özelliği taşımaktadır. Çözücü ve Kontrol grupları incelendiğinde (Tablo 4. 5), bu gruplardaki sıçanların büyük bir kısmının östrus döngülerini 5. ve 6. günlerde tamamladıkları görülmektedir. Sun ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, DHEA uygulaması sonrası kontrol grubunda gözlenen 4-5 günlük östrus döngü süresinin DHEA verilen gruplarda değiştiğini, diöstrus evresinde döngünün durduğunu rapor etmişlerdir (163). Jimenez ve arkadaşlarının çalışmasında ise iki haftalık bir süreden sonra farelerin östrus döngülerinin Kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı, aynı zamanda döngülerin meteöstrus ve diöstrus evrelerinde durduğu rapor edilmiştir (210). Iwasa ve arkadaşları dişi sıçanlara 12 hafta DHEA uygulayarak, sıçanların östrus döngülerinin bozularak uzadığını bu durumun DHEA uygulamasından

kaynaklandığını belirtmişlerdir (211). Bizim çalışmamızda da sıçanlarda, östrus döngü tamamlama sürelerinin uzamasının DHEA verilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

## **5. 2. PKOS Modeli Üzerine Stres ve Exe'nin Etkilerine İlişkin Bulguların Tartışılması**

### **5. 2. 1. Ağırlık Değerleri**

Sıçanların 4 haftalık stres uygulaması sırasında alınan ağırlık değerleri incelendiğinde PKOS+Exe verilen grubun ağırlık ortalamalarının, PKOS grubuna göre düşük seyrettiği ve 4. haftada ise Kontrol grubuna yaklaştığı görülmektedir (Tablo 4. 6, Tablo 4. 7. ile Şekil 4. 6. ve Şekil 4. 7.). Aynı şekilde PKOS+Exe+Stres grubunun, PKOS+Stres grubuna göre ağırlık değerlerinin anlamlı olarak düşük olduğu görülmektedir. Burada ortaya çıkan ağırlık azalmasının Exe'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Exe, bir inkretin mimetidir ve memelilerdeki GLP-1'e benzerlik göstermektedir. GLP-1 glukoza bağlı insülin sekresyonunu artırır, glukagon sekresyonunu baskılar ve mide boşalmasını yavaşlatır. Bu nedenle genellikle Tip II diyabet ve obezite ile ilgili çalışmalarda etkileri incelenmektedir. Ancak doğal GLP-1'in yarı ömrünün kısa olması, daha uzun ömürlü olan ve GLP-1'e çok benzediği için Exe çalışmaları uygun görülmektedir (212). Kemirgenler üzerine yapılan çalışmalarda Exe'nin insülin duyarlılığını artırarak yiyecek alımını azaltarak ağırlık kaybını sağladığı belirtilmektedir (213). Szayna ve arkadaşları, sıçanlara 10 µg/kg/gün Exe uygulayıp, sıçanların 13. günden itibaren belirgin şekilde ağırlık kaybederek ve yiyecek alımlarını azalttığını rapor etmişlerdir (214). Bizim çalışmamızda Exe verilmesine bağlı olarak diğer gruplara göre ağırlık artışıdaki azalma literatürü destekler niteliktedir. Kronik orta düzeyli stres uygulamasına tabi tutulan sıçanların ağırlık değerleri Tablo 4. 6. ve Şekil 4. 6.'da gösterilmektedir. Kronik stres, HPA aksını etkileyip glukokortikoidlerin (sıçanlarda kortikosteron) artışına yol açmaktadır. Glukokortikoidler ise iştahı etkileyerek daha fazla yiyecek alımına sebep olmaktadır (215). Çalışmamızda, stres uygulanan gruplarda ağırlık artışının olduğu görülmektedir. Ancak bu ağırlık artışı diğer stres gruplarında anlamlı değilken, PKOS+Exe ve PKOS+Exe+Stres gruplarında anlamlı farklılık göstermektedir. Stres uygulanmayan grupta ağırlık artışı Exe'e bağlı olarak azalırken, stres uygulanan grupta Exe'nin etkisinin azalmasına bağlı olarak ağırlık artmıştır. Burada stresli ortamda kortikosteron seviyesinin artması ile Exe'nin

etkisinin azaldığı düşünülebilir. Çalışmamız, kronik orta düzeyli stres ortamında, uygulanan Exe'in etkisini test etme bakımından tek olma özelliğindedir.

### 5. 2. 2. LH, FSH ve LH/FSH Değerleri

Stres uygulamasından sonra sıçanlardan alınan kan örneklerinde LH, FSH ve LH/FSH oranına ait değerler incelendiğinde (Tablo 4. 8, Tablo 4. 9 ve Şekil 4. 8) belirli bir gidişat gözükmemektedir. DHEA uygulamasının LH-FSH üzerine olan etkilerini inceleyen çalışmalarda da tutarlı bulgulara erişilememiştir. Bazı çalışmalarda FSH seviyeleri değişmeyip LH seviyeleri artarken, bazı çalışmalarda da LH ve FSH değerlerinin her ikisinin de azaldığı görülmektedir. DHEA'nın PKOS modeli oluşturmasında, gonadotropinlerin rollerine ilişkin yeterli literatür bulunmamaktadır (195). Çalışmamızda PKOS grubunun LH/FSH oranı diğer gruplardan yüksek bulunmuş ve stres bu oranı düşürmüştür (PKOS+Stres grubunda). Öte yandan Exe verilen PKOS grubunda da LH/FSH oranının azalması, Exe'nin LH'yi baskılayıcı bir etkisinin olabileceğini göstermekte (163) ve bu baskılama stres ile eşdeğer düzeyde gözükmektedir. Bu etkinin Exe'nin insülin direncini düşürmüş olmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Nitekim insülin direncindeki düşüşlerin LH/FSH oranını azalttığı bildirilmiştir (163).

Exe'nin DHEA ile PKOS oluşturulan sıçanlar üzerine etkisini inceleyen çalışma sayısı çok azdır. Konu ile ilgili Sun ve arkadaşları ile Artunç-Ülkümen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalar bulunmaktadır. Her iki çalışmada da Exe'nin ovaryumlar üzerine koruyucu etkilerinin olduğundan bahsedilmektedir. Sun ve arkadaşları, DHEA ile PKOS modeli oluşturulan sıçanlarda Exe verilmesiyle LH seviyesi ile LH/FSH seviyesinin düştüğünü belirtmektedirler (163). Artunç-Ülkümen ve arkadaşları ise diyabet oluşturulan sıçanların ovaryum dokuları üzerine Exe'nin oksidatif stresi engelleyici özelliği ile fibrozis ve dejenere dokuların azaldığını rapor etmektedirler (16). Çalışmamızda ise Tablo 4. 8. ve Tablo 4. 9. incelendiğinde, PKOS modeli oluşan PKOS+Exe grubuna, Exe verilmesi ile LH seviyelerinde diğer gruplara göre anlamlı bir düşüş görülmektedir. Bunun sebebinin Exe'nin DHEA'nın oluşturduğu oksidatif stres üzerine ovaryum dokusu üzerine olumlu etkiler göstermesi ve insülin duyarlılığını azaltmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak LH ve FSH'nın sıçanlarda nabızsal salınımının belirlenmesi zordur. Bu nedenle Exe'nin ve stresin LH ve LH/FSH

oranı üzerine etkilerinin ortaya konmasında nabızsal salınımı belirlemeye yönelik kapsamlı araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

### **5. 2. 3. Açlık Kan Glukozu, Açlık Serum İnsülin Değerleri ve HOMA-IR Değerleri**

Mevcut çalışmada, stres uygulamasından önce DHEA ile PKOS modeli oluşturulan sıçanlarda, açlık kan glukozu, açlık serum insülini ve HOMA-IR değerleri yükselmiştir. Stres ve Exe uygulamasının etkileri incelendiğinde (Tablo 4. 10. ve Şekil 4. 9. ile Şekil 4. 10.); özücü grupları hariç, PKOS ile beraber stres uygulamasına maruz bırakılan grupların, açlık kan glukozu ve açlık serum insülin değerleri ve HOMA-IR değerlerinin (Tablo 4. 11 ve Şekil 4. 11) yükseldiği görölmektedir. Exe uygulaması, açlık kan glukozunu, PKOS+Exe ve PKOS+Exe+Stres gruplarında anlamlı bir Şekilde düşürmüştür. Ancak PKOS+Exe+Stres grubunda bu düşüş Kontrol ya da çözücü gruplarındaki değerden yüksektir. Burada stres ortamı altında verilen Exe'nin yeteri kadar etkili olmadığı düşünölmektedir. Exe uygulamasının insülin seviyeleri üzerine etkileri incelendiğinde, PKOS+Exe ve PKOS+Exe+Stres gruplarında diğer PKOS gruplarına göre insülin seviyesinin düştüğü ancak yine PKOS+Exe+Stres grubunda bu düşüşün, Kontrol ve çözücü gruplarına göre yüksek kaldığı görölmektedir. Aynı Şekilde HOMA-IR değerleri stresten etkilenmiş ve PKOS+Stres grubunda insülin direnci oluşturacak kadar yükselmiş görölmektedir. Exe uygulandığında ise anlamlı bir Şekilde HOMA-IR değeri düşüş göstermiş ancak PKOS+Exe+Stres grubundaki bu düşüş Kontrol ve çözücü grubunu yakalayamamıştır. Bu bulgular, insülin direnci üzerine etkili olduğu düşünölen Exe'nin etkilerinin stres ortamında azalacağına yönelik hipotezimizi destekler niteliktedir. Çünkü kronik strese maruziyet glukokortikoidlerin salınmasına neden olmakta ve vücuttaki glukoz metabolizmasını patolojik olarak etkilemektedir (216). Stres hormonları vücutta çabuk metabolize olabilen glikojen, trigliserit ve protein yıkımını artırmaktadır. Proteinlerin hidrolizinden elde edilen amino asitler, glikoneogenez ile glukozun sentezinde kullanılırlar. Katekolaminler ile karaciğer glikojeninden ve karaciğerde yağ asitleri ve gliserolden de glukoz elde edilir. Böylece akut stres durumunda bu glukoz kaynakları beyine enerji sağlamak için kullanılırken, kronik stres durumunda oluşan bu hiperglisemik tablo, periferik dokularda insülin direnci gelişmesine sebep olmaktadır (217). Stres süresince insülin, artan stres hormonlarını baskılamaktadır. Ancak akut, tekrarlamalı akut veya kronik stres

durumunda insülin, artan glukokortikoidleri baskılayamaz ve insülin direnci gelişimine sebep olur. Yapılan çalışmalarda kortikosteroid sentezini inhibe eden bileşikler uygulandığında, insülin direncinin %60-70 oranında önlenebileceği gösterilmektedir (218). Ayrıca kronik stres, insülin benzeri büyüme faktörü-1'in (IGF-1) baskılanmasına yol açmaktadır. IGF-1 seviyesinin azalması ise glukoz intoleransı, hipertansiyon, atherosklerozis ve kardiyovasküler rahatsızlıklara sebep olmaktadır. İnsan klinik çalışmalarında ise kronik stresin, sempatoadrenal aktiviteyi artırarak arteriyal kan basıncının yükselttiği, proinflamatuvar yanıtı indüklediği, prokoagülasyonu değiştirdiği, açlık glukoz, insülin ve lipit seviyeleri ile oksidatif stresi artırdığı, endotelial fonksiyon bozukluklarına sebep olduğu bildirilmektedir (190). Tablo 4. 11 ve Şekil 4. 11.'de görüldüğü üzere, PKOS+Stres grubunun HOMA-IR değeri diğer gruplardan yüksektir. Hem PKOS'tan kaynaklanan hem de stresten kaynaklanan insülin direncinin bu duruma sebep olduğu düşünülmektedir.

#### **5. 2. 4. Kortikosteron Değerleri**

Grupların kortikosteron değerleri incelendiğinde (Tablo 4. 12. ve Şekil 4. 12.) kronik orta düzeyli stres uygulanan gruplarda bu değer anlamlı olarak arttığı görülmektedir. Stres cevabı; HPA aksı ve sempatoadrenal sistem aracılığı ile düzenlenmektedir (219). Stresle beraber aktive olan bu aksta adrenal korteksten glukokortikoidlerin üretimi artmaktadır. Kan kortizol seviyesi stresin başlaması ile 30 ila 60 dakika sonra artmaya başlamaktadır. Kronik stres kortizolün uzun süreli ve artan salınımlarına sebep olmakta ve bunun sonucunda insülin direnci, yağ dokusunda trigliseritlerin birikimi, lipoprotein lipaz aktivitesinde artma ve serbest yağ asitlerinin salınımının artması gibi patolojik sonuçlar doğmaktadır (191). Marin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kronik hareket alanı kısıtlama stresinde sıçanlarda kortikosteron seviyesinin arttığını rapor etmektedirler (220). Benzer olarak Shah ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 1-2 saat uygulanan kronik stresin sıçanlarda kortikosteron seviyesini artırdığını belirtmişlerdir (221). Bizim çalışmamızda kullandığımız hareket alanı sınırlandırılmış kronik orta düzeyli stres modelinde, stres uygulanan sıçanların serum kortikosteron seviyesinde anlamlı artış olup, yapılan stres çalışmalarını destekler niteliktedir.

### **5. 2. 5. Östrus Döngüleri**

Stres uygulaması sonrası sıçanların östrus döngülerini tamamlama oranları incelendiğinde (Tablo 4. 13. ve Şekil 4. 13.), stres uygulamasının döngü tamamlama süresini uzattığı görülmektedir. Çözücü ve Çözücü+Stres grupları incelendiğinde, Çözücü+Stres grubunun döngü tamamlama süresinin uzadığı görülmektedir. Stres, PKOS olmaksızın tek başına döngü süresinin uzamasına sebep olmuştur. PKOS ile beraber bu süreler daha da uzamış ve PKOS+Stres grubunun döngü tamamlama süresi en uzun olmuştur. Exe uygulamasının bu süreyi 3 ila 4 gün öne çektiği görüldüğü de, Kontrol ve Çözücü grupları kadar azalmamıştır. Stres üreme fonksiyonlarını beyin, ön hipofiz ve ovaryum seviyelerinde etkileyerek, ovulasyon ve üreme davranışlarında fonksiyon bozukluklarına sebep olmaktadır (13). Ayrıca stres, HPA aksının aktivitesini artırarak glukokortikoid üretiminin artmasına ve üreme fonksiyonlarının olumsuz yönde etkilenmesine yol açmaktadır (13). Dişi koyunlarda yapılan çalışmalarda, üreme sistemi üzerine psikolojik stres ve buna bağlı olarak kortizolün inhibe edici etkisi gösterilmiştir. Ancak bu etkinin kortizolden mi kaynaklandığı hakkında soru işaretleri bulunmaktadır. Ralph ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kortizol ile gonadal steroidler arasında önemli etkileşimlerin olduğu gösterilmiştir (222). Kortizolün, GnRH ve LH'nin nabızsal salınımını baskıladığı belirtilerek, stres ve üreme üzerine ciddi araştırmalar yapılması gerektiği vurgulanmıştır (222). Dahası, Kala ve arkadaşları, stresin dişi farelerde östrus döngü bozukluklarına ve anovulasyona sebep olduğunu, bu durumun artan glukokortikoidlerden kaynaklandığı belirtmektedirler (223). Çalışmamızda ise östrus döngü bozukluklarından kaynaklanan östrus döngü uzaması, PKOS ile beraber stres uygulanan gruplardaki kortikosteron artışıyla paralellik göstermektedir. Buradaki östrus döngü süresinin uzamasının artan kortikosteron seviyesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

### **5. 3. Histolojik Bulguların Tartışılması**

#### **5. 3. 1. Ovaryum Bulguları**

Stres ve Exe uygulamaları ile elde edilen verileri desteklemesi açısından histolojik bulgular da değerlendirilmiştir. Mevcut tez çalışmasında, ovaryumları histolojik olarak incelenen sıçanların, PKOS ve PKOS+Stres gruplarında kistik folikül sayılarının Kontrol grubuna göre anlamlı arttığı ve sağlıklı folikül sayılarının ise anlamlı olarak

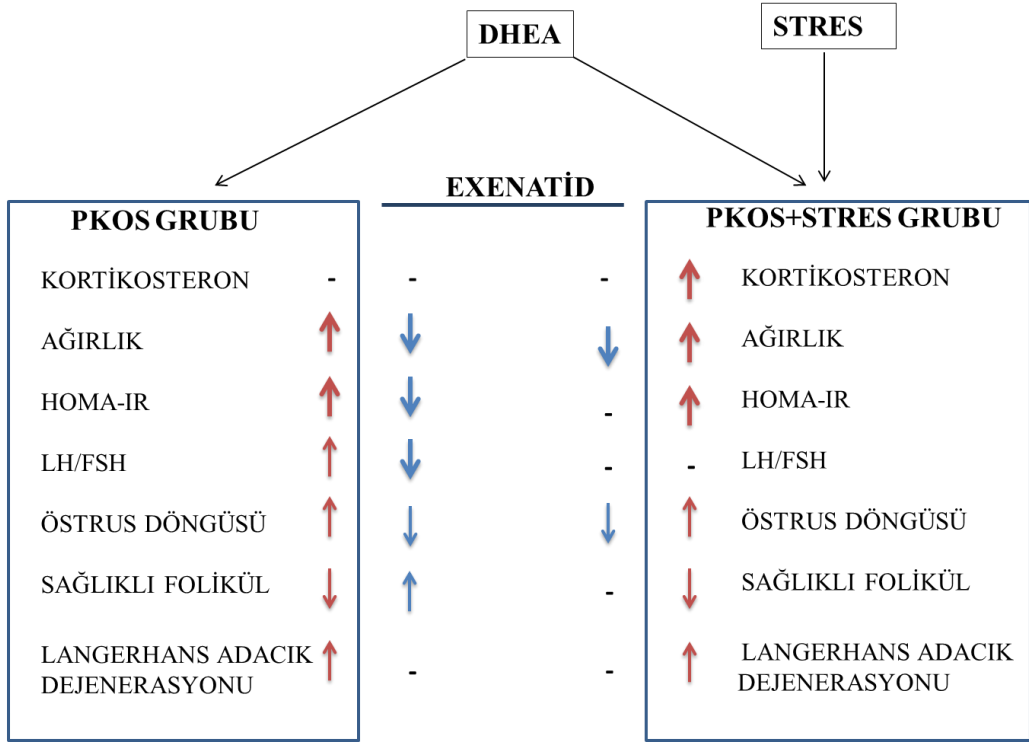
azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum, DHEA'nın PKOS modeli oluşturmada etkin bir ajan olduğunu göstermektedir. DHEA uygulaması ile serum androjen seviyelerinin artması, ovaryum bozuklukları ve ovaryum kistleri ile ilişkili bulunmaktadır (224). Lee ve arkadaşları, dişi sıçanlara 10 gün boyunca DHEA uyguladıklarında, serum androstenedion ve testosteron seviyelerinin arttığını ve bu hormonların yüksek seviyede olduğu sıçanlarda kistik yapılar geliştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca 20 gün DHEA uyguladıklarında ise serum östrodiol (E2) ve östron (E1) seviyelerinin artarak ovaryum kistlerinin geliştiğini belirlemişlerdir (225). Benzer olarak Singh ve arkadaşlarının farelere DHEA uygulayıp PKOS modeli oluşturduğu çalışmada, artan testosteron ve androjen miktarına bağlı olarak kistik yapıların geliştiği belirtilmiştir (226). Yine Lee ve arkadaşları yaptıkları çalışmada DHEA verilen grupların serum LH ve FSH seviyelerine ilişkin anlamlı fark bulamamışlardır. Bu durumda gonadotropinlerin kistik oluşum üzerine ikincil dereceden dâhil olduğunu savunmuşlardır (225). Bizim çalışmamızda da DHEA uygulaması sonucu kistik yapılar gelişmiş ve sağlıklı folikül sayısı azalmıştır. Exe uygulaması PKOS+Exe grubunda sağlıklı folikül sayısını anlamlı derecede artırmıştır. Exe'in, DHEA ile PKOS oluşumu üzerine etkileri konusunda az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda Exe'nin androjen ve insülin seviyelerinin azalmasını sağlayarak endometriyum ve ovaryum mikroçevresi üzerine koruyucu etkilerinden bahsedilmektedir (16,163). Diğer yandan stres uygulanan Çözücü+Stres, PKOS+Stres ile PKOS+Exe+Stres ve stres uygulanmayan Çözücü, PKOS ile PKOS+Exe grupları arasında kistik ve sağlıklı folikül sayıları açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Bizim çalışmamız stres ortamında PKOS durumunun değerlendirilmesinde ilki teşkil etmektedir. Bu nedenle konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

### **5. 3. 2. Pankreas Bulguları**

Mevcut tez çalışmasında, PKOS'dan kaynaklandığını düşündüğümüz insülin direnci gelişimi üzerine Exe'nin etkilerinin pankreas dokusunda da histolojik olarak incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu bağlamda, PKOS'un Langerhans adacıklarının konturlarında bozulmalara sebep olduğu ve adacık sinüzoidlerinde dilatasyona sebep olduğu görülmüştür. Konu ile ilgili olarak Ramaswamy ve arkadaşları PKOS hastalarında insülin direncinin gelişmesinin pankreatik fonksiyon bozukluklarından kaynaklandığını ve bu nedenle pankreasın, PKOS gelişiminde başlıca

odak noktasını olduğunu belirtmektedir. Maymunlar ve koyunlar üzerinde yaptıkları çalışmada prenatal aşırı androjene maruz kalma sonucu dişi hayvanlarda PKOS'la beraber pankreas Langerhans adacıklarının bozulmalarını olduğunu belirtmektedirler (227). Mevcut tez çalışmasında da DHEA verilerek PKOS oluşturulan grupların pankreas dokularında, Kontrol grubuna göre bozukluklar olduğu görülmektedir. Bu durumun sıçanlara uygulanan DHEA'dan kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer yandan stres grupları kendi kontrolleri ile karşılaştırıldığında dejeneratif değişikliklerin olduğu ancak bu bozulmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmektedir. Bu durumda kronik orta düzeyli stresin pankreas fonksiyonlarını bozacak kadar etkili olmadığı düşünülmektedir. Zardooz ve arkadaşları, erkek sıçanlara kronik psikolojik stres uygulayıp, stresle beraber artan büyüme hormonunun ve glukokortikoidlerin hem plazma glukoz düzeyini artırdığını hem de pankreas beta hücrelerinin uyarımını artırdığını belirtmektedirler (228). Çalışmamızda da stres uygulanan gruplarda gözlenen pankreas sinüzoidlerinin dilatasyonun, stres uygulaması ile artan kortikosteron seviyelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Exe verilen gruplarda ise anormal Langerhans adacıklarının PKOS gruplarına göre azaldığı görülmektedir. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olmazken, Exe'nin pankreas üzerine etkilerini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda Exe'nin pankreatik beta hücre fonksiyonlarını artırdığı belirtilmektedir (229). Omer ve arkadaşlarının erkek diyabetik sıçanlarla yaptıkları çalışmada, Exe'in pankreasın beta hücre yenilenmesini artırdığını ve plazma insülin seviyesini artırdığını belirtmektedirler. Bu durumun Exe'in GLP-1 agonisti olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir (230). Ancak bazı çalışmalarda Exe'nin pankreatite sebep olduğuna dair sonuçlar da ortaya çıkmaktadır (231). 1000 hastadan 0.34-0.44 arasında pankreatit geliştiği ancak bu riskin diyabetten de kaynaklanmış olabileceği de düşünülmektedir (232). Bizim çalışmamızda ise Exe'in 30 gün boyunca verilmesi sonucu herhangi bir pankreatit durumu gözlenmemiştir.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçların özeti şekil 5. 1.'de gösterilmiştir.



**Şekil 5. 1.** Exenatidin PKOS ve PKOS+Stres gruplarına etkilerinin özeti.

(PKOS ve PKOS+Stres grubundaki değişen değerler Kontrol grubuna göre değerlendirilmiştir. Kalın oklar  $p=0.001$  düzeyinde anlamlılık ifade ederken, ince oklar  $p=0.05$  düzeyinde anlamlılık ifade eder.)

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. DHEA uygulanarak sıçanlarda PKOS modeli ve insülin direncinin oluştuğu gözlenmiştir.
2. DHEA uygulaması sıçanlarda ovaryan bozukluklar ve kistik yapılar oluşturmuş ve östrus döngülerini bozarak, döngü tamamlama sürelerini geciktirmiştir.
3. DHEA uygulaması ile sıçanlarda PKOS modeli oluşturulmasında, LH ve FSH değerleri değişmemekle beraber, anahtar rol oynamadığı literatürle de desteklenmiştir.
4. PKOS oluşan grupların Langerhans adacıklarının konturlarlarında bozukluklar gözlenmiştir.
5. Exe verilen gruplarda ağırlık artışı ve insülin direnci azalmıştır.
6. Kronik orta düzeyli stres protokolü başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Stres uygulaması yapılan sıçanların kortikosteron seviyeleri, stres uygulanmayan gruplara göre anlamlı artış göstermiştir.
7. Stresle beraber insülin direnci gelişimini artmış ve stres uygulanan grupların östrus döngülerini tamamlama süreleri uzamıştır.
8. Exe'in stres ortamında etkisinin azalmasından dolayı insülin direncine, östrus döngü bozukluklarına, ovaryan ve pankreas bozukluklarına olan iyileştirici etkisinin azaldığı görülmüştür.
9. PKOS'tan kaynaklanan insülin direnci tedavisi için kullanılması öngörülen Exe'in, kronik orta düzeyli stres ortamında etkisinin azalacağı hipotezimiz, çalışmamızla doğrulanmaktadır.

Deney hayvanlarında insanlardakine benzer PKOS modeli oluşturulmasında altın bir standart bulunmamaktadır. Fakat bizim uyguladığımız yöntem, sıçanlarda ağırlık artışı, insülin direnci gelişimi, östrus döngü bozuklukları ile buna bağlı olarak östrus döngülerinin uzaması ve ovaryumlarında kistik yapılar oluşması bakımından uygun gözükmektedir.

Stres uygulanan deney hayvanları, stres uygulaması dışındaki diğer stres durumlarından izole edilmelidir. Stresin önemli bir etken olduğu bu nedenle, deney hayvanlarında metabolik, endokrin ve üreme ile ilgili çalışmalar yapılırken, ortamın stresten uzak olmasının önemi bir kez daha vurgulanmış olmaktadır.

PKOS üzerine birçok çalışma yapılmakta ve halen etkili bir tedavi yöntemi geliştirilememektedir. Bu tedaviler uygulanırken kadınların stres durumlarının değerlendirilmesi ve stresin ortadan kaldırılmasına yönelik uygulamaların yapılması zorunlu görülmektedir.

Yine çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre, insülin direnci ve buna bağlı olarak diyabetin de stresten etkilendiği görülmektedir. Strese karşı koruyucu tedbirler alındığı takdirde dünya genelinde endemik olarak gözlenmeye başlayan diyabetin önlenmesine önemli bir katkı yapacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Lecke SB, Morsch DM, Spritzer PM. Association between adipose tissue expression and serum levels of leptin and adiponectin in women with polycystic ovary syndrome. *Genet Mol Res* 2013, 1: 4292-6.
2. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Legro RS, Balen AH, Lobo R, Carmina H, Chang RJ, Yildiz BO, Laven JS, Boivin J. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2012, 1: 14-24.
3. Talbott EO, Zborowski JV, Rager JR, Kip KE, Xu X, Orchard TJ. Polycystic ovarian syndrome (PCOS): a significant contributor to the overall burden of type 2 diabetes in women. *J Womens Health* 2007, 1: 191-7.
4. Homburg R. Pregnancy complications in PCOS. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006, 30: 281-92.
5. Akın L. Adolesanlarda hiperandrojenizm. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*. 2012, 22: 48-52.
6. Hughes C, Elgasim M, Layfield R, Atiomo W. Genomic and post-genomic approaches to polycystic ovary syndrome-progress so far: mini review. *Hum Reprod* . 2006 1: 2766-75.
7. San Millán JL, Cortón M, Villuendas G, Sancho J, Peral B, Escobar-Morreale HF. Association of the polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 1: 2640-6.
8. Baskind NE, Balen AH. Hypothalamic–pituitary, ovarian and adrenal contributions to polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2016, 1.
9. Yıldız BO, Gedik O. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: hyperandrogenemia versus normoandrogenemia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001, 10: 62-6.
10. Marx TL, Mehta AE. Polycystic ovary syndrome: pathogenesis and treatment over the short and long term. *Cleve Clin J Med* 2003, 1: 31-45.
11. Elkind-Hirsch K, Marrisonaux O, Bhushan M, Vernor D, Bhushan R. Comparison of single and combined treatment with exenatide and metformin on menstrual cyclicity in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008, 93: 2670-8.

12. Khani S, Tayek JA. Cortisol increases gluconeogenesis in humans: its role in the metabolic syndrome. *Clin Sci* 2001, 1: 739-47.
13. Kyrou I, Tsigos C. Stress, visceral obesity, and gonadal function. *Avrup Anır.* 2008:188.
14. Tanrıverdi F, Coşkun R, Güven M. Kritik hastalığa bağlı hiperglisemi ve insülin direnci: patofizyolojideki son gelişmeler ve klinik yaklaşım. *Yoğun Bakım Dergisi* 2007, 7: 446-51.
15. Tahrani AA, Bailey CJ, Del Prato S, Barnett AH. Management of type 2 diabetes: new and future developments in treatment. *The Lancet* 2011, 15: 182-97.
16. Artunc-Ulkumen B, Pala HG, Pala EE, Yavasoglu A, Yigitturk G, Erbas O. Exenatide improves ovarian and endometrial injury and preserves ovarian reserve in streptozocin induced diabetic rats. *Gynecol Endocrinol* 2015, 4: 196-201.
17. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology. Çeviri: Demir R. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, 1. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 565-7.
18. Olivetti L, Grazioli L, Pollastri P. *Female reproductive system. In Atlas of Imaging Anatomy*, 1<sup>th</sup> ed. Cremona, Springer International Publishing, 2015: 207-19.
19. Widmaier EP, Raff H, Strang K T. *Vander's Human Physiology: The Mechanism of Body Function*. 12<sup>th</sup> ed. New York, McGrawHill, 2010: 674.
20. Homburg R. *Ovulation Induction and Controlled Ovarian Stimulation*. 2<sup>th</sup> ed. London, Springer, 2014: 18.
21. White BA. The Endocrine and Reproductive Systems. In: Berne RM, Bruce MK, Bruce AS (eds). *Berne & Levy physiology*. 6<sup>th</sup> ed. Brasil, Mosby, 2008: 651-797.
22. Ross MH, Pawlina W. *Histology a Text and Atlas*, 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 830-96.
23. Gougeon A, Dynamics for Human Follicular Growth: Morphologic, Dynamic, and Functional Aspects. In: Peter CKL, Adashi EY (eds). *The Ovary*. 2<sup>th</sup> ed. California, Academic Press, 2003: 25-38.
24. Gilling-Smith CA, Willis DS, Beard RW, Franks ST. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994, 79: 1158-65.

25. Gilling-Smith C, Story H, Rogers V, Franks S. Evidence for a primary abnormality of thecal cell steroidogenesis in the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 1997, 1: 93-9.
26. Magoffin DA. Ovarian theca cell. *Int J Biochem Cell Biol* 2005, 31: 1344-9.
27. Himmelstein-Braw R, Byskov AG, Peters H, Faber M. Follicular atresia in the infant human ovary. *J Reprod Fertil* 1976, 1: 55-9.
28. Fehring RJ, Schneider M, Raviele K. Variability in the phases of the menstrual cycle. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2006, 1: 376-84.
29. Daabis H, Gelbaya TA. Fertility in women. In: Hollins-Martin CJ, Van den Akker O, Martin C, Preedy VR (eds). *Handbook of diet and nutrition in the menstrual cycle, periconception and fertility*. 1<sup>th</sup> ed. The Netherlands Wageningen Academic Publishers, 2014: 33-47.
30. Homburg R. A Potted History of Ovulation Induction. In ovulation induction and controlled ovarian stimulation. Springer International Publishing. 2014: 1-6.
31. Filicori M, Butler JP, Crowley Jr WF. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. Evidence for pulsatile progesterone secretion. *J Clin Invest* 1984, 73: 1638.
32. Hall JE. The Ovary, Infertility and Contraception. In: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, (eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2012. p. 3028–39.
33. Maggi R, Cariboni AM, Marelli MM, Moretti RM, Andrè V, Marzagalli M, Limonta P. GnRH and GnRH receptors in the pathophysiology of the human female reproductive system. *Hum Reprod Update* 2016, 1: dmv059.
34. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia. Elsevier Health Sciences, 2016: 11-39.
35. Kustritz MV. Reproductive behavior of small animals. *Theriogenology* 2005, 31: 734-46.
36. Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol* 2002, 62: 609-14.
37. Aslankara M, Sıçanların Farklı Östral Evrelerinde Uygulanan Akut ve Kronik Stresin EEG ve Dendritik Uzantılar Üzerine Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü,

- Sinirbilim Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2013.
38. Goldman JM, Murr AS, Cooper RL. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2007, 1: 84-97.
  39. Azziz R. Androgen excess disorders in women. Springer Science & Business Media; 2007.
  40. Pal L. *Polycystic Ovary Syndrome: Current and Emerging Concepts*. 1<sup>th</sup> ed. New Haven, Springer Science & Business Media. 2013.
  41. Stein AL. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1935, 29: 181-91.
  42. Balen A, Michelmore K. What is polycystic ovary syndrome? Are national views important? *Hum Reprod* 2002, 1: 2219-27.
  43. Atiomo WU, Pearson S, Shaw S, Prentice A, Dubbins P. Ultrasound criteria in the diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS). *Ultrasound Med Biol.* 2000, 31: 977-80.
  44. Stein Sr IF. The Stein-Leventhal Syndrome: A curable form of sterility. *N Engl J Med* 1958, 28: 420-3.
  45. Keettel WC, Bradbury JT, Stoddard PJ. Observations on the polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1957, 73: 954-65.
  46. McArthur JW, Ingersoll FM, Worcester J. The urinary excretion of interstitial-cell and follicle-stimulating hormone activity by women with diseases of the reproductive system. *J Clin Endocrinol Metab.* 1958, 18: 1202-15.
  47. Ingersoll FM, McArthur JW. Longitudinal studies of gonadotropin excretion in the Stein-Leventhal syndrome. *Obstet Gynecol Surv* 1959, 1: 581-4.
  48. Taymor ML, Barnard R. Luteinizing hormone excretion in the polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1961, 13: 501-12.
  49. Yen SS, Vela P, Rankin J. Inappropriate secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1970, 30: 435-42.
  50. Hughesdon PE. Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called "hyperthecosis". *Obstet Gynecol Surv.* 1982, 1: 59-77.
  51. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995, 28: 853-61.

52. Raj SG, Thompson IE, Berger MJ, Talert LM, Taymor ML. Diagnostic value of androgen measurements in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1978, 1: 169-71.
53. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril* 2009, 28: 456-88.
54. Johnson T, Kaplan L, Ouyang P, Rizza R. National Institutes of Health evidence-based methodology workshop on polycystic ovary syndrome (PCOS). NIH EbMW Report. Bethesda, *National Institutes of Health* 2012, 1: 1-14.
55. Rotterdam ESHRE / ASRM- Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to polycystic ovary syndrome. *FertilSteril* 2004, 81: 19-25.
56. Livadas S, Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovary syndrome: definitions, phenotypes and diagnostic approach. *In Polycystic Ovary Syndrome* 2012, 40: 1-21).
57. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, ... Witchel SF. Criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an androgen excess society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, 91: 4237-45.
58. Goodarzi MO, Carmina E, Azziz R. Dhea, Dheas and Pcos. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015, 145: 213-25.
59. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. *Polycystic ovary syndrome*. 1992, 4: 377-84.
60. Ehrmann DA, Rosenfield RL, Barnes RB, Brigell DF, Sheikh Z. Detection of functional ovarian hyperandrogenism in women with androgen excess. *N Engl J Med* 1992, 327: 157-62.
61. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis 1. *Endocr Rev* 1997, 1: 774-800.
62. Iliodromiti S, Kelsey TW, Anderson RA, Nelson SM. Can anti-Müllerian hormone predict the diagnosis of polycystic ovary syndrome? A systematic review and meta-analysis of extracted data. *J Clin Endocrinol Metab* 2013, 17: 3332-40.

63. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DIW, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod* 2010, 25: 544–51.
64. Yildiz BO, Bozdogan G, Yapici Z, Esinler I, Yarali H. Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria. *Hum Reprod* 2012, 27: 3067–73.
65. Broekmans FJ, Knauff EA, Valkenburg O, Laven JS, Eijkemans MJ, Fauser BC. PCOS according to the Rotterdam consensus criteria: change in prevalence among WHO-II anovulation and association with metabolic factors BJOG: Int J Gynaecol Obstet 2006, 1: 1210-7.
66. Azziz R, Marin C, Hoq L, Badamgarav E & Song P. Health care-related economic burden of the polycystic ovary syndrome during the reproductive life span. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90: 4650–58.
67. Moran LJ, Norman RJ, Teede HJ. Metabolic risk in PCOS: phenotype and adiposity impact. *Trends Endocrinol Metab* 2015, 31: 136-43.
68. Webber LJ, Stubbs S, Stark J, Trew GH, Margara R, Hardy K, Franks S. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *The Lancet* 2003, 27: 1017-21.
69. Sir-Petermann T, Codner E, Pérez V, Echiburú B, Maliqueo M, Ladron de Guevara A, Preisler J, Crisosto N, Sánchez F, Cassorla F, Bhasin S. Metabolic and reproductive features before and during puberty in daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2009, 94: 1923-30.
70. Trikudanathan S. Polycystic ovarian syndrome. *Med Clin North Am* 2015 31: 221-35.
71. Dewailly D, Lujan ME, Carmina E, Cedars MI, Laven J, Norman RJ, Escobar-Morreale HF. Definition and significance of polycystic ovarian morphology: a task force report from the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Hum Reprod Update* 2014, 1: 334-52.
72. ESHRE, The Rotterdam; GROUP, ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *FertilSteril* 2004, 81: 19-25.
73. Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 2003, 9: 505-14.

74. Moschos E, Twickler DM. Prediction of polycystic ovarian syndrome based on ultrasound findings and clinical parameters. *J Clin Ultrasound* 2015, 43: 157-63.
75. Heineman MJ, Thomas CM, Doesburg WH, Rolland R. Hormonal characteristics of women with clinical features of the polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1984, 17: 263-71.
76. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *Medicine* 2013, 41: 553-56.
77. Wild RA, Vesely S, Beebe L, Whitsett T, Owen W. Ferriman Gallwey self-scoring I: performance assessment in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90: 4112-4.
78. Conway GS, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, et al. The polycystic ovary syndrome: an endocrinological perspective from the European Society of Endocrinology. *Eur J Endocrinol* 2014, 171: 489-98.
79. DeUgarte CM, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril* 2005, 83: 1454-60.
80. Tamega Ade A, Aranha AM, Guiotoku MM, et al. Association between skin tags and insulin resistance. *An Bras Dermatol* 2010, 5: 25-31.
81. Ferik P, Teran N, Gersak K. The (TAAAA)n microsatellite polymorphism in the SHBG gene influences serum SHBG levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007, 22: 1031-6.
82. Kelly CJ, Speirs A, Gould GW, et al. Altered vascular function in young women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87: 742-6.
83. Talbott E, Guzick D, Clerici A, et al. Coronary heart disease risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995, 15: 821-6.
84. Tasali E, Van Cauter E, Ehrmann DA. Relationships between sleep disordered breathing and glucose metabolism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, 91: 36-42.
85. Schwimmer JB, Khorram O, Chiu V, et al. Abnormal aminotransferase activity in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2005, 83: 494-7.
86. Diamanti-Kandarakis E, Katsikis I, Piperi C, Kandaraki E, Piouka A, Papavassiliou AG & Panidis D. Increased serum advanced glycation end-

- products is a distinct finding in lean women with polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology* 2008, 69: 634–41.
87. Barry JA, Kuczmierczyk AR, Hardiman PJ. Anxiety and depression in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2011, 26: 2442–51.
  88. Hollinrake E, Abreu A, Maifeld M, Van Voorhis BJ, Dokras A. Increased risk of depressive disorders in women with polycystic ovary syndrome. *FertilSteril* 2007, 87: 1369-76.
  89. Tsilchorozidou T, Overton C, Conway GS. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2004, 60: 1-17.
  90. Johansson J, Stener-Victorin E. Polycystic ovary syndrome: effect and mechanisms of acupuncture for ovulation induction. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013.
  91. Hague WH, Adams J, Reeders ST, Peto TEA, Jacobs HS. Familial polycystic ovaries: a genetic disease? *Clin Endocrinol* 1988, 29: 593–605.
  92. 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.
  93. Goodarzi MO. Looking for polycystic ovary syndrome genes: rational and best strategy. *Semin Reprod Med* 2008, 26: 5–13.
  94. Ezeh U, Yildiz BO, Azziz R. Referral bias in defining the phenotype and prevalence of obesity in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2013, 98:1088–96.
  95. Gharib SD, Wierman ME, Shupnik MA, Chin WW. Molecular biology of the pituitary gonadotropins. *Endocr Rev* 1990, 11: 177–99.
  96. Taylor AE, McCourt B, Martin MA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, Hall JE. Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, 82: 2248–56.
  97. Cheung AP, Lu JK, Chang RJ. Pulsatile gonadotrophin secretion in women with polycystic ovary syndrome after gonadotrophinreleasing hormone agonist treatment. *Hum Reprod* 1997, 12: 1156–64.
  98. Pagan YL, Srouji SS, Jimenez Y, Emerson A, Gill S, Hall JE. Inverse relationship between luteinizing hormone and body mass index in polycystic

- ovary syndrome: investigation of hypothalamic and pituitary contributions. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, 91: 1309–16.
99. Christman GM, Randolph JF, Kelch RP, Marshall JC. Reduction of gonadotropin-releasing hormone pulse frequency is associated with subsequent selective follicle-stimulating hormone secretion in women with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1991, 72: 1278–85.
  100. Franks S. Polycystic ovary syndrome: A changing perspective. *Clin. Endocrinol.* 1989, 31: 87–120.
  101. Franks S. The ubiquitous polycystic ovary. *J. Endocrinol* 1991, 129: 317–9.
  102. Stephens J, Carey AH, Short F, Williamson R. Franks S. Premature balding, the male phenotype of polycystic ovaries (PCO). *J Endocrinol* 1993, 139: 031.
  103. Ebling FJG. The biology of hair. *Dermatol Clin* 1987, 5: 467–81.
  104. Lobo RA. Hirsutism in polycystic ovary syndrome: current concepts. *Clin Obstet Gynecol* 1991, 34: 817–26.
  105. Palacios S. Androgens and female sexual function. *Maturitas* 2007, 57: 61-5.
  106. Yildiz BO, Azziz R. The adrenal and polycystic ovary syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* 2007, 8: 331–42
  107. Memi G. Orta derecede egzersizin kronik stres yanıtına etkisine bu etkide over hormonlarının rolü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2015.
  108. Lachelin GC, Barnett M, Hopper BR, Brink G, Yen SS Adrenal function in normal women and women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1979, 49: 892– 98.
  109. Gharani N, Waterworth DM, Batty S, White D, Gilling-Smith C, Conway GS. Association of the steroid synthesis gene CYP11a with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. *Hum Mol Genet* 1997, 6: 397–402.
  110. DeVore NM, Scott EE. Structures of cytochrome P450 17A1 with prostate cancer drugs abiraterone and TOK-001. *Nature* 2012, 482: 116-9.
  111. Gilep AA, Sushko TA, Usanov SA. At the crossroads of steroid hormone biosynthesis: the role, substrate specificity and evolutionary development of CYP17. *Biochim Biophys Acta* 2011, 1814: 200–9.
  112. Amato P, Simpson JL. The genetics of polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2004, 18: 707-18.
  113. Magoffin DA. Ovarian theca cell. *Int J Biochem Cell Biol* 2005, 37: 1344-9.

114. Pache TD, Hop WC, de Jong FH, et al. 17beta-Oestradiol, androstenedione and inhibin levels in fluid from individual follicles of normal and polycystic ovaries, and in ovaries from androgen treated female to male transsexuals. *Clin Endocrinol Oxf* 1992, 36: 565–71.
115. Baird DT, Corker CS, Davidson DW, Hunter WM, Michie EA, Van Look P F. Pituitary–ovarian relationships in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1977, 45: 798–801.
116. Laven JS, Imani B, Eijkemans MJ, de Jong FH, Fauser BC. Absent biologically relevant associations between serum inhibin B concentrations and characteristics of polycystic ovary syndrome in normogonadotrophic anovulatory infertility. *Hum Reprod* 2001, 16: 1359–64.
117. Waldstreicher J, Sandtoro NF, Hall JE, Filicor M, Crowley Jr WF. Hyperfunction of the hypothalamic–pituitary axis in women with polycystic ovarian disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization. *J Clin Endocrinol Metab* 1988, 66: 165–72.
118. Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P, et al. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinol* 2002, 143: 1076–84.
119. Pawelczak M, Kenigsberg L, Milla S, Liu YH & Shah B. Elevated serum anti-Mullerian hormone in adolescents with polycystic ovary syndrome: relationship to ultrasound features. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2012, 25: 983–9.
120. Pellatt L, Rice S, Mason HD. Anti-Mullerian hormone and polycystic ovary syndrome: a mountain too high? *Reproduction* 2010, 139: 825–33.
121. Piouka A, Farmakiotis D, Katsikis I, Macut D, Gerou S & Panidis D. Anti-Mullerian hormone levels reflect severity of PCOS but are negatively influenced by obesity: relationship with increased luteinizing hormone levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009, 296: 238–43.
122. Catteau-Jonard S, Bancquart J, Poncelet E, Lefebvre-Maunoury C, Robin G & Dewailly D. Polycystic ovaries at ultrasound: normal variant or silent polycystic ovary syndrome? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012, 40: 223–29.
123. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH & Fauser BC. Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and

- anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89: 318–23.
124. Rosenfield RL, Wroblewski K, Padmanabhan V, Littlejohn E, Mortensen M, Ehrmann DA. Antimüllerian hormone levels are independently related to ovarian hyperandrogenism and polycystic ovaries. *Fertil Steril* 2012, 98: 242-9.
  125. Tal R, Seifer DB, Khanimov M, Malter HE, Grazi RV, Leader B. Characterization of women with elevated antimüllerian hormone levels (AMH): correlation of AMH with polycystic ovarian syndrome phenotypes and assisted reproductive technology outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2014, 211: 59.
  126. Conway G, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Franks S, Gambineri A, ... Yildiz BO. The polycystic ovary syndrome: a position statement from the European Society of Endocrinology. *Eur J Endocrinol* 2014, 171: 1-29.
  127. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovarian syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997, 18: 774–800.
  128. Bebek DAK, Pehlivanoglu DV. Polikistik Over Sendromlu Hastaların Reprodüktif Çağdaki Anne Ve Kız Kardeşlerinde Endokrin Ve Metabolik Parametrelerin Değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2011, 21: 148-54.
  129. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocr Rev* 2012, 33: 981–1030.
  130. Baysal B. Polikistik over sendromu ve hirsutizm. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi* 2008, 63: 99-107.
  131. Diamanti-Kandarakis E, Nestler JE, Panidis D, Pasquali R. Insulin resistance and polycystic ovarian syndrome: pathogenesis, evaluation, and treatment. *Springer Science & Business Media* 2009, 112.
  132. Kahn CR, Flier JS, Bar RS et al. The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. Insulin-receptor disorders in man. *N Engl J Med* 1976, 294: 739–45.

133. Taylor SI, Dons RF, Hernandez E, Roth J, Gorden P. Insulin resistance associated with androgen excess in women with autoantibodies to the insulin receptor. *Ann Intern Med* 1982, 97: 851–5.
134. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980, 50: 113–6.
135. Ehrmann DA, Sturis J, Byrne MM, Karrison T, Rosenfield RL, Polonsky KS. Insulin secretory defects in polycystic ovary syndrome. Relationship to insulin sensitivity and family history of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1995a, 96: 520–7.
136. Holte J, Bergh T, Berne C, Wide L, Lithell H. Restored insulin sensitivity but persistently increased early insulin secretion after weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995, 80: 2586–93.
137. Mayer SB, Evans WS, Nestler JE. Polycystic ovary syndrome and insulin: our understanding in the past, present and future. *Women's Health* 2015, 11: 137-49.
138. Ibanez L, Potau N, Zampolli M, Rique S, Saenger P, Carrascosa A. Hyperinsulinemia and decreased insulin-like growth factor-binding protein-I are common features in prepubertal and pubertal girls with a history of premature pubarche. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, 82: 2283-8.
139. Franks S, Gilling -Smith C, Watson H, Willis D. Insulin action in the normal and polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999, 28: 361-78
140. Plum L, Belgardt BF, Bruning JC. Central insulin action in energy and glucose homeostasis. *J Clin Invest* 2006, 116: 1761–6.
141. Ciaraldi TP, Aroda V, Mudaliar S, Chang RJ, Henry RR. Polycystic ovary syndrome is associated with tissue-specific differences in insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2009, 94: 157–63.
142. Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest*. 1995, 96: 801–10.
143. Corbould A, Kim Y-B, Youngren JF, Pender C, Kahn BB, Lee A, et al. Insulin resistance in the skeletal muscle of women with PCOS involves intrinsic and

- acquired defects in insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005, 288: 1047–54.
144. Rosenbaum D, Haber RS, Dunaif A. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: decreased expression of GLUT-4 glucose transporters in adipocytes. *Am J Physiol* 1993, 264: 197–02.
  145. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawat T, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest* 2000, 105: 311–20.
  146. Doğan AL, Guc D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004, 35.
  147. Nelson-Degrave VL, Wickenheisser JK, Hendricks KL, Asano T, Fujishiro M, Legro RS, et al. Alterations in mitogen-activated protein kinase kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome. *Mol Endocrinol* 2005, 19: 379–90.
  148. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Decreases in ovarian cytochrome P450c17 alpha activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996, 335: 617–23.
  149. Nestler JE, Barlascini CO, Matt DW et al. Suppression of serum insulin by diazoxide reduces serum testosterone levels in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1989, 68: 1027–32.
  150. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes care* 2004, 27: 1487-95.
  151. Salgado ALFDA, Carvalho LD, Oliveira AC, Santos VND, Vieira JG, Parise ER. Insulin resistance index (HOMA-IR) in the differentiation of patients with non-alcoholic fatty liver disease and healthy individuals. *Arquivos de gastroenterologia*, 2010, 47: 165-9.
  152. De Almeida AR, Monte-Alegre S, Zanini MB, Souza AL, Etchebehere M, Gontijo JA. Association between prehypertension, metabolic and inflammatory markers, decreased adiponectin and enhanced insulinemia in obese subjects. *Nutr Metab (Lond)* 2014, 2: 11–25.
  153. Moran L, Teede H. Metabolic features of the reproductive phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2009, 1: 1-12.

154. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes care* 2000, 23: 57-63.
155. Hatun Ş. Çocukluk çağında obezite ve insülin rezistansı. *Turk J Endocrinol Metab* 2003, 7: 023-6.
156. Bremer AA. Polycystic ovary syndrome in the pediatric population. *Metab Syndr Relat Disord* 2010, 8: 375-94.
157. Turner-McGrievy GM, Davidson CR, Wingard EE, Wilcox S, Frongillo EA. Comparative effectiveness of plant-based diets for weight loss: A randomized controlled trial of five different diets. *Nutrition* 2014.
158. Haqq L, McFarlane J, Dieberg G, Smart N. Effect of lifestyle intervention on the reproductive endocrine profile in women with polycystic ovarian syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine connections* 2014, 3: 36-46.
159. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibitors for the treatment of infertility. *Expert Opin Investig Drugs* 2003,12: 353–71.
160. Lebbi I, Temime RB, Fadhlou A, Feki A. Ovarian drilling in PCOS: is it really useful? *Frontiers in surgery* 2015, 2: 1-3.
161. Sheehan MT. Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management. *J. Clin Med Res* 2004, 2: 13-27.
162. Tura A, Göbl C, Pacini G. Effects of antidiabetic agents on pancreatic beta-cell function in gestational diabetes: is there enough evidence? *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2016, 1-5.
163. Sun L, Ji C, Jin L, Bi Y, Feng W, Li P,.. Zhu D. Effects of Exenatide on Metabolic Changes, Sexual Hormones, Inflammatory Cytokines, Adipokines, and Weight Change in a DHEA-Treated Rat Model. *Reprod Sci* 2016, 1-8.
164. Kolterman OG, Buse JB, Fineman MS, Gaines E, Heintz S, Bicsak TA, Taylor K, Kim D, Aisporna M, Wang Y, Baron AD. Synthetic exendin-4 (exenatide) significantly reduces postprandial and fasting plasma glucose in subjects with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88: 3082–89.
165. Dungan K, Buse JB. Exenatide and GLP-1: Novel Treatments for Type 2 Diabetes. A GLP-1 medication would be the first drug to stimulate insulin

- secretion without causing hypoglycemia or weight gain. *Diabetic Microvascular Complications Today* 2005, 16-19.
166. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *The Lancet* 2006, 368: 1696-05.
  167. Nielsen LL, Young AA, Parkes DG. Pharmacology of exenatide (synthetic exendin-4): a potential therapeutic for improved glycemic control of type 2 diabetes. *Regulatory peptides* 2004, 117: 77-88.
  168. Tourrel C, Bailbe' D, Meile M-J, Kergoat M, Portha B. Glucagon-like peptide-1 and exendin-4 stimulate h-cell neogenesis in streptozotocintreated newborn rats resulting in persistently improved glucose homeostasis at adult age. *Diabetes* 2001, 50: 1562– 70.
  169. Bienertová-Vasku J, Zlámál F, Necesánek I, Konecný D, Vasku A. Calculating Stress: From Entropy to a Thermodynamic Concept of Health and Disease. *PLoS One* 2016, 11:1.
  170. Weiss IC, Pryce CR, Jongen-Relo AL. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behav Brain Res* 2004, 152: 279–95.
  171. Ferdman N, Murmu RP, Bock J. Weaning age, social isolation, and gender, interact to determine adult explorative and social behavior, and dendritic and spine morphology in prefrontal cortex of rats. *Behav Brain Res* 2007, 180: 174–82.
  172. Liston C. Chronic Stress Effects on Prefrontal Cortical Structure and Function. McEwen Laboratory. Doctor of Philosophy. New York The Rockefeller University. 2007.
  173. Tamashiro KL, Sakai RR, Shively CA, Karatsoreos IN, Reagan LP. Chronic stress, metabolism, and metabolic syndrome. *Stress*, 2011, 14: 468-74.
  174. <http://www.apa.org/helpcenter/stress-kinds.aspx> 14 Nisan 2016.
  175. Kyrou I, Tsigos C. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Curr Opin Pharmacol* 2009, 9: 787-93.
  176. Dallman MF. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. *Trends Endocrinol Metab* 2010, 21: 159–65.
  177. Kalantaridou SN, Makrigiannakis A, Zoumakis E, Chrousos GP. Stress and the female reproductive system. *J Reprod Immunol* 2004, 62: 61-8.

178. Wasser SK, Isenberg DY. Reproductive failure among women: pathology or adaptation? *J Psychosom Obstet Gynaecol* 1986, 5: 153-75.
179. Krolow R, Noschang C, Weis SN, Pettenuzzo LF, Huffell AP, Arcego DM, ...Dalmaz C. Isolation stress during the prepubertal period in rats induces long-lasting neurochemical changes in the prefrontal cortex. *Neurochemical research* 2012, 37: 1063-73.
180. Bethea CL, Pau FKY, Fox S, Hess DL, Berga SL, Cameron JL. Sensitivity to stress-induced reproductive dysfunction linked to activity of the serotonin system. *Fertil Steril* 2005, 83: 148-55.
181. Chrousos GP, Torpy DJ, Gold PW. Interactions between the hypothalamic–pituitary–adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Ann Intern Med* 1998, 129: 229–40.
182. Smith C. Using rodent models to simulate stress of physiologically relevant severity: when, why and how. In Xiaoxiao Q. (ed). *Glucocorticoids - New Recognition of Our Familiar Friend*. Intech Open Access Publisher, 2012: 211-30.
183. Rosmond R. Role of stress in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2005, 30: 1-10.
184. Björntorp P. Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities?. *Obesity reviews*, 2001, 2: 73-86.
185. Kiank C, Taché Y, Larauche M. Stress-related modulation of inflammation in experimental models of bowel disease and post-infectious irritable bowel syndrome: role of corticotropin-releasing factor receptors. *Brain Behav Immun*, 2010, 24: 41-48.
186. Chen MD, O’Byrne KT, Chiappini SE, Hotchkiss J, Knobil E, Hypoglycemic “stress” and gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the rhesus monkey: role of the ovary. *Neuroendocrinology*, 1992, 56: 666–73.
187. Liao EP, Poretsky L. Polycystic ovary syndrome and its metabolic complications. *In Obesity and Diabetes Humana Press*. 2006, 255-76.
188. Walker BR, Rodin A, Taylor NF, Clayton RN. Endogenous inhibitors of 11 $\beta$ –hydroxysteroid dehydrogenase type 1 do not explain abnormal cortisol metabolism in polycystic ovary syndrome. *Clinical endocrinology* 2000, 52: 77-80.

189. Greiner M, Paredes A, Araya V, Lara HE. Role of stress and sympathetic innervation in the development of polycystic ovary syndrome. *Endocrine*, 2005, 28: 319-24.
190. Innes KE, Vincent HK, Taylor AG. Chronic stress and insulin resistance-related indices of cardiovascular disease risk, part I: neurophysiological responses and pathological sequelae. *Altern Ther Health Med* 2007, 13: 46.
191. Rosmond R. Stress induced disturbances of the HPA axis: a pathway to type 2 diabetes? *Med Sci Monit Basic Res* 2003, 9: 35-9..
192. Björntorp P. Endocrine abnormalities of obesity. *Metabolism* 1995, 44: 21-3.
193. Watt MJ, Howlett KF, Febbraio MA, Spriet LL, Hargreaves M. Adrenaline increases skeletal muscle glycogenolysis, pyruvate dehydrogenase activation and carbohydrate oxidation during moderate exercise in humans. *J Physiol* 2001, 534: 269-78.
194. Hunt DG, Ivy JL. Epinephrine inhibits insulin-stimulated muscle glucose transport. *J Appl Phys* 2002, 93: 1638-43.
195. Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ. Rodent models for human polycystic ovary syndrome. *Biol Reprod* 2012, 86: 149.
196. Caldwell ASL, Middleton LJ, Jimenez M, Desai R, McMahon AC, Allan CM, ... Walters KA. Characterization of reproductive, metabolic, and endocrine features of polycystic ovary syndrome in female hyperandrogenic mouse models. *Endocrinology* 2014, 155: 3146-59.
197. Franks S. Animal models and the developmental origins of polycystic ovary syndrome: increasing evidence for the role of androgens in programming reproductive and metabolic dysfunction. *Endocrinology* 2012, 153: 2536–38.
198. Lowrance SA, Ionadi A, McKay E, Douglas X, Johnson JD. Sympathetic nervous system contributes to enhanced corticosterone levels following chronic stress. *Psychoneuroendocrinology* 2016, 68: 163-70.
199. Zhang X, Zhang C, Shen S, Xia Y, Yi L, Gao Q, Wang Y. Dehydroepiandrosterone induces ovarian and uterine hyperfibrosis in female rats. *Hum Reprod* 2013, 28: 3074-85.
200. McDougall SJ, Paull JR, Widdop RE, Lawrence A J. Restraint stress differential cardiovascular responses in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2000, 35: 126-9.

201. Bloch M, Ish-Shalom S, Greenman Y, Klein E, Latzer Y. Dehydroepiandrosterone treatment effects on weight, bone density, bone metabolism and mood in women suffering from anorexia nervosa—a pilot study. *Psychiatry research* 2012, 200: 544-9.
202. Hala MA, Magbolah SH. Effect of feeding on diets supplemented by some vegetable oils on blood lipids and bone mineral content in osteoporotic rats. *Life Science Journal* 2013, 10: 1.
203. Bhaskaran S, Santanam N, Penumetcha M, Parthasarathy S. Inhibition of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-negative mice by sesame oil. *J Med Food* 2006, 9: 487-90.
204. Misugi T, Ozaki K, El Beltagy K, Tokuyama O, Honda KI, Ishiko O. Insulin-lowering agents inhibit synthesis of testosterone in ovaries of DHEA-induced PCOS rats. *Gynecol Obstet Invest* 2006, 61: 208-15.
205. Abramovich D, Irusta G, Bas D, Cataldi NI, Parborell F, Tesone M. Angiopoietins/TIE2 system and VEGF are involved in ovarian function in a DHEA rat model of polycystic ovary syndrome. *Endocrinology* 2012, 153: 3446-56.
206. Gokcel A, Baltali M, Tarim E, Bagis T, Gumurdulu Y, Karakose H, Yalçin F, Akbaba M, Guvener N. Detection of insülin resistance in Turkish adults:a hospital – based study. *Diabetes ObesMetab* 2003, 5: 126-30.
207. [http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/ic\\_hast/dr\\_banu\\_ilk.pdf](http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/ic_hast/dr_banu_ilk.pdf) 12 Mart 2016
208. Indran IR, Lee BH, Yong E. L. Cellular and Animal Studies: Insights into Pathophysiology and Therapy of PCOS. *Best Pract Res Cl Ob* 2016, 1-13.
209. Sander V, Luchetti CG, Solano ME, Elia E, Di GG, Gonzalez C, Motta AB. Role of the N, N'-dimethylbiguanide metformin in the treatment of female prepuberal BALB/c mice hyperandrogenized with dehydroepiandrosterone. *Reproduction* 2006, 131: 591–02.
210. Jimenez PT, Frolova AI, Chi MM, Grindler NM, Willcockson AR, Reynolds KA, ...Moley KH. DHEA-mediated inhibition of the pentose phosphate pathway alters oocyte lipid metabolism in mice. *Endocrinology* 2013, 154: 4835-44.
211. Iwasa T, Matsuzaki T, Tungalagsuvd A, Munkhzaya M, Yiliyasi M, Kato T, ... Irahara M. Effects of chronic DHEA treatment on central and peripheral

- reproductive parameters, the onset of vaginal opening and the estrous cycle in female rats. *Gynecol Endocrinol* 2016, 28: 1-4.
212. Iepsen EW, Torekov SS, Holst JJ. Liraglutide for type 2 diabetes and obesity: A 2015 update. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2015, 13: 753-67.
213. DeFronzo RA, Ratner RE, Han J, Kim DD, Fineman MS, Baron AD. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005, 28: 1092-00.
214. Szayna M, Doyle ME, Betkey JA, Holloway HW, Spencer RG, Greig NH, Egan JM. Exendin-4 decelerates food intake, weight gain, and fat deposition in Zucker rats. *Endocrinology* 2000, 141: 1936-41.
215. Torres SJ, Nowson CA. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 2007, 23: 887-94.
216. Raison CL, Miller AH. When not enough is too much: The role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *Am J Psychiatry* 2003, 160: 1554-65.
217. Black PH, Garbutt LD. Stress, inflammation and cardiovascular disease. *J Psychosom Res* 2002, 52: 1-23.
218. Black PH. The inflammatory consequences of psychologic stress: Relationship to insulin resistance, obesity, atherosclerosis and diabetes mellitus, type II. *Med Hypotheses* 2006, 67: 879-91.
219. Sternberg EM. Neural-immune interactions in health and disease. *J Clin Invest* 1997, 100: 2641-7.
220. Marin MT, Cruz FC, Planeta CS. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. *Physiol Behav* 2007, 90: 29-35.
221. Shah ZA, Sharma P, Vohora SB. Ginkgo biloba normalises stress-elevated alterations in brain catecholamines, serotonin and plasma corticosterone levels. *Eur Neuropsychopharmacol* 2003, 13: 321-5.
222. Ralph CR, Lehman MN, Goodman RL, Tilbrook AJ. Impact of psychosocial stress on gonadotrophins and sexual behaviour in females: role for cortisol? *Reproduction* 2016, 152: 1-14.

223. Kala M, Nivsarkar M. Role of cortisol and superoxide dismutase in psychological stress induced anovulation. *Gen Comp Endocrinol* 2016, 225: 117-24
224. Parker Jr CR, Mahesh VB. Interrelationship between excessive levels of circulating androgens in blood and ovulatory failure. *J Reprod Med* 1976, 17: 75-90.
225. Lee MT, Anderson E, Lee GY. Changes in ovarian morphology and serum hormones in the rat after treatment with dehydroepiandrosterone. *Anat Rec* 1991, 231: 185-92.
226. Singh P, Srivastava RK, Krishna A. Effects of gonadotropin-releasing hormone agonist and antagonist on ovarian activity in a mouse model for polycystic ovary. *J. Steroid Biochem Mol Biol* 2016, 1-10.
227. Ramaswamy S, Grace C, Mattei AA, Siemienowicz K, Brownlee W, MacCallum J, McNeilly AS, Duncan WC, Rae MT. Developmental programming of polycystic ovary syndrome (PCOS): Prenatal androgens establish pancreatic islet  $\alpha/\beta$  cell ratio and subsequent insulin secretion. *Scientific Reports* 2016, 6: 1-10.
228. Zardooz H, Asl SZ, Naseri MG. Effect of chronic psychological stress on insulin release from rat isolated pancreatic islets. *Life Sci* 2006, 79: 57-62.
229. Fineman MS, Bicsak TA, Shen LZ, Taylor K, Gaines E, Varns A, Kim D, Baron AD. Effect on glycemic control of exenatide (synthetic exendin-4) additive to existing metformin and/or sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003, 26: 2370-7.
230. Omer AH, Attia MA, Samy HM, Mansour MA, El Odemi MH, El Henawy EM. Histological, immunohistochemical and biochemical study of the effect of exenatide on islets of langerhans of diabetic adult male albino rats. *Diabetes* 2012, 25.
231. Denker PS, Dimarco PE. Exenatide (Exendin-4)-induced pancreatitis: A case report. *Diabetes Care* 2006, 29: 471.
232. Erkekoğlu P, Gümüşel BK, Şahin G. Eksenatid Kullanımının Toksikolojik Açıdan Değerlendirilmesi *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2011, 32: 159-78.

## EKLER

### EK-1 ÖZGEÇMİŞ

**Arş. Gör. Burcu KÖKSAL**

İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Bölümü

44280, Kampüs/Malatya, Türkiye

+90422 341 06 60, e-mail: [burkirimhan@gmail.com](mailto:burkirimhan@gmail.com)

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji Bölümü	İnönü Üniversitesi	2007
Y. Lisans	Tıbbi Fizyoloji	İnönü Üniversitesi	2011
Doktora	Tıbbi Fizyoloji	İnönü Üniversitesi	2011-
Ziyaretçi Araştırmacı	Nörofizyoloji Programı	Florida State University	2014

#### Yüksek Lisans Tezi

Köksal, B. (2011). Streptozotolin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Propolisin Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkisi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Malatya, Türkiye.

**Yurt Dışı Deneyim:** 2014 Yılında 6 ay süre ile Florida State Üniversitesi, Nörofizyoloji biriminde “obezite üzerine exenatidlerin etkisi” konusunda yürütülen araştırma sürecine aktif olarak katıldım.

#### Makaleler

1. Köksal, M., & Köksal, B. (2012). Investigating Understandings of Turkish Medical Graduate Students about Nature of Scientific Knowledge, Scientific Method, Characteristics of Scientists and Definition of Science. *Education in Medicine Journal*, 4(1). doi:10.5959/eimj.v4i1.14.
2. Köksal, B., Emre, H., & Polat, A. (2015). Investigation of Propolis' effect on thiobarbituric acid reactive substances and antioxidant enzyme levels of hippocampus in diabetic rats induced by streptozocine, *Macedonian Journal of Medical Sciences* 3 (1), 52-56.

3. **Köksal, B.** (2015). Effect of propolis on blood glucose levels in diabetes studies with rats: A meta-analysis study. *HealthMED*, 9 (4).152-57.
4. **Köksal, B.** (2015). Effect of streptozotocin on plasma insulin levels of rats and mice: A meta-analysis study. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, Doi: oamjms. 2015 3 (3) 380-3.
5. **Köksal, B.,** (2016). Cytotoxic and Neurotoxic Effects of 1-octen-3-ol on Learning and Memory Functions of Brain, *Advances in Biological Research*. 9(6), 444-8.
6. **Köksal, B., & Emre, H.,** (2017). Investigation of propolis' effects on learning and memory of diabetic rats induced by streptozotocin, *Oxidation Communications*, Book 1.
7. Düzova, H., Karakoc, Y., Gullu, E., Gullu, A., **Köksal, B.,** Esen, B. The acute effects of single football match on whole blood viscosity and hematological variables in female soccer, *Biomedical Research*, 27 (4), 1-4.
8. Düzova, H., Sahin, İ, Güllü, M., **Köksal, B.** Güllü, E. Çiçek, G. Kayhan, B., (Basımda). The Effect of exercise induced weight-loss on myokines and adipokines overweight sedantary females: Spec-aerobics vs jogging-walking exercises. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*.

### **Kongre ve Sempozyumlar**

1. **Köksal, B.,** Emre, M.H., (2011). Effect of Propolis on Learning and Memory of Streptozotocin Induced Diabetic Rats. FEPS Congress. 3-7 September 2011. Yeditepe University, Istanbul, TÜRKİYE.
2. Duzova, H., Cicek, G., **Köksal, B.,** Kayhan, B., Gullu, A., Sahin, I., (2011). Effects of various types aerobic exercise methods on myokines and some other cytokines that secreted from muscle and adipose tissues. FEPS Congress. 3-7 September 2011. Yeditepe University, Istanbul, TÜRKİYE.
3. **Köksal, B.,** Emre, M.H., Polat, A., Vardı, N., Cetin, A., Orhan, G., (2012). Effect of Propolis on Liver of Streptozotocin Induced Diabetic Rats. 38th National Physiology Congress. 25-29 September 2012. Karadeniz Technical University, Trabzon, TÜRKİYE.
4. Orhan, G., Duzova, H., **Köksal, B.,** (2012). The prevention of oxidant effect of cyclosporine A in liver by lycopene, in rat renal ischemia / reperfusion model.

38th National Physiology Congress. 25-29 September 2012. Karadeniz Technical University, Trabzon, TÜRKİYE.

5. Yıldız, S., Tapan, T., **Köksal, B.**, (2012). The effect of high fatty diet on thymus, liver indexes and serum cytokine levels of male and female rats infected by bacteria in their neonatal period. 38th National Physiology Congress. 25-29 September 2012. Karadeniz Technical University, Trabzon, TÜRKİYE.
6. Yurt,A., **Köksal, B.**, Gürbüz, P., Yıldız,A., Vardı, N. & Alçin,E. (2015). Diyabetik Nöropati Üzerine Üzüm Eksratinın Etkisi. TFBD 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 09-13 Eylül 2015, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale. TÜRKİYE.
7. Tanbek,K., Alçin,E., Yıldız, A., Vardı, N., **Köksal, B.** & Barutçu, Ö. (2015) Diyabetik Rat Modelinde Metforminin Diyabetik Nöropati Üzerine Etkileri. TFBD 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 09-13 Eylül 2015, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale. TÜRKİYE.

### **Projeler**

1. “Streptozotozin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Propolisin Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkisi.” İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2010/132. Araştırmacı
2. “Streptozozinle Diyabet Oluşturulan Farelerde Üzüm Çekirdeği Ekstresinin Nöropatik Ağrı Üzerine Etkileri” İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2013/178. Araştırmacı
3. “Streptozotozin ile İndüklenmiş Diyabetik Fare Modelinde Deksketoprofen ve Ketoprofen’in Analjezik Etkilerinin Hot Plate Testi ile Karşılaştırılması” İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2013/203. Araştırmacı
4. “Dehidroepiandrosteron ile Polikistik Over Sendromu Oluşturulan Sıçanlarda Exendin-4’ün Olası Etkilerinin, Kronik Orta Düzeyli Stres Ortamında Araştırılması” İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2015/88. Araştırmacı

### **Ödüller**

İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Fakülte Birinciliği Ödülü

## EK-2

# DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

### DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 16-01-2015  
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
Araştırma Protokol no.su : 2015/A-07  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : Sprague-dawley  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 70 Adet  
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 21 günlük

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Ergül ALÇİN'in yürütücüsü olduğu "Dehidroepiandrosteron ile Polikistik Over Sendromu Oluşturulan Sıçanlarda Exendin-4'ün Olası Etkilerinin, Kronik Orta Düzeyli Stres Ortamında Araştırılması." isimli 2015/A-07 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Doç.Dr.M.Ari ALADAĞ Başkan	 Araştırmacı Prof. Dr. Nigar VARDI Üye	 Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Katılmadı Salih AVCI Sivil Üye	 Katılmadı Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye	