



T.C.
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**İN VİTRO FERTİLİZASYON HASTALARINDAN ELDE EDİLEN
GRANULOZA HÜCRELERİNE CURCUMİN'İN İN VİTRO ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Neslihan Aktaş

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Gül İpek Gündoğan

İSTANBUL
Temmuz 2019

T.C.
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**İN VİTRO FERTİLİZASYON HASTALARINDAN ELDE EDİLEN
GRANULOZA HÜCRELERİNE CURCUMİN'İN İN VİTRO ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Neslihan Aktaş

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Gül İpek Gündoğan

İSTANBUL
Temmuz 2019

T.C.

YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Klinik Embriyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 24/07/2019

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Hüsniye Doğruman

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fak.

Öğretim Üyesi

Doç. Dr. M. Başak Ulkay

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fak.

Öğretim Üyesi

Dr.Öğr. Üyesi Gül İpek Gündoğan

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fak.

Öğretim Üyesi

İTHAF

Bu çalışmayı, desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Abdullah Aktaş'a ve biricik kızım Emine Asya Aktaş'a ithaf ediyorum.



ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca değerli desteğini, bilgisini benden esirgemeyen, sabır ve hoşgörü ile bana her zaman yardımcı olan değerli tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Gül İpek GÜNDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi her türlü desteklerini üzerimde hissettiğim sevgili aileme bu zorlu süreçte bana göstermiş oldukları anlayış ve destek için teşekkürler.

Sevgisi, moral ve motivasyonu ile desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Abdullah Aktaş'a ve varlığıyla bana güç veren biricik kızım Emine Asya Aktaş'a sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| İTHAF | ii |
| ÖNSÖZ | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | vi |
| RESİMLER LİSTESİ | vii |
| GRAFİKLER LİSTESİ | viii |
| TABLolar LİSTESİ | ix |
| SEMBOLLER LİSTESİ | x |
| KISALTMALAR LİSTESİ | xi |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Ovaryum Anatomisi ve Histolojisi | 3 |
| 2.2. Uterus Anatomisi ve Histolojisi | 5 |
| 2.3. Kadın Üreme Döngüsü | 7 |
| 2.3.1. Hormonal Regülasyonlar | 7 |
| 2.3.2. Oogenez | 10 |
| 2.3.3. Folikülogenez | 12 |
| 2.3.4. Korpus Luteum'un Oluşumu ve Ovaryum Döngüsü | 16 |
| 2.3.5. Menstrual Döngüde Uterus Değişimleri | 19 |
| 2.4. Polikistik Over Sendromu | 21 |
| 2.4.1. Patogenezi | 23 |
| 2.4.2. Patofizyolojisi | 23 |
| 2.4.3. Klinik Özellikler ve Tanılama Kriterleri | 26 |
| 2.4.4. Prevalansı | 30 |
| 2.4.5. Tedavi Yöntemleri | 31 |
| 2.5. In Vitro Fertilizasyon | 33 |
| 2.6. Kurkumin | 34 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 36 |
| 3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri | 36 |

| | |
|--|----|
| 3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler | 36 |
| 3.2.1. Kullanılan Cihazlar | 36 |
| 3.2.2. Kullanılan Malzemeler | 37 |
| 3.3. Hücre Kültürü ve Kurkumin'in Hazırlanması | 37 |
| 3.4. Hücre Canlılığının Saptanması | 39 |
| 3.4.1. Tripan Mavisi Sayımı | 39 |
| 3.4.2. Hücre Canlılığı ve Proliferasyon Hızlarının Karşılaştırılması (MTT Tayini) | 40 |
| 3.5. Akridin Turuncusu / Etidyum Bromür Boyaması | 41 |
| 4. BULGULAR | 42 |
| 4.1. İvert Mikroskop Görüntüleri | 42 |
| 4.2. Hücrelerin Canlılık Oranlarının Saptanması Amacıyla Tripan Mavisi Boyaması | 47 |
| 4.3. Hücrelerin Proliferatif (Çoğalma) Kapasitelerinin ve Metabolik Aktivite Düzeylerinin (Canlılık) MTT Yöntemiyle Saptanması | 49 |
| 4.4. Akridin Turuncusu/Etidyum Bromür Boyamasıyla Apoptotik Hücrelerin Oranının Floresan Mikroskopta Sayım Yapılarak Saptanması | 52 |
| 5. TARTIŞMA | 56 |
| 6. SONUÇ | 59 |
| 7. ÖZET | 60 |
| 8. SUMMARY | 62 |
| 9. KAYNAKLAR | 64 |
| 10. EKLER | 73 |
| Ek-1: Etik Kurul Onayı | 73 |
| Ek-2: Olgu Rapor Formu (Hasta Veri Takip Formu) | 74 |
| Ek-3: Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği | 75 |
| 11. ÖZGEÇMİŞ | 77 |

ŞEKİLLERLİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1: Ovaryum'un yapısı. | 3 |
| Şekil 2: Dişi üreme sistemi ve ilgili organlar. | 4 |
| Şekil 3: Erken ve orta foliküler evrede over fonksiyonunun hormonal regülasyonu..... | 9 |
| Şekil 4: Oogenez aşamaları. | 12 |
| Şekil 5: Bir insan oositinin ve ovaryen folikülün gelişimi..... | 15 |
| Şekil 6: Over döngüsü..... | 16 |
| Şekil 7: Ön hipofiz ve over hormonlarının konsantrasyonundaki değişimler. | 18 |
| Şekil 8: Menstrual döngüde ovaryen ve uterus değişimleri arasındaki ilişki. | 21 |
| Şekil 9: Kurkumin'in kimyasal yapısı. | 34 |

RESİMLER LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Resim 1: Ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastalarına (HG) ait granuloza hücrelerinin ekimi yapıldıktan 24 saat sonraki invert mikroskop görüntüleri. | 42 |
| Resim 2: Polikistik over sendromu'na sahip IVF hastalarına (PKG) ait granuloza hücrelerinin ekimi yapıldıktan 24 saat sonraki invert mikroskop görüntüleri (10x)..... | 43 |
| Resim 3: HG'ye ait granuloza hücrelerinin semi-konfluent görüntüleri (10x). | 43 |
| Resim 4: PKG'ye ait granuloza hücrelerinin semi-konfluent görüntüleri (10x). | 44 |
| Resim 5: Hücrelerin konfluent görüntüleri (10x)..... | 45 |
| Resim 6: Hücrelerin 63x objektifte görüntüleri..... | 46 |
| Resim 7: AO/EtBr boyaması sonucu apoptotik (kırmızı) ve canlı (yeşil) granuloza hücrelerinin flouresan mikroskop görüntüleri. | 53 |

GRAFİKLER LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Grafik 1: Tripan mavisi ile boyanması sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı. | 47 |
| Grafik 2: Tripan mavisi ile boyanması sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı. | 48 |
| Grafik 3: MTT yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı..... | 50 |
| Grafik 4: MTT yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonucu PKG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı..... | 51 |
| Grafik 5: AO/EtBr boyaması sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin sayısı. | 52 |
| Grafik 6: AO/EtBr boyaması sonucu PKG'ye ait granuloza hücrelerinin sayısı. | 53 |

TABLolar LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 1: Granuloza hücrelerinin fonksiyonları. | 15 |
| Tablo 2: Polikistik over sendromunun belirti ve semptomları. | 27 |
| Tablo 3: Polikistik over sendromu için tanı kriterleri. | 29 |
| Tablo 4: Polikistik over sendromu için ayırt edici tanılar..... | 30 |
| Tablo 5: Kullanılan cihazlar listesi. | 36 |
| Tablo 6: Kullanılan malzemeler listesi..... | 37 |
| Tablo 7: Granuloza hücrelerine uygulanan işlemler..... | 38 |
| Tablo 8: Tripan mavisi boyama yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonrası HG'ye (Ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastalarına) ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı. | 47 |
| Tablo 9: Tripan mavisi boyama yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonrası PKG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı..... | 47 |
| Tablo 10: Kurkumin inkübasyonu sonrası HG'ye ait granuloza hücrelerinin MTT sonuçları (P < 0.05). | 49 |
| Tablo 11: Kurkumin inkübasyonu sonrası PKG'ye ait granuloza hücrelerinin MTT sonuçları (P < 0.05). | 50 |

SEMBOLLER LİSTESİ

rpm : Dakikadaki devir sayısı

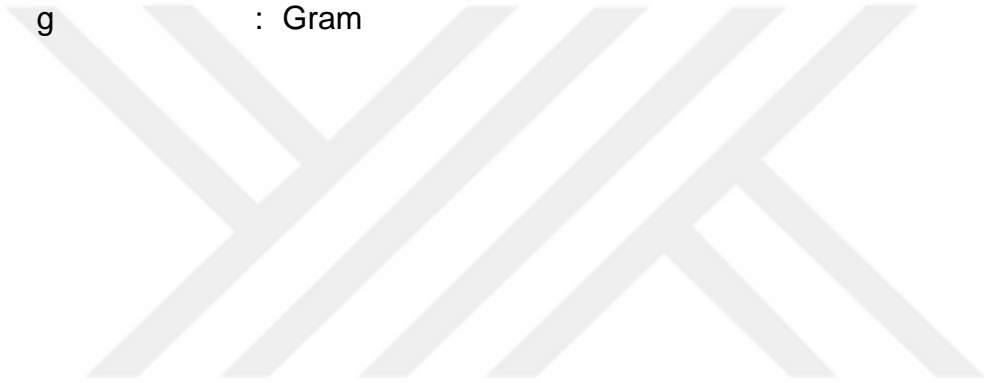
mL : Mililitre

°C : Santigrat derece

U : Ünite

μ : Mikro

g : Gram



KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|---------|--|
| AE-PKOS | : Androgen Excess and PCOS Society Kriteri |
| AMH | : Anti-Mullerian Hormon |
| AO | : Akridin turuncusu |
| CC | : Klomifen sitrat |
| DMEM | : Dulbecco's Modified Eagle's solüsyonu |
| ET | : Embriyo transferi |
| EtBr | : Etidyum bromür |
| FSH | : Folikül uyarıcı hormon |
| GnRH | : Gonadotropin-saliverici hormon |
| HG | : Ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastaları |
| IGF-1 | : İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 |
| IVF | : In vitro fertilizasyon |
| LH | : Luteinleştirici hormon |
| MTT | : Methylthiazoletetrazolium |
| NIH | : National Institute of Society |
| PCOM | : Polycystic Over Morfolojisi |
| PKG | : PKOS'lu IVF hastaları |
| PKOS | : Polikistik over sendromu |
| SERM | : Seçici östrojen reseptör modülatörleri |
| TD2M | : Tip 2 <i>Diabetes mellitus</i> |

1.GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağındaki kadınların %5 ile 8'ini etkileyen, dünyada yaygın olarak görülen endokrin hastalığıdır(Waldman ve Legro, 2019). PKOS, hiperandrojenizm ve/veya hiperandrojenemi, over fonksiyon bozukluğu ve polikistik over morfolojisi ile karakterizedir ve başta infertilite olmak üzere, tip II diyabet, insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıklar ile doğrudan ilişkilidir(Aydos, Öztemur ve Gür-Dedeoğlu, 2016; Crespo *vd.*, 2018).

PKOS teşhisi konan kadınların çoğu hiperandrojenizmin etkilerinden olan ovaryen fonksiyon bozukluğuna bağlı infertilite (kısırlık) sahiptir(Tanbo *vd.*, 2018). PKOS'da ovaryen indüksiyonu ve fertilitate tedavisi için kullanılan yaklaşımlar aşağıdakileri içermektedir(Tanbo *vd.*, 2018):

- Kilo kaybı, egzersiz ve yaşam tarzı değişiklikleri
- Klomifen sitrat
- Aromataz inhibitörleri
- Metformin
- Gonadotropinler
- Over delme
- *In vitro* fertilizasyon (IVF)

PKOS'un heterojen doğası ve tanı çeşitliliği tedaviye semptom bazlı bir yaklaşım gerektirmektedir, çünkü PKOS çevresel etkenler, genetik ve yaşam tarzı dahil olmak üzere pek çok etkileyici faktöre bağlı olarak farklı şekilde görünmektedir(Crespo *vd.*, 2018; Ring, 2018).

PKOS'un metabolik risklerinin giderilmesi için öncelikle yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir. Kanıtlanmış herhangi bir spesifik farmakolojik tedavi bulunmamaktadır. Dolayısıyla kurkuminin olası etkilerinin PKOS teşhisi konan bireylerde incelenmesi bu amaçla doğmuştur.

Kurkumin, zerdeçaldan elde edilen sarı bir pigmenttir(Hewlings ve Kalman, 2017). Geçtiğimiz birkaç yıl boyunca, çok sayıda çalışma, kurkuminin antioksidan ve anti-enflamatuar etkilere sahip olduğunu göstermekle birlikte, hücre proliferasyonunu ve metastazı baskılayarak ve hücre ölümünü indükleyerek çeşitli kanser türlerinde birçok anti-kanser etkiye sahip olduğunu davurgulamıştır(Hewlings ve Kalman, 2017; Liu ve Ho, 2018).

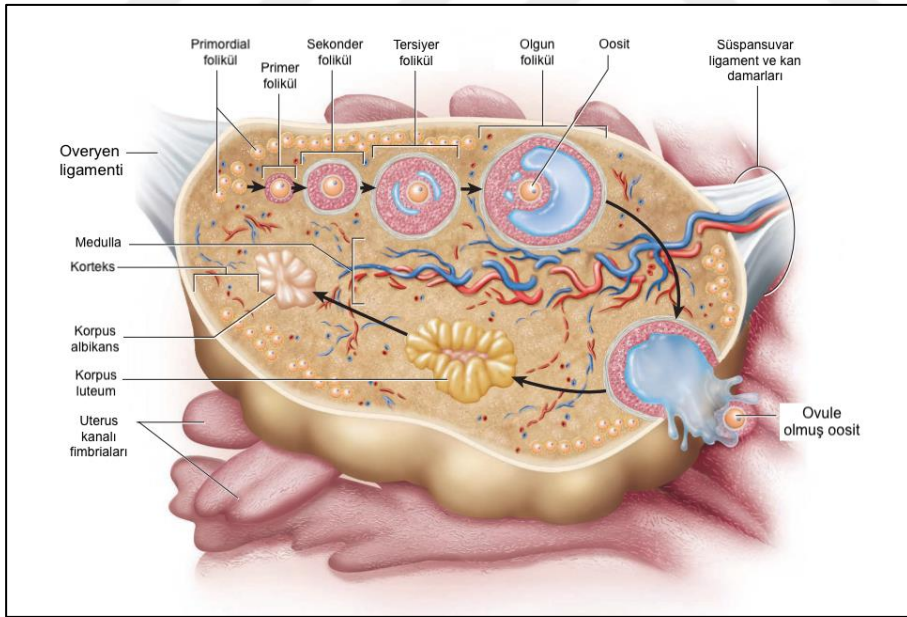
PKOS üzerinde yapılan önceki çalışmalarda kurkuminin anti-enflamatuar ve antioksidan özellikleri semptomun insülin direnci, ovaryen disfonksiyonları ve metabolik anormallikler üzerinde olumlu etkiler göstermiştir(Kasim-Karakas ve Mishra, 2009; Reddy *vd.*, 2016; Mohammadi, Bardei, *vd.*, 2017; Mohammadi, Kayedpoor, *vd.*, 2017). Ancak bu çalışmaların sayısı sınırlıdır ve yapılan çalışmalar çoğunlukla makro düzeyde veyahücre kültürü düzeyinde sadece hayvan hücrelerini kapsamaktadır.

Tüm bu bilgiler ışığında, PKOS'lu insan oositinden elde edilen granuloza hücrelerinde kurkuminin canlılık, proliferasyon ve apoptoz üzerindeki etkisinin *in vitro* olarak araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışma PKOS'lu insan hücrelerinde kurkuminin etkilerini hücre kültürü düzeyinde inceleyen ilk çalışma olma niteliğindedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ovaryum Anatomisi ve Histolojisi

Dişi gonadlar olan *ovaryum*, yaklaşık 3 cm uzunluğunda, 1.5 cm genişliğinde ve 1 cm kalınlığındadır(Saladin *vd.*, 2018). Büyüklük ve şekil bakımından kabuksuz bademe benzeyen overler, uterusun sağında ve solunda olmak üzere iki adet eşli bez olarak bulunur(Tortora ve Derrickson, 2009, s. 1097). Testislerle aynı embriyonik kökene sahip olan ovaryum, gamet ve döllenmeden sonra olgun yumurtalara dönüşen sekonder oositler ile progesteron, östrojen, inhibin ve relaksin hormonlarını üretir(Tortora ve Derrickson, 2009, s. 1097). Resim 1'de ovaryum yapısı yer almaktadır(Saladin *vd.*, 2018, s. 639).

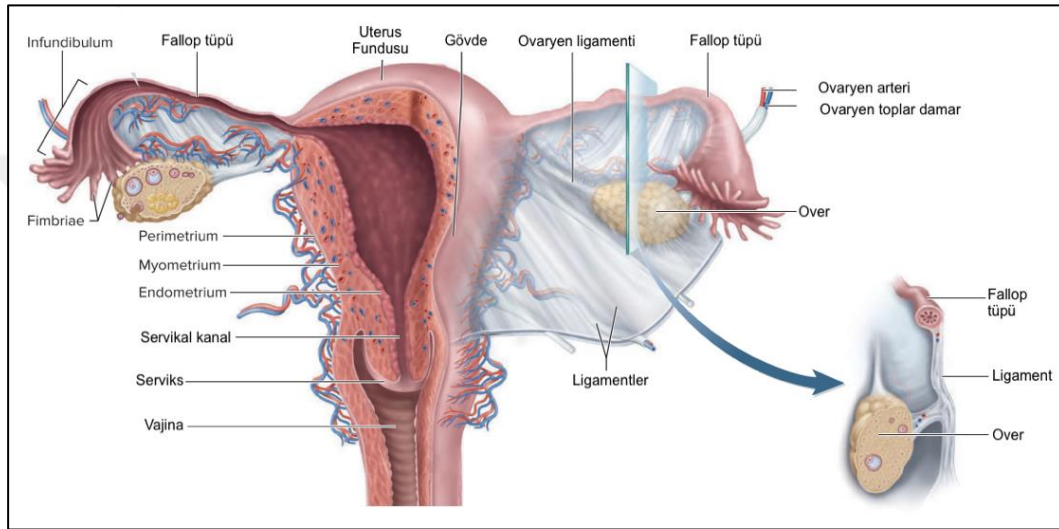


Şekil 1: Ovaryum'un yapısı.

Kaynak: Saladin, K. S., McFarland, R. K., Gan, C. A. & Cushman, H. N. *Essentials of Anatomy & Physiology*. (McGraw Hill Education, 2018) adlı eserden sayfa 639'dan alındı.

Uterusun her iki tarafında birer tane olan overler gelişiminin üçüncü ayında pelvik boşluğun üst kısmının ağzına kadar iner(Saladin *vd.*, 2018). Bir dizi ligament onları pozisyonda tutar(Saladin *vd.*, 2018). Her

yumurtalık, mezovaryumun bağlı olduğu kan damarları ve sinirler için giriş ve çıkış noktası olan *hilum* içerir(Saladin vd., 2018). Beyaz bir fibröz kapsül içine alınır ve dahili olarak gevşek bir şekilde fibröz bağ dokusu ve kan damarlarının merkezi bir çekirdeğine (*medulla*) ve yumurtaların geliştiği bir dış bölgeye (*korteks*) ayrılır(Saladin vd., 2018). Resim 2’de üreme sistemi ve ilgili organların arka kesit görüntüsü yer almaktadır(Saladin vd., 2018).



Şekil 2: Dişi üreme sistemi ve ilgili organlar.

Kaynak: Saladin, K. S., McFarland, R. K., Gan, C. A. & Cushman, H. N. *Essentials of Anatomy & Physiology*. (Mc Graw Hill Education, 2018) adlı eserden sayfa 641’den alındı.

Her bir over aşağıdaki kısımlardan oluşmaktadır (Resim 1)(Tortora ve Derrickson, 2009).

- *Germinal epitel*: Overler dışarıdan ve çoğunlukla over yüzey epiteli adı verilen bir modifiye mezotelium tabakası ile kaplıdır(Prichard ve Kaspar, 2015).
- *Tunika albuginea*: Germinal epitelin derinliklerinde bulunan ve overleri kapsül şeklinde saran, beyazımsı yoğun düzensiz bağ dokusudur(Tortora ve Derrickson, 2009).
- *Over korteksi*: Tunika albuginea’nın altında yer alır. Kollajen lifleri ve stromal hücreler adı verilen fibroblast benzeri hücreler içeren yoğun düzensiz bağ dokusu ile çevrili over foliküllerinden oluşur(Prichard ve Kaspar, 2015).

- *Over medulla*: Over korteksinin altında yer alır(Tortora ve Derrickson, 2009). Korteks ile medulla arasındaki sınır belirsizdir, ancak medulla daha gevşek düzenlenmiş bağ dokusundan oluşur ve kan damarları, lenfatik damarlar ve sinirler içerir(Tortora ve Derrickson, 2009).
- *Over folikülleri (folliculus = küçük çanta)*: Kortekste yer alırlar. Farklı evrelerdeki oositlerden ve onları çevreleyen hücrelerden oluşur(Tortora ve Derrickson, 2009). Çevreleyen hücreler tek bir tabaka oluşturduğunda, buna foliküler hücreler denir; gelişme aşamasında, birkaç katman oluşturduklarında ise granuloza hücreleri olarak adlandırılırlar(Tortora ve Derrickson, 2009). Çevreleyen hücreler gelişen oositi besler ve folikül büyüdükçe östrojen salgılar(Tortora ve Derrickson, 2009).
- *Graaf folikülü* (olgun folikül): Sekonder oositini yırtmaya ve dışarı atmaya hazır büyük, sıvı dolu bir foliküldür(Tortora ve Derrickson, 2009). Bu olay ovulasyon olarak bilinir(Tortora ve Derrickson, 2009).
- *Korpus luteum* (=sarı cisimcik): Ovulasyon sonrası olgun folikül kalıntıları içerir(Prichard ve Kaspar, 2015). Korpus luteum, korpus albicans (beyaz cisimcik) adı verilen fibröz skar dokusu haline gelinceye kadar progesteron, östrojenler, relaksin ve inhibin üretir(Prichard ve Kaspar, 2015).

2.2. Uterus Anatomisi ve Histolojisi

Uterus (rahim), vajinada biriken spermin uterus tüplerine ulaşması için bir yol görevi görür(Tortora ve Derrickson, 2009; Saladin vd., 2018). Aynı zamanda döllenmiş bir ovum implantasyonu, hamilelik sırasında fetüsün gelişimi ve doğum yeridir². İmplantasyonun meydana gelmediği üreme döngüleri sırasında uterus menstural döngü kaynağıdır².

İdrar kesesi ve rektum arasında yer alan uterus, şekil olarak ters bir armuta benzer(Tortora ve Derrickson, 2009). Hamilelik öncesi

kadınlarda uterus yaklaşık 7.5 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğinde ve 2.5 cm kalınlığındadır (Resim 2)(Tortora ve Derrickson, 2009). Uterus, hamilelik sonrası kadınlarda daha büyük ve menopoz dönemi kadınlarda ise seks hormon seviyelerinin düşük olmasına bağlı olarak daha küçük boyutlardadır(Tortora ve Derrickson, 2009).

Uterus,*fundus* olarak adlandırılan uterus tüplerinin üstünde yer alan kubbe şeklinde bir kısım, *gövde* olarak adlandırılan bir merkez kısım ve vajene açılan, *serviks* adı verilen aşağı dar bir kısımdan oluşmaktadır (Resim 2)(Tortora ve Derrickson, 2009). Uterusun gövde ve serviks kısımları arasında, yaklaşık 1 cm kadar dar bir alan olan *istmus* yer alır(Tortora ve Derrickson, 2009). Gövdenin iç kısmında yer alan kısım *uterus kavitesi* ve serviksin iç kısmında yer alan ise *servikal kanal* olarak anlandırılır(Tortora ve Derrickson, 2009). Servikal kanalda mukus salgılayan bezler yer alır, böylece vajinadan uterusa yayılabilecek mikroorganizmaların girişi engellenir(Saladin vd., 2018). Servikal kanalın uterus kavitesi ile birleştiği noktaya *internal ostium*, servikal kanalın vajen ile devam eden kısmına *eksternal ostium* denir(Tortora ve Derrickson, 2009).

Uterus duvarı üç tabakadan oluşur(Saladin vd., 2018). Duvarın en dışında ince seroza tabakası olan *perimetrium*, ortasında kalın bir tabaka olan *miyometrium* ve en iç mukosa olan *endometriumdur*(Saladin vd., 2018). Miyometrium yoğunlukla düz kaslardan oluşur ve fetusu dışarı atmaya yardımcı olan doğum kasılmalarından sorumludur(Saladin vd., 2018). Miyometriuma sıkıca yapışık olan endometriyumda basit bir kolumnar epitel ve aralarında spiral arterlere sahip *glandüler yapı* yer alır(Saladin vd., 2018). Endometriumun büyük çoğunluğuna sahip *stratum functionalis* (fonksiyonel tabaka) her menstrual döngüde dökülür(Saladin vd., 2018). *Stratum basalis* (bazal katman) adı verilen derin katman, geride kalır ve bir sonraki döngüde yeni bir fonksiyonel katman oluşturur(Saladin vd., 2018). Hamilelik ortaya çıktığında, endometriyum embriyonun bağlanma bölgesidir ve fetusun beslendiği plasenta parçasını oluşturur(Prichard ve Kaspar, 2015; Saladin vd., 2018).

Uterus arterleri, uterusu kan sağlar. Uterin arterleri miyometriyumda dairesel şekilde olan *arkuata arterlerine* (yay şeklinde) dallanır ve bu arterler de miyometriyuma iyice geçen *radyal arterlerine* devam eder(Tortora ve Derrickson, 2009). Arterlerin endometriuma girdikleri yerde, iki çeşit arter görülür(Tortora ve Derrickson, 2009). Bunlar stratum basileye yeniden stratum functionalis olmasını sağlayan düz arteriolar ve stratum functionalisi besleyen ve menstrual döngüde belirgin şekilde değişen spiral arteriolarlardır(Tortora ve Derrickson, 2009).

Uterustan çıkan kan, uterus damarları tarafından iç iliak damarlara boşaltılır(Tortora ve Derrickson, 2009). Uterusun geniş kan arzı, menstrüasyondan sonra yeni bir stratum functionalis'in büyümesini, döllenmiş bir yumurtanın planlanmasını ve plasentanın gelişimini desteklemek için esastır(Tortora ve Derrickson, 2009).

2.3.Kadın Üreme Döngüsü

Gebeliğin yokluğunda kadınlar, farklı düzende hormon salgılanmasına bağlı olarak kontrol edilen birbiriyle ilişkili iki aylık döngüye sahiptir(Saladin vd., 2018). Bunlar, ovaryumdaki olaylardan oluşan over siklusu ve uterustaki paralel değişikliklerden oluşan menstrual siklustur(Saladin vd., 2018). Over siklusu, yumurtalık üretiminin gerçekleştiği oogenez ve buna paralel olarak foliküler gelişimin sağlandığı folikülogenez evrelerinden meydana gelir(Saladin vd., 2018). Menstrual siklus ise, ovaryen olaylarına paralel olarak uterus değişimlerinden oluşur(Saladin vd., 2018). Bu döngünün çoğunda, endometriyum birikimi ve bunu takiben kırılarak vajinal akıntı oluşması söz konusudur(Saladin vd., 2018).

Üreme döngüsü tanımı, over siklusu ve menstrual siklus ile birlikte bu döngüleri düzenleyen hormon değişimlerini ve memelerde ve servikte oluşan konjonktürel değişiklikleri de içerir(Tortora ve Derrickson, 2009).

2.3.1. Hormonal Regülasyonlar

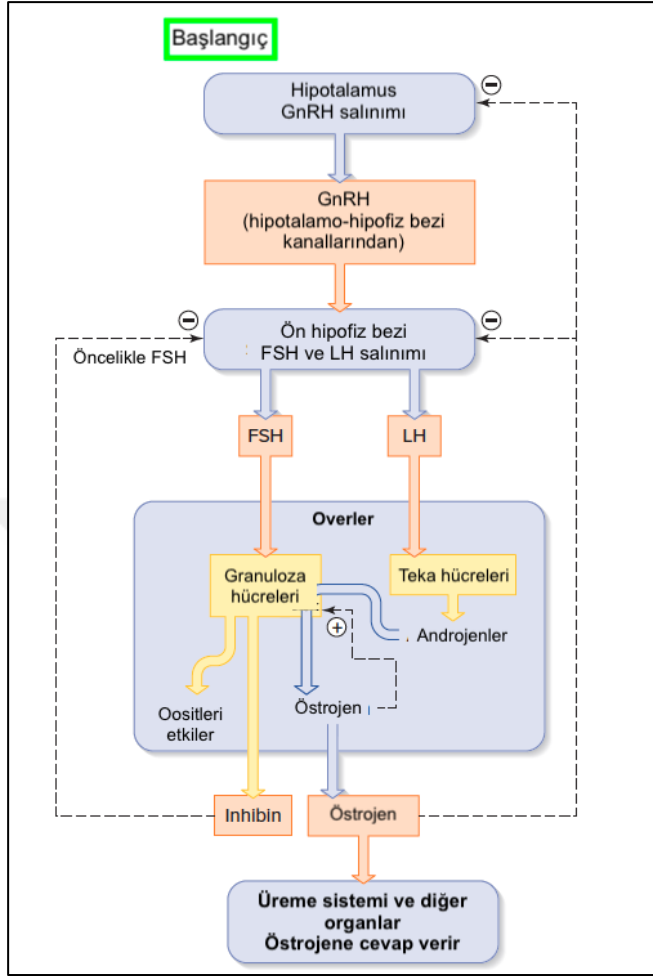
Gonadotropin-saliverici hormon (GnRH); hipotalamus tarafından salgılanır ve ovaryen ve uterin döngüsünü kontrol eder(Tortora ve

Derrickson, 2009). GnRH, *folikül-uyarıcı hormonun* (FSH) ve *luteinleştirici hormonun* (LH) ön hipofizden salınımını sağlar (Şekil 3)(Tortora ve Derrickson, 2009). FSH, folikülün büyümesini başlatırken, LH ovaryen foliküllerin ileri gelişimlerini stimule eder(Tortora ve Derrickson, 2009). Aynı zamanda FSH ve LH birlikte ovaryen foliküllerini uyararak östrojen salgılamasını sağlar(Tortora ve Derrickson, 2009).

LH, gelişmekte olan foliküllerdeki teka hücrelerini uyararak androjen üretimini sağlar(Tortora ve Derrickson, 2009). FSH'ın etkisiyle, androjenler foliküldeki granuloza hücreleri tarafından alınır ve östrojene çevrilir (Şekil 3)(Tortora ve Derrickson, 2009). Ara döngüde, LH ovulasyonu başlatır ve korpus luteumun oluşmasını destekler(Tortora ve Derrickson, 2009). LH'in uyardığı korpus luteum; östrojen, progesteron, relaksin ve inhibin hormonlarını üretir ve salınımını yapar (Şekil 3)(Tortora ve Derrickson, 2009).

İnsan kadın plazmasından izole edilen altı farklı östrojen olmakla birlikte, en çok miktarda olan östrojen yumurtalıklardaki kolesterolden sentezlenen β -*östradiol*'dür (Şekil 3)(Tortora ve Derrickson, 2009). Foliküllerden salınan östradioller; vücut üzerinde yaygın etkileri olan dişi özelliklerini sağlayan hormonlardır(Saladin vd., 2018).

Östrojen ve progesteron uterusu fertilize ovumu implantasyon için hazırlar ve meme salgılarını süt salgılaması için hazırlamaya yardımcı olur. (Şekil 3)(Tortora ve Derrickson, 2009). Yüksek progesteron seviyeleri, GnRH ve LH'nin salgılanmasını da engeller(Tortora ve Derrickson, 2009).



Şekil 3: Erken ve orta foliküler evrede over fonksiyonunun hormonal regülasyonu.
 Kaynak: Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T. & Shoeppe, T. C. *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. (Mc Graw Hill Education, 2019) adlı eserden sayfa 629'dan alındı.

Her aylık döngüde korpus luteum tarafından üretilen az miktarda *relaksin*, miyometriyum kasılmalarını engelleyerek uterusu rahatlatır(Tortora ve Derrickson, 2009). Döllenmiş bir ovumun implantasyonu "sessiz" bir uterusu daha kolay gerçekleştirir(Tortora ve Derrickson, 2009). Hamilelik sırasında plasenta çok daha fazla relaksin üretir ve uterus düz kaslarını gevşetmeye devam eder(Tortora ve Derrickson, 2009). Hamilelik bitiminde, bebeğin doğumunu da kolaylaştıran relaksin, pubik simfizinin esnekliğini artırır ve uterusun serviksini açılmasını sağlar(Tortora ve Derrickson, 2009).

Inhibin, büyüyen foliküllerin granuloza hücreleri ve ovulasyon sonrası korpus luteum tarafından salgılanır(Tortora ve Derrickson, 2009).

FSH salgılanmasını ve daha az miktarda LH'yi inhibe eder(Tortora ve Derrickson, 2009).

2.3.2. Oogenez

Overlerde gamet oluşumu *oogenez* olarak adlandırılır(Tortora ve Derrickson, 2009; Widmaier *vd.*, 2019). Oogenez döngü içerisinde yer alır ve genellikle ayda bir olgun yumurta üretimi sağlanır(Saladin *vd.*, 2018). Buna hormonal regülasyonlar, ovaryumun ve uterusun histolojik yapısındaki döngüsel değişiklikler eşlik eder(Saladin *vd.*, 2018). Uterustaki yapısal değişiklikler aylık menstrual akış ile sonuçlanır(Saladin *vd.*, 2018).

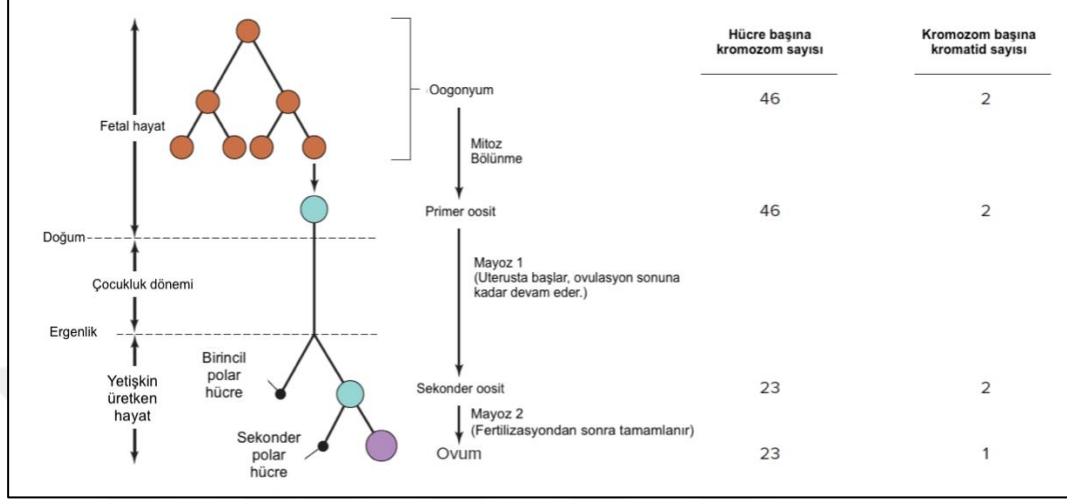
Oogenez mayoz bölünme ile gerçekleşir ve ortaya çıkan germ hücreleri olgunlaşma sürecine girer(Tortora ve Derrickson, 2009). Oogenez aşağıdaki aşamalardan oluşur(Şekil 4)(Tortora ve Derrickson, 2009; Saladin *vd.*, 2018):

- *Oogonya* adı verilen kök hücreler, bir dişi fetüsün yumurtalıklarında mitoz ile çoğalır. Bir çoğu dejenere olur ve doğmadan ölür(Saladin *vd.*, 2018).
- Her over, kendi kabarcıklı folikülünde gelişir ve folikülün patlaması ile ovulasyon yoluyla salınır(Saladin *vd.*, 2018). Foliküller fetüs halindeyken oluşmaya başlar ve içerisinde bulunan oogonyumlar farklılaşarak primer oositleri oluşturur(Saladin *vd.*, 2018). Primer oositler ergenliğe kadar stabil kalır(Saladin *vd.*, 2018). Üreme yılları boyunca büyüyen foliküllerin oluşturduğu çıkıntılarla overler desteklenir(Saladin *vd.*, 2018).
- Doğumdan kısa bir süre önce, hayatta kalan oogonya primer oositlere dönüşür ve erken mayoz l'e kadar ilerler, ancak ergenliğe kadar gelişmez. Doğumdan sonra hiçbir oogonya kalmaz(Saladin *vd.*, 2018).
- Gelişim aşamasında durdurulan her bir primer oosit, tek bir yassı foliküler hücre tabakası ile çevrilidir ve tüm yapıya bir

primordial folikül adı verilir(Tortora ve Derrickson, 2009). Primordial folikülleri çevreleyen over korteksi, kollajen liflerinden ve fibroblast benzeri stromal hücrelerden oluşur.

- Doğumda, her yumurtalıkta yaklaşık 200.000 ila 2.000.000 primer oosit kalır. Bunlardan 40.000'i hala ergenlikte varlığını sürdürür ve 400'ü bir kadının üreme yaşamı boyunca olgunlaşacak ve yumurtlayacaktır. Primer oositlerin geri kalanı hücrelerin dejenere olma sürecini ifade eden atreziye uğrar(Tortora ve Derrickson, 2009).
- Ergenlikten menopoza kadar her ay, ön hipofizlerden salgılanan gonadotropinler (FSH ve LH), ovulasyon için yalnızca bir folikülün olgunlaşmasına ihtiyaç olmasına rağmen birçok primordial folikülü gelişmesi için uyarır(Tortora ve Derrickson, 2009).
- Her bir primer oosit, eşit olmayan büyüklükte ve farklı yola sahip iki haploid yavru hücreye ayrılır(Saladin vd., 2018). Mümkün olduğu kadar sitoplazmaya sahip bir yumurta üretmek önemlidir, çünkü döllenirse tekrar tekrar bölünmek ve çok sayıda yeni hücre üretmek zorundadır(Saladin vd., 2018).
- Her oositin dört eşit parçaya ve küçük parçalara bölünmesi bu amaca aykırı olacaktır(Saladin vd., 2018). Bu yüzden mayoz I, sekonder oosit denilen geniş bir yavru hücre ve primer polar gövde denilen çok daha küçük bir hücre üretir(Saladin vd., 2018). Polar gövde dağılır; bu sadece fazladan kromozom setini atmanın bir yoludur(Saladin vd., 2018). İkincil oosit, metafaz II'ye kadar ilerler, ardından yumurtlama sonrasına kadar tutulur. Döllenmemişse ölür ve asla mayozu bitirmez(Saladin vd., 2018).
- Döllenirse mayoz II'yi tamamlar ve her bir kromozomdan bir kromatidi bertaraf eden sekonder polar gövdesini atar. Kalan

büyük yumurtanın kromozomları sperminkilerle birleşerek diploid zigot oluşturur(Saladin vd., 2018).



Şekil 4: Oogenez aşamaları.

Kaynak: Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T. & Shoeppe, T. C. *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. (Mc Graw Hill Education, 2019) adlı eserden sayfa 625'ten alındı.

2.3.3. Folikülogenez

Ovaryumdaki yaşamları boyunca overler folikül olarak bilinen yapılarda bulunur(Widmaier vd., 2019). Foliküller, granuloza hücreleri adı verilen tek bir hücre katmanı ile çevrili bir primer oositten oluşan primordial foliküller olarak başlar(Şekil 5)(Widmaier vd., 2019). Granuloza hücreleri östrojen, az miktarda progesteron (ovulasyondan hemen önce) ve inhibin salgılar(Widmaier vd., 2019).

Bir yumurta oogenez geçirirken, etrafındaki folikül, toplu olarak foliküler gelişimi ifade eden ve folikülogenez olarak adlandırılan, büyümenin beş aşamasına kadar gider(Saladin vd., 2018; Widmaier vd., 2019).

- 1. Primordial folikül.** Primordial folikül, tek bir skuamöz foliküler hücre tabakası ile çevrili primer oositten oluşur (Şekil 5)(Saladin vd., 2018). Primordial foliküller fetüsün on ikinci haftası kadar erken görünmeye başlar. Çoğunluğu en az 13 yıl, bazıları 50 yıl kadar gelişmeden kalırlar(Saladin vd., 2018).

2. **Primer folikül.** Foliküler hücreler küboidal hale gelir, ancak hala büyümüş primer oosit etrafında sadece bir katman şeklindedir(Saladin vd., 2018).
3. **Sekonder folikül.** Foliküler hücreler birbirlerinin üzerine bölünür ve üst üste yığılırlar(Saladin vd., 2018). Bu evrede foliküler hücrelere, *granuloza hücreleri* denir(Saladin vd., 2018; Widmaier vd., 2019). *Zona pellucida* adı verilen oosit etrafındaki berrak jel tabakasını salgırlar(Saladin vd., 2018; Widmaier vd., 2019). Bu esnada folikül çevresindeki bağ dokusu yoğunlaşarak *teka* hücrelerini oluşturur(Saladin vd., 2018; Widmaier vd., 2019).
4. **Tersiyer folikül.** Daha sonra, folikül hücreleri folikül duvarındaki küçük havuzlarda biriken bir sıvı salgırlar(Saladin vd., 2018). Genişledikçe, havuzlar birleşir ve tek bir sıvı dolu boşluk olan *antrum* haline gelir(Saladin vd., 2018). Antrumun bir tarafında, bir granuloza hücresi tepeciği oositi kaplar ve onu folikül duvarına sabitler(Saladin vd., 2018). Yumurtanın etrafındaki hücrenin en içteki tabakası, kan dolaşımından hiçbir şeyin oositlere girmesine izin vermeyen (ancak oositlerden geçişine izin veren) bir bariyer oluşturur(Saladin vd., 2018). Granuloza hücreleri seçici olarak besin maddelerinin ve hormonların yumurtaya geçişine izin verirken, antikor ve diğer potansiyel zararlı maddeleri ayıklar (Tablo 1)(Saladin vd., 2018). Teka, özellikle östrojen gibi cinsiyet hormonlarının salgılanması için kan damarları için zengin kaynak sağlar ve folikül hücrelerle işbirliği içerisinde olur(Saladin vd., 2018). Teka kandaki kolesterolü absorbe ederek androjenlere dönüştürür(Saladin vd., 2018). Granuloza hücrelerine difüze olan androjenler, östrojenlere özellikle östradiol'e çevrilir(Saladin vd., 2018). Ovulasyon sonrası, over progesteron-salgılayan hücrelere dönüşürler(Saladin vd.,

2018). Kısacası, foliküller bir kadının baskın cinsiyet hormonlarının ana kaynağıdır.

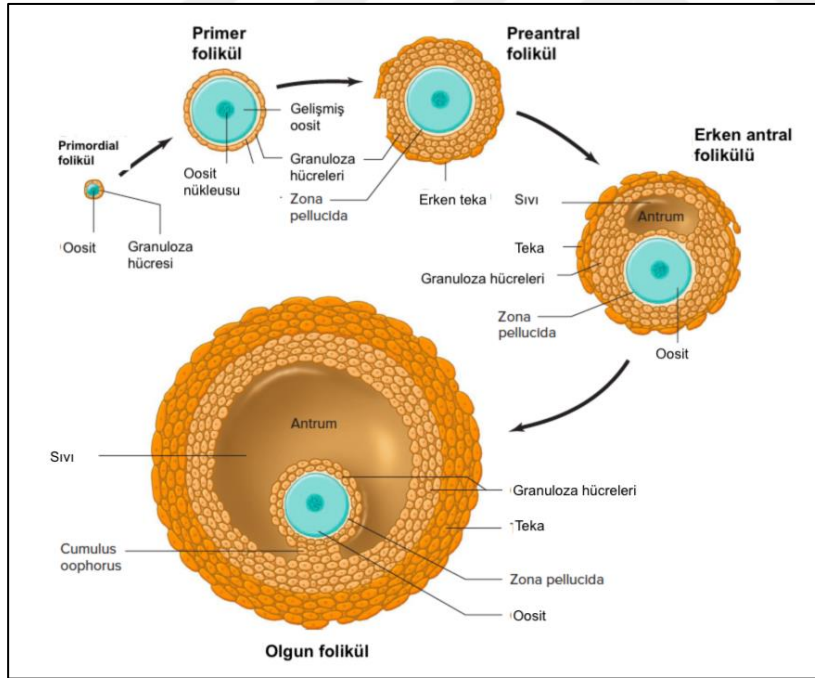


Tablo 1: Granuloza hücrelerinin fonksiyonları.

| |
|---|
| Oositleri besler. |
| Oositi ve teka hücrelerini etkileyen kimyasal uyarıcıları salgılar. |
| Antral sıvıyı salgılar. |
| Erken ve orta foliküler fazlarda folikül gelişiminin kontrolünde östrojen ve FSH'nin etki bölgesidir. |
| Androjeni (teka hüresinden) östrojene dönüştüren aromatazı üretir. |
| Hipofiz bezine etki ederek, FSH salınımını inhibe eden inhibini üretir. |
| Yumurtlama ve korpus luteum oluşumu ile sonuçlanan oosit ve folikülde değişikliklerin LH indüksiyonuna yönelik etki bölgesidir. |

Kaynak: Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T. & Shoeppe, T. C. *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. (Mc Graw Hill Education, 2019), Sayfa 630'dan alındı.

5. Olgun (Graaf) folikülü. Normalde, her aylık takımda diğerleri dejenere olurken sadece bir folikül, ovulasyon hedefli olgun bir folikül haline gelir(Saladin vd., 2018).



Şekil 5: Bir insan oositinin ve ovaryen folikülün gelişimi.

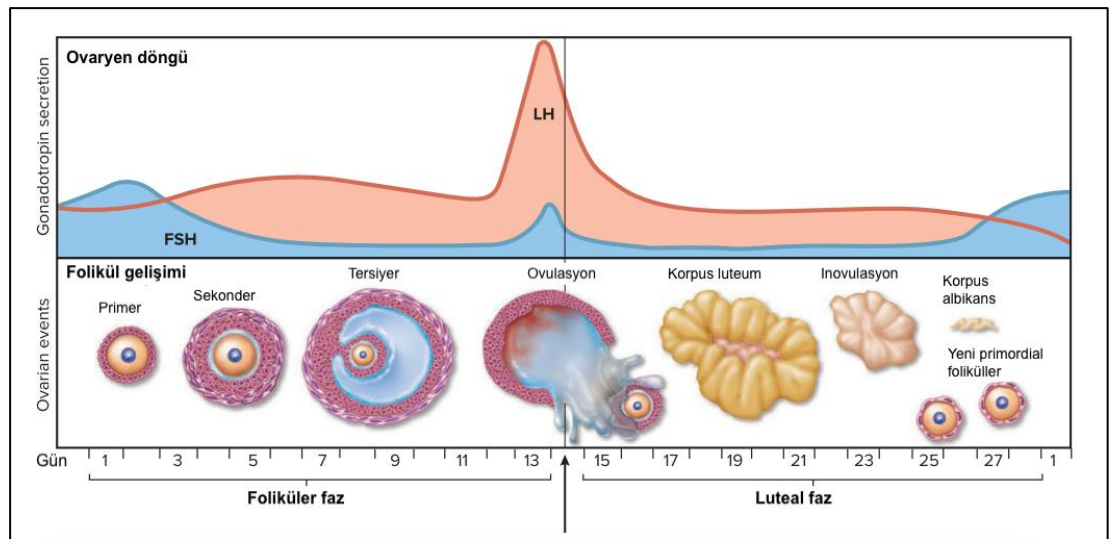
Kaynak: Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T. & Shoeppe, T. C. *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. (Mc Graw Hill Education, 2019) adlı eserden sayfa 626'dan alındı.

2.3.4. Korpus Luteum'un Oluşumu ve Ovaryum Döngüsü

Olgun folikül antral sıvısını ve yumurtasını boşalttıktan sonra, antrumun etrafında çöker ve hızlı bir dönüşüme uğrar(Widmaier vd., 2019). Granuloza hücreleri büyük ölçüde genişler ve oluşan salgı bezine benzer yapının tamamına östrojen, progesteron ve inhibin salgılayan korpus luteum adı verilir(Widmaier vd., 2019). Fallop tüpündeki yumurta, döllenmediği sürece korpus luteum yaklaşık 10 gün içinde maksimum gelişimine ulaşır(Widmaier vd., 2019). Daha sonra apoptoz ile hızlı bir şekilde dejenere olur(Widmaier vd., 2019). Korpus luteum fonksiyonunun kaybı, menstruasyona ve sonrası yeni bir menstrual döngünün başlangıcına öncülük eder(Widmaier vd., 2019).

Ovaryum döngüsü açısından, menstrual döngü eşit uzunlukta ve ovulasyon ile ayrılan iki faza ayrılabilir(Widmaier vd., 2019). Bunlar aşağıdaki gibidir (Şekil 6).

- 1. Foliküler faz.** Olgun bir folik ve sekonder oositin oluştuğu faz(Widmaier vd., 2019).
- 2. Luteal faz.** Ovulasyondan sonra başlayan ve korpus luteumun ölümüne kadar devam eden faz(Widmaier vd., 2019).



Şekil 6: Over döngüsü.

Kaynak: Saladin, K. S., McFarland, R. K., Gan, C. A. & Cushman, H. N. *Essentials of Anatomy & Physiology*. (Mc Graw Hill Education, 2018) adlı eserden sayfa 654'ten alındı.

Foliküler fazda 1. günden 13. güne kadar, FSH tarafından uyarılan foliküller büyüdükçe östradiol üretirler(Saladin *vd.*, 2018). Dominant folikül olarak döngüde rastgele seçilen folikül, FSH, LH ve östradiole karşı daha duyarlı olduğundan, ovulasyona kadar diğerlerinden daha çok gelişir(Saladin *vd.*, 2018). Aynı zamanda, overlerdeki östradiol ve inhibin dolaylı olarak hipofiz bezinden FSH salınımını baskılar(Saladin *vd.*, 2018). Böylelikle, FSH seviyesi azalır ama dominant folikülün hassasiyeti aynı kalır. Bu durum diğer foliküllerin dejenere olmasına neden olurken, dominant folikülün büyümeye devam etmesini sağlar. Yaklaşık 20 mm boyutuna ulaşan dominant folikül, ovulasyona hazır hale gelir ve olgun folikül (Graaf hücresi) olarak adlandırılır(Saladin *vd.*, 2018).

Genellikle 14. Gün görülen ovulasyon, olgun folikülün parçalanarak yumurtayı ve çevresindeki hücreleri bırakması durumudur(Saladin *vd.*, 2018). Ovulasyon esnasında hipofiz bezinden LH salınımı artar ve ovulasyonun hemen önceki günü LH seviyesi en yükseğe ulaşır(Saladin *vd.*, 2018). Bu durum birçok olayı peşinden getirir. Mayoz I'i tamamlayan primer oositler, birincil polar gövdelerinden ayrılarak, haploid sekonder oositlere dönüşürler. Foliküler sıvı hızlıca oluşur ve folikül 25 mm boyutlarına kadar (normal boyutlardaki tüm yumurtalığın iki katı kadar) şişer(Saladin *vd.*, 2018).Foliküler duvar ve bitişik over dokusu, inflamasyonla zayıflar(Saladin *vd.*, 2018). Artan iç basıncı ve zayıflayan duvarı ile olgun folikül patlamaya hazır hale gelir. Bu sırada uterus tüpü oositi tutmaya hazırlanır. Ödemle şişer; fimbria'ları, kadının kalp atışları ile uyumlu olarak yumurtalıklarını sarar ve silileri yakındaki peritoneal sıvıda yumuşak bir akış oluşturur(Saladin *vd.*, 2018).

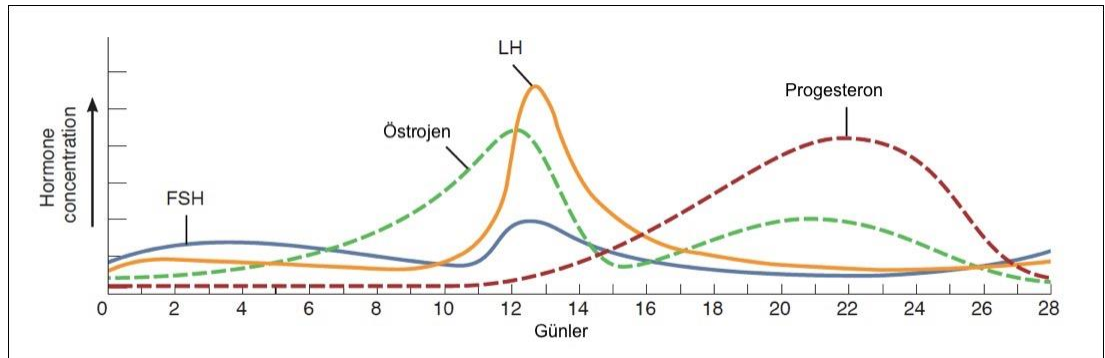
Yumurtlama sadece 2 veya 3 dakika sürer. Folikülün üzerinde bir çıkıntı belirir; 1 veya 2 dakika sıvı akar; ve sonra folikül patlar (Şekil 6). Oosit ve tamamlayıcı hücrelerini taşıyan kalan sıvı dışarı çıkar, sililer tarafından akışla birlikte uterus tüpüne ulaşır(Saladin *vd.*, 2018; Widmaier *vd.*, 2019). Folikül olgunlaşması ve yumurtlaması normalde döngü başına

sadece bir yumurtalıkta görülür ve yumurtalıklar genellikle aydan aya değişir(Saladin vd., 2018; Widmaier vd., 2019). Bazı kadınlar ovulasyon olaylarını hafif bir karın ağrısı çekmesi olarak hissedebilir(Saladin vd., 2018; Widmaier vd., 2019).

Ovulasyondan hemen sonra görülen 15 ve 28. günlerdeki menstruasyona giden döngü luteal (postovulatar) fazdır¹. Folikül parçalandığında, yıkımlanır ve antrumdan dökülür¹. Pıhtılaşmış kan emildikçe, foliküller ve teka hücreler çoğalır ve antrumu doldurur, bunların arasında yoğun bir kan kılcal damar yatağı büyür¹. Folikül şimdi hücrelerinde biriken sarı bir lipid olarak adlandırılan *korpus luteum* olarak adlandırılır¹.

LH, bu transformasyonu kopmuş folikülden korpus luteuma kadar stimule eder¹. Korpus luteum artan seviyelerde östrojen ve özellikle progesteron üretir¹. Aynı zamanda, korpus luteumdan salgılanan hormonlar negatif geribesleme ile hipofiz bezinin FSH ve LH üretimini inhibe eder (Şekil 7)¹.

Yaklaşık 22. Günde (ovulasyondan 8 gün sonra) korpus luteum küçülür, büzüşür ve sonunda artık bir doku kalır¹. Büzüşme olayına inovulasyon denir ve sonuçta ortaya çıkan doku da korpus albicans olarak adlandırılır (Şekil 6)¹. Yumurtalık steroid salgısının azalmasıyla, hipofiz artık engellenmez ve FSH seviyeleri tekrar yükselmeye başlar ve yeni bir folikül takımını olgunlaştırır¹.



Şekil 7: Ön hipofiz ve over hormonlarının konsantrasyonundaki değişimler.

Kaynak: Tortora, G. J. & Derrickson, B. H. *Principles of Anatomy and Physiology Volume 2*. (John Wiley & Sons, Inc., 2009) adlı eserden sayfa 1114'ten alındı.

2.3.5. Menstrual Döngüde Uterus Değişimleri

Menstrual döngüdeki fazlar, aynı zamanda uterustaki olaylarla da açıklanabilir(Widmaier *vd.*, 2019). Genellikle, 28 günlük döngüde 3-5 gün arası süren menstruasyon sırasında, ovaryen olaylarına paralel olarak uterus değişimlerinden oluşur; bu döngünün çoğunda endometriyum birikimi ve bunu takiben kırılması ve vajinal akıntıyı içerir(Saladin *vd.*, 2018).Menstrual akış daha sonra durur ve endometriyum, östrojen etkisi altında yeniden üretildiğinde kalınlaşmaya başlar(Widmaier *vd.*, 2019). Proliferatif faz olan bu büyüme periyodu, menstruasyonun sona ermesi ile yumurtlamanın oluşması arasında 10 gün kadar sürer(Widmaier *vd.*, 2019).Ovulasyondan hemen sonra, korpus luteumdan progesteron ve östrojen etkisi altında, endometriyum glandüler epitelde glikojen salgılamaya başlar, bunu glikoproteinler ve mukopolisakaritler izler(Widmaier *vd.*, 2019).

Menstrual döngüsündeki uterusta değişimlere, yumurtalıklardan salgılanan plazma östrojen ve progesteronun konsantrasyonundaki değişiklikler neden olur(Widmaier *vd.*, 2019). Proliferatif faz sırasında, artan bir plazma östrojen konsantrasyonu, hem endometriyum hem de altta yatan uterus düz kasının (miyometriyum adı verilen) büyümesini uyarır(Widmaier *vd.*, 2019).Ayrıca, endometriyal hücrelerde progesteron reseptörlerinin sentezini indükler(Widmaier *vd.*, 2019). Daha sonra, ovulasyon ve korpus luteumun oluşumunu takiben (salgılama fazı sırasında), progesteron aktif olarak salgılayan bir dokuya dönüştürmek için bu östrojenle astarlanmış endometriyuma etki eder(Widmaier *vd.*, 2019). Endometriyal bezler sarılır ve glikojenle doldurulur, kan damarları daha fazla hale gelir ve enzimler bezlerde ve bağ dokusunda birikir(Widmaier *vd.*, 2019). Bu değişiklikler, endometriyumu, gelişmekte olan embriyonun implantasyonu ve beslenmesi için uygun bir ortam haline getirmek için esastır(Widmaier *vd.*, 2019).

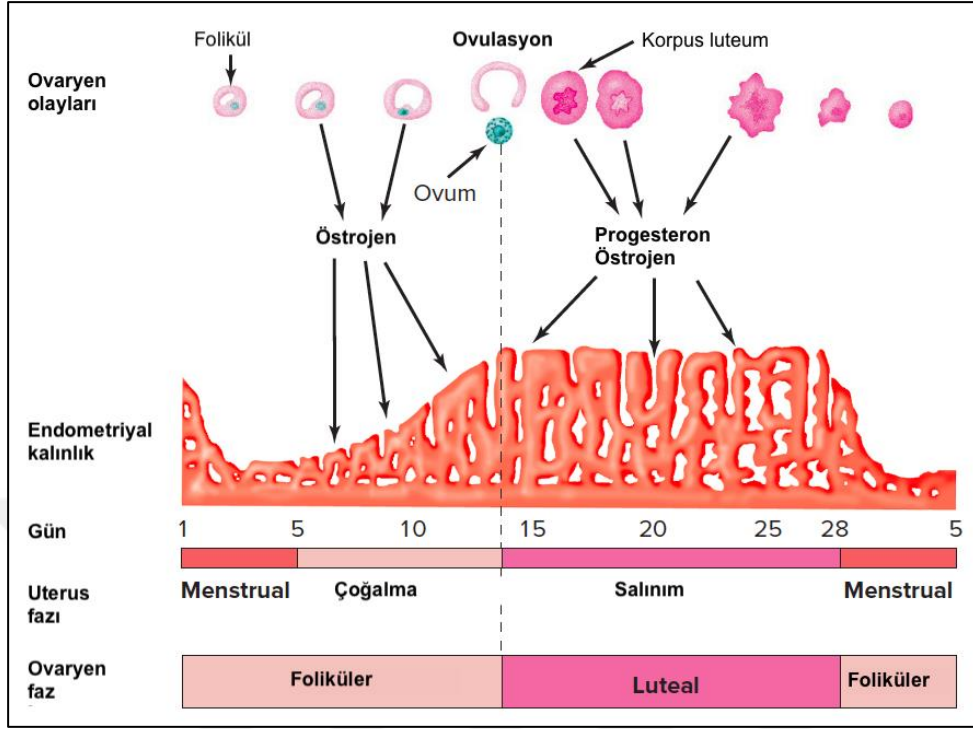
Progesteron ayrıca, kısmen östrojen ve lokal olarak üretilen prostaglandinlerin uyarıcı etkilerine karşı çıkarak myometriyal kasılmaları da inhibe eder(Widmaier *vd.*, 2019). Bu, döllenmiş bir yumurtanın uterusu ulaştığında güvenli bir şekilde implante edebilmesini sağlamak için çok

önemlidir. Uterus sessizlik, hamileliğin sonuna kadar progesteron tarafından sağlanır ve erken doğumun önlenmesi için gereklidir(Widmaier *vd.*, 2019).

Korpus luteumun dejenerasyonundan kaynaklanan plazma progesteron ve östrojen konsantrasyonlarındaki azalma, hormonal desteğinin oldukça gelişmiş endometriyumunu sınırlar ve menstrüasyona neden olur(Widmaier *vd.*, 2019). İlk olay uterus kan damarlarının daralmasıdır, bu da endometriyal hücrelere oksijen ve besinlerin azalmasına neden olur(Widmaier *vd.*, 2019). Parçalanma, bir sonraki döngüde endometriyumu yeniden oluşturacak olan ince, altta yatan bir tabaka dışında tüm astarda başlar. Ayrıca, uterus düz kas ritmik kasılmalara maruz kalır(Widmaier *vd.*, 2019).

Uterustan menstrual akış, 50-150 mL kan, doku sıvısı, mukus ve endometriyumdan dökülen epitelyal hücrelerden oluşur(Tortora ve Derrickson, 2009). Bu akıntı, progesteron ve östrojenlerin azalan seviyelerinin, uterus spiral arteriyollerinin daralmasına neden olan prostaglandin salınımını uyarması nedeniyle oluşur(Tortora ve Derrickson, 2009). Sonuç olarak, hücreler oksijensiz hale gelir ve ölmeye başlar. Sonunda, tüm stratum işlevsiz hale gelir(Tortora ve Derrickson, 2009). Sadece stratum basalis olarak kalan endometriyum çok ince kalır (yaklaşık 2-5 mm)(Tortora ve Derrickson, 2009). Menstrual akış, uterus boşluğundan serviks ve vajinadan dışa doğru geçer(Tortora ve Derrickson, 2009).

Menstrual döngü esnasında ovaryen ve uterus değişimleri arasındaki ilişki Şekil 8'de gösterilmiştir(Widmaier *vd.*, 2019).



Şekil 8: Menstrual döngüde ovaryen ve uterus değişimleri arasındaki ilişki.

Kaynak: Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T. & Shoeppe, T. C. *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. (Mc Graw Hill Education, 2019) adlı eserdensayfa 631'den alındı.

2.4. Polikistik Over Sendromu

Polikistik over sendromu (PKOS), hem metabolik hem hormonal etkileri olan, heterojen ve karmaşık bir hastalık olmakla birlikte, kadınların %4-12'sini etkileyen, en sık görülen endokrin bozukluğudur (Lashen, 2010; Meier, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Palomba, 2018; Tanbo vd., 2018). Günümüzde PKOS, üreme ve metabolik özelliklerin bir kombinasyonunu içeren bir bozukluğu ifade etmektedir (Lashen, 2010).

PKOS ilk kez, 1935 yılında Amerikalı jinekologlar Dr. Irving F. Stein, Sr ve Dr. Michael L. Leventhal'in hiperandrojenizm ve oligomenore (reglin seyrek olması) veya amenore (reglden kesilme) semptomları ile başvuran hastalar üzerinden açıklanmıştır (Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018). Bu hastalarda aynı zamanda iki taraflı polikistik overlerin bulunması üzerine cerrahi operasyonla overlere müdahale sonrası, hastaların düzensiz menstrual döngüleri ve fertilité sorunları normalize edildiğinden, doktorlar hastalığın nedeninin polikistik overlerin işlevsizliğinde

ya da “polikistik over sendromu” adı altında kaldığı sonucuna varmıştır(Edmondson, 2018).

Son yirmi yılda bu sendromun tanı kriterlerini belirlemek için büyük çaba sarf edilmiştir(Orio ve Muscogiuri, 2018). Hormonal yönlerin yanı sıra, insülin direnci ve obezite gibi metabolik sorunlar ve beklenenden daha önce yaşanan glikoz intoleransı gibi durumlar göz önünde bulundurularak, etkilenen kadınlarda potansiyel terapötik stratejileri planlamak için bu ölçütlerin tanısız kriterlere dahil edilmesi gerektiği fikrini teşvik etmiştir(Orio ve Muscogiuri, 2018). Dahası, ailelerde ve hem kadın hem de erkek akrabalarındaki PKOS gen kümeleri, sendromun stigmatalarını göstererek genetik bir geçmişe işaret eder(Orio ve Muscogiuri, 2018). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları sonucunda, sendromun gelişimindeki rollerini tanımlamak için daha fazla araştırılması gereken bazı gen aday bölgeleri belirlenmiştir(Orio ve Muscogiuri, 2018).

PKOS'un tam olarak nedeni bilinmemekle birlikte, hastalığın oluşmasına neden olan birçok faktör olduğu düşünülmektedir(Edmondson, 2018). Aynı zamanda, PKOS gelişiminde genetik faktörlerin de etkili olduğuna inanılmaktadır. Yapılan çeşitli hayvan modeli çalışmalarda, artan maternal androjene fetalın maruz kalmasının, PKOS gelişimi ile ilişkili olduğuna dair bulgular elde edilmiştir(Edmondson, 2018). Ayrıca PKOS'lu genç kadınlar üzerinde yapılan çalışmalarda, babalardaki obezite oranının %94 ve metabolik sendromunun %79 olduğu bulunmuştur(Edmondson, 2018). Aynı çalışmada, annelerin de %54,4 oranında obez olma oranına ve %34 oranında metabolik sendromuna sahip oldukları bulgular arasındadır(Edmondson, 2018). Kısacası, obezitenin PKOS ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

PKOS'un nedeni olarak ortaya atılan bir başka fikir ise, çocukluk ve ergenlik döneminde meydana gelen değişiklikler veya maruz kalma durumlarıdır(Edmondson, 2018). Steroidlerin yumurtalıklar tarafından üretilmesinin, PKOS gelişiminde, özellikle de insülin benzeri büyüme faktörü 1 üretiminin arttığı dönemlerde bebeklik döneminde rol oynadığı

düşünülmektedir(Edmondson, 2018). Ergenlik döneminde meydana gelen hormonal değişimlerin, ergenlik döneminde androjen üretimindeki artış veya basitçe atipik beyin gelişimi nedeniyle PKOS'un nedeninde rol oynadığı düşünülmektedir(Edmondson, 2018). Atipik beyin gelişimi, atipik ergenliğe ve dolayısıyla anormal hormonal üretimine yol açtığı düşünülmektedir(Edmondson, 2018).

2.4.1. Patogenezi

PKOS'un patogenezi tam olarak açıklanamamakla birlikte dört farklı olay bu sendroma farklı derecede katkıda bulunmaktadır(Crespo *vd.*, 2018). Bunlar; artan over ve/veya adrenal androjen salgılanması, folikülojenезin kısmen durdurulması, insülin direnci ve nöroendokrin fonksiyon bozukluğudur(Crespo *vd.*, 2018). Sendromun etiyolojisi henüz bir netlik kazanmamış olsa da, yapılan kalıtsal çalışmalar, ailesel kümeleme ve ikiz çalışmaları sonucunda, PKOS'un güçlü bir kalıtsal özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir(Das *vd.*, 2008; Azziz, 2016; Mykhalchenko *vd.*, 2017; Bakhshalizadeh *vd.*, 2018; Crespo *vd.*, 2018).

Yakın tarihte, bazı Kafkasya ve Asya gruplarında genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS)PKOS ile ilişkili en az 16 sağlam gen bölgesi olduğunu bildirmiştir(Azziz, 2016; Crespo *vd.*, 2018; Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018). Bu gen bölgelerinin birçoğu gonadotropin salgısını ve etkisini, yumurtalık folikülojenезini, insülin salgısını ve etkisini, ağırlık ve enerji düzenini ve androjen biyosentezi ve etkisini düzenleyen önemli rollere sahip genlere yakındır(Azziz, 2016; Crespo *vd.*, 2018; Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018).

2.4.2. Patofizyolojisi

1930'lu yıllarda ilk defa Stein-Leventhal sendromu olarak tanımlanan PKOS'un belirleyici faktörü olarak overlerdeki kist varlığı yeterli görülüyordu(Ring, 2018). Ancak günümüze kadar yapılan çalışmalarda, kistlerin endokrin sistemin bir bozukluğu olarak başlayan şeylerin yalnızca bir olası ifadesi olduğu belirlenmiştir(Ring, 2018). PKOS teşhisi konan

kadınlarda pelvik ultrasonda biyokimyasal özellikler bakımından karakteristik değişiklikler görülmekle birlikte, hormonal bozukluğu olmayan kadınların %20'si ile %30'u benzer ultrason özelliklere sahiptir(Ring, 2018).

Potansiyel patofizyolojik mekanizmalar arasında primer hipotalamik-hipofiz, over, adrenal ve metabolik disfonksiyonlar yer almaktadır(Azziz, 2016; Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018).

Hipotalamustan salgılanan GnRH, hipofizi uyararak gonadotropinlerin yani FSH ve LH hormonlarının salgılanmasından sorumludur(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). PKOS hastalarında GnRH'ın düzensiz ve çokça salınımı, gonadotropin üretiminde bir dengesizliğe sebep olmaktadır(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018).LH salgılanması artarken, FSH salınımı aynı veya azalan seviyelerde seyretmektedir(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). LH, teka hücrelerinin çoğalmasını ve androjenlerin salgılanmasını uyarır, ancak granuloza hücrelerini uyarmak için ortamda yeterli düzeyde FSH bulunmamaktadır(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). Over tarafından östrojen üretimi, granuloza hücrelerinin ifade ettiği enzim olan aromataz aktivitesine bağlıdır. Bu nedenle PKOS durumunda, ortamda yeterli granuloza hücresi bulunmadığından, androjenler östrojene dönüştürülemez ve ortamda bulunan yüksek androjen seviyeleri hiperandrojenizme ve folikül gelişiminin ilerlememesine sebep olmaktadır(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). Aynı zamanda, androjen miktarının fazla olması, overler tarafından aşırı miktarda Anti-Mullerian Hormonu'nun (AMH) salgılanmasına neden olmaktadır(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). Bu hormon FSH'ın aromataz üretmediği durumlarda ortaya çıkar ve küçük foliküllerin granuloza hücreleri tarafından bol miktarda salgılanır(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). Yapılan araştırmalar, AMH'infolikül büyümesinin inhibe edilmesinde aktif olduğunu ve PKOS teşhisinde bir kriter

olduğunu göstermektedir(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018).

PKOS ile ilişkili metabolik bozukluklar da vardır. Sıklıkla, PKOS'lu hastaların insüline dirençli olduğu bulunmuştur(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). İnsülin direnci, insüline karşı azalmış bir hassasiyet olduğundan, bu, aynı etkiyi elde etmek için daha fazla insülinin gerekli olduğu anlamına gelmektedir(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). Bu nedenle insüline dirençli olan bireylerde daha yüksek seviyede insülin sekresyonu veya hiperinsülinemi vardır. PKOS'lu hastaların insüline dirençli oldukları için tip 2 diabetes mellitus (T2DM) gelişimi için daha büyük risk altındadırlar(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). PKOS'lu birçok kadın da fazla kilolu veya obezdir ve bu onların insülin direncine ve T2DM için risklerine katkıda bulunmaktadır(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018).

PKOS'ta gözlenen ovaryen anormalliklerinin çoğu hipotalamik-hipofiz fonksiyon bozukluğu ile ilgili olmakla birlikte, ovaryen fonksiyonunda ortaya çıkan içsel bozukluklar, fonksiyonel ve morfolojik gonadal kusurlar da bu sendroma sebep olmaktadır(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018). LH, FSH, AMH, insülin, insülin benzeri büyüme faktörü arasındaki anormal etkileşimler PKOS'ta anovulasyona sebep olan faktörlerdir(Dumont, Plouvier ve Dewailly, 2018; Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018; Ring, 2018).

Bununla birlikte, son GWAS sonuçlarının önerdiği gibi, ovaryen folikül fonksiyonunun doğasında da kusurlar olabilir(Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018). PKOS'da ovaryen foliküllerinin teka hücrelerinde artan androjen üretimi, steroidojenik genlerin regülasyonunda bozukluklara sebep olabilir(Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018).

Son olarak, overlerdeki insülin etkisindeki iç kusurlar da anormal androjen üretimine neden olabilir(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018). Genel olarak, bu mekanizmalar over hiperrandrojenizmi, ovulasyon fonksiyon bozukluğu ve dolaşımdaki hiperandrojenemi ve hiperestrogenemi (androjenlerin östrojenlere periferik dönüşümüne ikincil faktördür)ile sonuçlanır(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018).

2.4.3. Klinik Özellikler ve Tanılama Kriterleri

PKOS tanısı konan hastalarda genel olarak görülen üç semptom sırası ile; hirsutizm (tüylenme artışı), kilo alımı ve amenoredir (reglden kesilme)(Edmondson, 2018; Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Meier, 2018; Waldman ve Legro, 2019). Bu hastalıklar aynı anda veya farklı zamanlarda ortaya çıktığından ve endokrinoloji, jinekoloji gibi farklı uzmanlık alanlarını ilgilendirdiğinden, PKOS hastalarındaki bulguların evrensel olarak bir bütün halinde incelenmesi hastalığın tanı ve tedavisinde büyük önem taşır(Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Palomba, 2018; Ortiz-Flores, Luque-Ramírez ve Escobar-Morreale, 2019). PKOS'un ek belirti ve bulguları Tablo 2'de verilmiştir(Edmondson, 2018).

Tablo 2: Polikistik over sendromunun belirti ve semptomları.

| Belirtiler | Semptomlar |
|--|---------------------|
| Tip 2 diabetes mellitus | Akne |
| Hipertansiyon | Aşırı yağ salgılama |
| İnsülin direnci | Hirsutizm |
| Akanthosis nigrikans ¹ | Düzensiz mens |
| Alkole bağlı olmayan karaciğer sorunları | Kısırlık |
| Obstrüktif uyku apnesi | Saçkıran |
| Düzensiz LH/FSH hormon oranı | Obezite |

Kaynak: Edmondson, E. S. Understanding Polycystic Ovarian Syndrome. *Physician Assist. Clin.*3, 353–362 (2018). Sayfa 355'ten alındı.

PKOS tanısında, tipik olarak hastanın aile geçmişine, tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon veya başka bir koroner arter hastalığı gibi kardiyovasküler veya endokrin hastalıkları olup olmadığına bakılır(Zisser H.C., 2007; Aydos, Öztemur ve Gür-Dedeoğlu, 2016; Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Rothenberg vd., 2018; Ortiz-Flores, Luque-Ramírez ve Escobar-Morreale, 2019; Waldman ve Legro, 2019). Hastanın aile öyküsünün PKOS için pozitif olması muhtemeldir, çünkü bu hastalık kalıtsal olarak kabul edilir(Zisser H.C., 2007; Aydos, Öztemur ve Gür-Dedeoğlu, 2016; Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Rothenberg vd., 2018; Ortiz-Flores, Luque-Ramírez ve Escobar-Morreale, 2019; Waldman ve Legro, 2019). Bir aile öyküsünün yanı sıra, hastaya endokrin veya jinekolojik bozukluklar ve ilaçlar dahil geçmiş tıbbi öyküsü hakkında sorular sormak önemlidir(Zisser H.C., 2007; Aydos, Öztemur ve Gür-Dedeoğlu, 2016; Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Rothenberg vd., 2018; Ortiz-Flores, Luque-Ramírez ve Escobar-Morreale, 2019; Waldman ve Legro, 2019). Bunlar; PKOS'da görülenlere benzer semptomlara neden olabilir; bu nedenle, onları dışlamak önemlidir(Zisser

¹ Cilt kalınlaşması. Karadağ, A. S., You, Y., Danarti, R., Al-Khuzaei, S. & Chen, W. Acanthosis nigricans and the metabolic syndrome. *Clin. Dermatol.*36, 48–53 (2018).

H.C., 2007; Aydos, Öztemur ve Gür-Dedeoğlu, 2016; Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Rothenberg vd., 2018; Ortiz-Flores, Luque-Ramírez ve Escobar-Morreale, 2019; Waldman ve Legro, 2019).

PKOS'un tanısında beslenme alışkanlıklarının da önemli olduğu görülmüştür(Zisser H.C., 2007; Aydos, Öztemur ve Gür-Dedeoğlu, 2016; Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Rothenberg vd., 2018; Ortiz-Flores, Luque-Ramírez ve Escobar-Morreale, 2019; Waldman ve Legro, 2019). 2014 yılında yapılan bir çalışmada, ergenlik dönemi kızlarda yüksek şeker ve kalori alımının PKOS'a yol açtığı bulunmuştur(Eleftheriadou vd., 2015). Bu kızlar ayrıca daha fazla toplam yağ, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağlar ve kolesterol yeme eğiliminde oldukları belirlenmiştir(Eleftheriadou vd., 2015).

PKOS'dan şüphelenildiği durumlarda, hastanın fiziksel muayenesinde hirsutizm, akne, alopesi ve pigmentasyon değişikliklerini kontrol etmek için ayrıntılı bir cilt muayenesi yapılır(Edmondson, 2018). İlgili uzman, PKOS ile mevcut olabilecek endokrin sistem semptomlarını değerlendirir(Edmondson, 2018). PKOS olduğundan şüphelenilen her hastaya pelvik muayene yapılır(Edmondson, 2018). Pelvik muayenede, uzman her iki taraflı pelvik kitleyi kontrol eder(Edmondson, 2018).Ancak tüm bunlar PKOS'u teşhiste her zaman yeterli olmamaktadır. Olumlu bulgular, PKOS'u teşhis etmek için daha fazla çalışmanın yapıldığını göstermektedir(Edmondson, 2018).

Tarihsel olarak PKOS, hiperandrojenizm (akne, hirsutizm, hiperinsülinemi), regl düzensizlikleri (döngü uzunluğu> 35 gün, oligo-yumurtlama veya anovülasyon) ve / veya polikistik yumurtalıklar dahil olmak üzere semptomların ve klinik özelliklerin bir takımıydı ile karakterize edilmiştir(Meier, 2018). Bu genel klinik özelliklere uygun olarak günümüzde, PKOS tanısında belirlenmiş ve yaygın olarak kullanılan üç ana kriter mevcuttur(Edmondson, 2018; Meier, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018). Bunlar; National Institutes of Health (NIH) Kriteri, Rotterdam Kriteri ve Androjen Excess-PCOS Society Kriteri'dir(Edmondson, 2018; Meier, 2018;

Orio ve Muscogiuri, 2018). PKOS'un bu kriterlere göre tanısı Tablo 3'te gösterilmiştir(Orio ve Muscogiuri, 2018).

Tablo 3: Polikistik over sendromu için tanı kriterleri².

| NIH Kriteri (1990) | Rotterdam Kriteri (2003) | Androgen Excess and PCOS Society Kriteri(2006) |
|---|--|---|
| Aşağıdakileri içermelidir: - Hiperandrojenizm ve / veya hiperandrojenemi -Anovülasyon veya oligo yumurtlama | Aşağıdakilerden yalnızca ikisini içermelidir: -Anovülasyon veya oligo yumurtlama -Hiperandrojenizmin klinik ve / veya biyokimyasal belirtileri - PCOM (Polikistik over morfolojisi) | Aşağıdakileri içermelidir: -Hirsutizm ve / veya hiperandrojenemi -Oligo yumurtlama ve / veya PCOM |

Kaynak: Orio, F. & Muscogiuri, G. Diagnostic Criteria for PCOS. in *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome 2* (ed. Palomba, S.) (Springer International Publishing, 2018). Sayfa 13'ten alındı.

NIH kriteri, ilk geliştirilen ve günümüzde en yaygın olarak kullanılan kriterdir (Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Wolf vd., 2018). Rotterdam kriteri ise, NIH kriterini genişletmek amacı ile formüle edilmiştir(Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Wolf vd., 2018). Öte yandan, "Androgen Excess and PCOS Society" Kriteri(AE-PKOS) kanıta dayalı bir tanım sağlamak amacı ile ortaya çıkmıştır(Edmondson, 2018; Orio ve Muscogiuri, 2018; Wolf vd., 2018).Yakın zamanda, 2018 Uluslararası PKOS Kılavuzu (International Guidelines for PCOS), Rotterdam kriterlerini birkaç düzeltme ile uygun bulmuştur(Wolf vd., 2018).Hastada düzensiz mens döngüsü varsa ve hiperandrojenizm mevcutsa tanı için bir ultrason gerekmediği, ancak yine de fenotiplendirme için önerildiği kabul görmüştür(Wolf vd., 2018). Öte yandan bu kriterde; ergenlerin teşhis ve tanısında daha katı kurallara sahip olması ve tanıda hiperandrojenizm ve yumurtlama fonksiyon bozukluğunun kriter olarak gerekmesi ve teşhis

²Diğer olası bozuklukların haricinde: over veya adrenal androjen salgılayan tümörler, tiroid hastalığı, hiperprolaktinemi, klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi.

yapılacağı zamanın ilk menstruasyondan en az iki yıl sonra olması gerektiği vurgulanmıştır(Wolf vd., 2018). Ayrıca bu kriterde ergenlerde ultrason önerilmemektedir(Wolf vd., 2018).

Hastaya PKOS tanısını resmi olarak koymadan önce, harici tutulması gereken bir takım ayırıcı tanılar bulunmaktadır. Bu farklılıklar hastanın mevcut semptomlarına dayanarak üretilir ve üreme ve endokrin sistem bozukluklarını içerir. Tablo 4, bu ayırıcı tanıları, bu tanılar ve PKOS arasında benzer olan semptomları ve bunları hariç tutmak için kullanılan tanısal testleri içerir.

Tablo 4: Polikistik over sendromu için ayırt edici tanılar³.

| Olası Tanılar | Ortak Semptomlar | Ayırıcı Laboratuvar Testleri |
|---------------------|------------------------|------------------------------|
| Gebelik | Amenore | hCG gebelik testi |
| Prolaktinom | Amenore | Prolaktin |
| Hipotiroidizm | Amenorrhea, kilo alımı | TSH ve serbest-T4 |
| Cushing sendromu | Hirsutizm, obezite | 24-saat üre serbest-kortizol |
| Hiperthekosis | US'ta over kisti | Total testosteron |
| Over tümörü | US'ta over kisti | Total testosteron |
| Adrenal tümörü | Hiperandrojenizm | DHEA-S |
| Geç başlangıçlı CAH | Hiperandrojenizm | 17-Hidroxyprogesteron |

Kaynak: Edmondson, E. S. Understanding Polycystic Ovarian Syndrome. *Physician Assist. Clin.*3, 353–362 (2018). Sayfa 357'den alındı.

Tanısal kriterler sürekli olarak gelişmektedir ve endokrinoloji alanındaki en çok tartışılan konulardan biri olarak kabul edilmektedir ve PKOS'un prevalansını tutarlılık ile tespit etmeyi zorlaştırmaktadır(Wolf vd., 2018). PKOS'un klinik bir sendrom olduğu için tanı için tam olarak yeterli kriterler olmadığı belirtilmiştir(Wolf vd., 2018).

2.4.4. Prevalansı

Dünya çapında yetişkin kadınların yaklaşık %20'sinde PKOS görülmektedir(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018). Rotterdam 2003 kriterlerine göre PKOS prevalansı %12-%20 arasında iken; AE-PKOS 2006

³Kısaltmalar: CAH, Konjenital Adrenal Hiperplazi; DHEA-S, Dehidroepiandrosteron-sülfat; hCG, insan koryonik gonadotropini TSH, tiroid uyarıcı sendrom; US, ultrason.

kriterleri uygulandığında%10-%15; ve NIH 1990 kriterleri kullanılarak prevalans tahmin edildiğinde ise %5-%10 arası olduğu tespit edilmiştir(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018). Rotterdam ve AE-PKOS kriterlerinde gözlenen PKOS sıklığının daha yüksek olması, NIH 1990 kriterlerine kıyasla bu kriterlere daha fazla sayıda PKOS fenotipinin dahil edilmesi ile ilgilidir(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018).

2018 yılında yapılan bir araştırmaya göre “National Institute of Health” tanı ölçütlerine göre, Amerika Birleşik Devletleri, İngiltere, İspanya, Yunanistan, Avustralya, Asya ve Meksika’da belgelenen ve benzer veriler veren %6 ila%9 arasında PKOS prevalansı vardır(Wolf vd., 2018). Bu bilgi PKOS prevalansında ırk veya etnik etki olmadığını göstermektedir(Wolf vd., 2018).

Çalışmalar arasında karşılaştırılabilirliğinin bulunmaması, spesifik grup seçimleri ve küçük denek çalışmaları nedeniyle, PKOS’un kesin prevalansını tüm dünya üzerinde belirlemek adına daha fazla araştırma yapılması önerilmektedir(Wolf vd., 2018).

2.4.5. Tedavi Yöntemleri

PKOS, kadınlarda en sık görülen hiperandrojenik bir bozukluktur(Pasquali, 2018). İnsülin direnci ve metabolik sendromun tüm özellikleri dahil olmak üzere androjen fazlalığı, yumurtalık disfonksiyonu ve uyarıcı kısırlık ile birkaç dismetabolik durumun belirti ve semptomlarını içerir(Pasquali, 2018). Etkilenen kadınların yaklaşık %50’si aşırı kilolu veya obezdir ve bu durum PKOS’un şiddetini etkilemekle birlikte, PKOS’un gelişmesinde de önemli bir patofizyolojik rol oynamaktadır(Lizneva, Atabekov ve Azziz, 2018; Pasquali, 2018). Bu nedenle, obez olan ya da obez risk grubundan olan PKOS hastalarının yaşam şekillerini değiştirmeleri önerilmektedir(Kasim-Karakas ve Mishra, 2009; Edmondson, 2018; Pasquali, 2018). Yapılan araştırmalar sonucunda özellikle vücut ağırlığının %6’sı kadar olacak bir kilo kaybının PKOS hastalarında doğurganlığı arttırdığı görülmüştür(Kasim-Karakas ve Mishra, 2009).

PKOS'lu kadınlarda ovulasyon indüksiyonu için uygulanan mevcut stratejiler, öncelikle bu hastaların antiöstrojenlerle infertilite tedavisinin klinik yönlerine odaklanmaktadır(Legro, 2018).*Anti-östrojenler* geniş bir kategoridir; en yaygın formları, klomifen sitrat (CC) tamoksifen ve raloksifeni içeren seçici östrojen reseptör modülatörleridir (SERM'ler)(Legro, 2018). Hareket mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte, spesifik olarak; hipotalamusta östrojen reseptörü antagonistleri olarak işlev gördükleri ve GnRh ve FSH salgılanmasını uyardıkları düşünülmektedir(Legro, 2018; Tanbo vd., 2018).

Aromataz, östrojen biyosentezindeki oranı sınırlayan enzimdir ve *aromataz inhibitörleri* tarafından aktivitesinin inhibisyonu, östrojen kan seviyelerini ve gonadotropin salgılanması üzerine negatif geri beslemeyi azaltmaktadır(Kar, 2013; Legro vd., 2014; Samara ve Casper, 2018). Bir aromataz inhibitörü olan ve sıkça tercih edilen Letrozol, FSH seviyelerinde artışa ve erken foliküler fazda çoklu foliküllerin toplanmasına neden olmaktadır(Kar, 2013; Legro vd., 2014; Samara ve Casper, 2018). FSH'ın foliküler duyarlılığının artması, sonrasında ovulasyonun indüklenmesini olanak sağlamaktadır(Kar, 2013; Legro vd., 2014; Samara ve Casper, 2018).

İnsülin direnci PKOS'lu kadınlar arasında hastalığın temel ortak yolu olarak görünmektedir(Lashen, 2010; Johnson, 2014; Palomba, Fablo ve Battista La Sala, 2018).İnsülin direncine sahip PKOS'lu kadınlarda, sağlıklı kadınlara göre daha yüksek düzeyde insülin üretilmektedir. Bu artan dolaşımdaki insülin seviyeleri yumurtalıklar üzerinde doğrudan etkilere sahiptir ve artan insülin seviyeleri ayrıca, insülin benzeri büyüme faktörü 1'i (IGF-1) salgılar(Lashen, 2010; Johnson, 2014; Palomba, Fablo ve Battista La Sala, 2018). Bu nedenle kullanılan *insülin-duyarlılaştırıcı ilaçlar*, PKOS'un tedavisinde büyük önem taşımaktadır(Lashen, 2010; Johnson, 2014; Palomba, Fablo ve Battista La Sala, 2018). Metformin, insülin direncinin sendromun patogenezindeki rolünü araştırmak için PKOS'da kullanılan ilk insülin duyarlılaştırıcı ilaçtır(Lashen, 2010; Johnson, 2014; Palomba, Fablo ve Battista La Sala, 2018). Metformin kullanımı ile, menstrual döngüde

düzelmeler ve dolaşımdaki androjen seviyesinde azalma ile birlikte vücut ağırlığında önemli bir azalma sağlanmaktadır(Lashen, 2010).

PKOS olan kadınlarda, gonadotropinler, CC veya aromataz inhibitörlerinden sonra, infertilitenin ikinci basamak farmakolojik tedavisi olarak kullanılmaktadır(Christin-Maitre, 2018).PKOS kadınlarında gonadotropinleri kullanmadaki ana amaç, tek bir foliküler büyümeyi teşvik etmek ve ovaryen hiperstimülasyon sendromunu önlemektir(Christin-Maitre, 2018).

PKOS'un tedavisinde birden fazla strateji bulunmaktadır ama en önemlisi PKOS'lu her hasta için bireyselleştirilmiş bir yaklaşım kullanılmalıdır, çünkü bu hastalık heterojen, karmaşık, çok faktörlü ve yaşam boyu sürmektedir(Lizneva, Atabiekov ve Azziz, 2018).

2.5. In Vitro Fertilizasyon

In vitro fertilizasyon (IVF) kısırlığı tedavi etmek, bazı genetik hastalıkların bulaşmasını önlemek veya doğurganlığa zarar veren hastalıkların tedavisinden sonra doğurganlık potansiyelini korumak ve yeniden kurmak için kullanılan yardımcı üreme teknolojisidir(Fanchin, 2018).

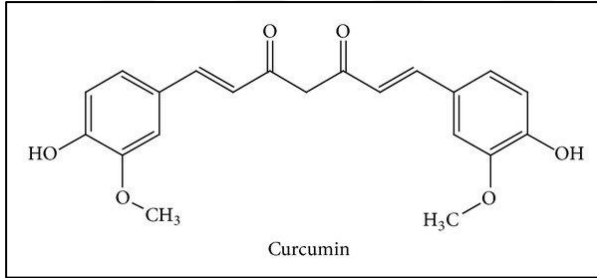
IVF birkaç tamamlayıcı adım içerir. Kısaca, hem oositlerin insan vücudunun dışında dölleniş için gerekli olan oosit alımı (genellikle kontrollü over stimülasyonundan sonra) hem de sperm toplanması, uygun koşullar altında elde edilen embriyoların in vitro kültürü ile takip edilir(Fanchin, 2018). Tüm süreç, hamileliği başlatmak için uterusu seçilen embriyoların transferiyle sonuçlanır(Fanchin, 2018).

Günümüzde IVF öncesi, çoğu kadın önce çoklu yumurtaların olgunlaşmasını teşvik etmek için FSH ile tedavi edilir(Fanchin, 2018). Bu tedavi "ovulasyon indüksiyonu" veya "kontrollü ovulasyon hiperstimülasyonu" olarak bilinir(Fanchin, 2018). Ovulasyon indüksiyonu için FSH tedavisi, menstruasyonun üçüncü gününden başlayarak birkaç gün boyunca günlük enjeksiyonla uygulanır(Fanchin, 2018).

PKOS, üreme çağındaki kadınlar arasında en sık görülen endokrinopati durumudur(Orvieto, 2018). PKOS'lu kadınlar metabolik sendrom ve aynı zamanda kısırlık için risk altındadırlar(Orvieto, 2018). IVF ve embriyo transferi (ET) PKOS hastaları için etkili bir tedavi yöntemidir(Orvieto, 2018). Ayrıca, çok sayıda gebelik sayısının az sayıda embriyo transferiyle asgari düzeyde tutulması nedeniyle, IVF-ET, geleneksel infertilite yöntemlerine direnç gösteren veya infertilite faktörlerine eşlik eden PKOS hastaları için makul bir seçenek haline gelmiştir(Orvieto, 2018).

2.6. Kurkumin

Zencefil ailesine (*Zingiberaceae*) ait çok yıllık bir bitki olan zerdeçal olarak bilinen *Curcuma longa* bitkisi, güney ve güneydoğu tropik Asya'da yaygın olarak yetiştirilmektedir(Aggarwal vd., 2006; Jacob vd., 2007). Zerdeçalın en aktif bileşeni; baharatın%2 ile 5'ini oluşturan Kurkumindir(Aggarwal vd., 2006; Jacob vd., 2007)(Şekil 9).



Şekil 9: Kurkumin'in kimyasal yapısı.

Kaynak: Shanmugam, M. K. et al. *Epigenetic Effects of Curcumin in Cancer Prevention. Epigenetics of Cancer Prevention* (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/b978-0-12-812494-9.00005-6 adlı eserden sayfa 110'dan alındı.

Kurkumin, suda çözünmeyen turuncu-sarı renkli kristal bir tozdur. Şekil 9'da da gösterilen kurkuminin kimyasal yapısı ($C_{21}H_{20}O_6$) ilk olarak 1910'da Lampe ve Milodebeska tarafından tanımlanmış ve diferuloilmetan olarak gösterilmiştir(Aggarwal vd., 2006; Ece Mine Demir, 2009; Amalraj vd., 2017; Tasneem vd., 2019).

Kurkumin, zerdeçalın aktif fito-bileşenidir(Shanmugam vd., 2019). Hint geleneksel tıbbında terapötik bir ilaç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır(Shanmugam vd., 2019). Son zamanlarda, dünyanın dört bir yanındaki bilim insanları, Kurkuminin antiinflamatuvar, antioksidan ve

antikanser bir ajan olarak terapötik potansiyeli üzerine çalışmalar yapmışlardır(Jayaprakasha, Jagan Mohan Rao ve Sakariah, 2005; Kasim-Karakas ve Mishra, 2009; Çelebi, 2015; Bordoloi ve Kunnumakkara, 2017; Hewlings ve Kalman, 2017; Batra, Pawar ve Bahl, 2019; Das, 2019).Elde edilen bulgular ışığında, kurkuminin, oksidatif ve enflamatuar durumlarda, metabolik sendrom, artrit, anksiyete ve hiperlipidemi gibi hastalıkların tedavisinde yardımcı olduğu bulunmuştur(Hewlings ve Kalman, 2017).Yüksek konsantrasyonlarda, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antidiyabetik ajan olarak işlev gördüğü, Tip 2 *diabetes mellitus*, Alzheimer hastalığı, ateroskleroz ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV) replikasyonu gibi hastalıklara karşı farmakolojik etkiler gösterdiği belirlenmiştir(Batra, Pawar ve Bahl, 2019).Ayrıca, kurkuminin anti-kanser aktivitesi yakın zamanda araştırılmış ve gastrointestinal, melanom, genito-üriner, pankreas, meme ve akciğer kanserlerinde olumlu yönde önemli gelişmeler görülmüştür(Khuda-Bukhsh, Saha ve Das, 2014; Liu ve Ho, 2018; Dariya vd., 2019; Hu vd., 2019; Majumdar, 2019). Aynı zamanda egzersize bağlı iltihaplanma ve kas ağrısının yönetiminde yardımcı olduğu, böylece aktif insanlarda iyileşme ve performansı arttırdığı tespit edilmiştir(Hewlings ve Kalman, 2017). Ek olarak, kurkuminin nispeten düşük bir dozu, sağlık durumları teşhis edilmemiş kişiler için faydalı olmuştur(Hewlings ve Kalman, 2017). Ayrıca 12 g/gün tolerans dozu ile anti-enflamatuar aktivite göstermiştir(Batra, Pawar ve Bahl, 2019).Bu faydaların çoğu, kurkuminin antioksidan ve anti-enflamatuar etkilerine bağlanmaktadır(Hewlings ve Kalman, 2017).

Kurkumin, çeşitli moleküler hedefleri etkileme kabiliyetinden ve mükemmel bir güvenlik profilinden dolayı, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel bir aday niteliğindedir(Tasneem vd., 2019).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Çalışmada, Polikistik Over Sendromlu (PKOS)in vitro fertilizasyon (IVF) hastaları ile kontrol grubu olarak ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastalarının materyalleri Ota Jinemed Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'nden elde edilmiştir. Söz konusu hastalarda üremeye yardımcı teknikler kullanılarak, FSH tedavisi gören hastaların foliküllerinden aspirasyon sonucu oositler elde edilmiştir.

Hasta gruplarına uygun olarak, her grupta 10 olmak üzere toplamda 20 hastanın oosit hücreleri kullanılmıştır. Rutinde kullanılmayıp atılan bu materyaller, oosit toplama gününde Tüp Bebek Merkezi'nden alınıp +4°C'de saklanarak, en çok bir saat içerisinde İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Yaşam Bilimleri ve Teknolojileri Laboratuvarına ulaştırılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Aşağıda, kullanılan cihazlar ve malzemelerin listeleri verilmiştir.

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

Tablo 5: Kullanılan cihazlar listesi.

| Cihaz Adı |
|----------------------|
| ELISA Okuyucu |
| ETÜV |
| Floresan mikroskop |
| Hassas terazi |
| Hemasitometre |
| Hücre kültürü kabini |
| İnkübatör |
| Laminar Flow |
| Manyetik karıştırıcı |

| |
|------------------|
| Otoklav |
| pH metre |
| Santrifüj |
| Spektrofotometre |
| Su banyosu |

3.2.2. Kullanılan Malzemeler

Tablo 6: Kullanılan malzemeler listesi

| Ürün adı | Marka | Ürün kodu |
|--|-----------------------|-------------|
| Akridin turuncusu | Sigma-Aldrich | 65-61-2 |
| Curcuma longa-Tumeric | Sigma-Aldrich | 458-37-7 |
| DMEM | PAN Biotech | P04-03590 |
| DPBS w/o Ca and Mg | PAN Biotech | P04-36500 |
| Etidyum bromür (EtBr) | Sigma-Aldrich | 1239-45-8 |
| FBS (Fetal sığır serumu) | Biowest | S1810-500 |
| HCl | Sigma-Aldrich | 7647-01-0 |
| İzopropanol | Sigma-Aldrich | 67-63-0 |
| L-glutamin | Biological Industries | BI03-020-1B |
| MTT | Biofroxx | 298-93-1 |
| PBS | PAN Biotech | P06-10200 |
| Penisilin/Streptomisin | Biological Industries | 03-031-1B |
| Tripsin 0.05 %/EDTA 0.02% in PBS, w/o: Ca ²⁺ and Mg ²⁺ | PAN Biotech | P10-023100 |
| Trypan Blue Solution (0.4%) | Neofroxx | 1475ML100 |

3.3. Hücre Kültürü ve Kurkumin'in Hazırlanması

Tüp Bebek Merkezi'nden alınan oositlerden, mekanik ve hiyaluronidaz enzimi kullanılarak korona radiata tabakasının ayrılması sonucu elde edilen granuloza hücreleri, 15 mL'lik santrifüj tüpleri içerisinde fizyolojik tuzlu suda suspense halde alınmıştır. +4°C'de muhafaza edilen hücreler, yaklaşık bir saat içerisinde laboratuvara getirilmiştir.

Laboratuvara gelen santrifüj tüpleri, kapakları hafifçe aralık kalacak şekilde 37°C'lik hücre kültürü inkübatöründe muhafaza edilmiştir.

Hücrelerin aktarılacağı DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) besi ortamı sırasıyla aşağıdaki malzemeleri içermektedir:

- 2 mM L-glutamin (Biological Industries, BI03-020-1B),
- 100 U/mL penisilin ve 50 µg/ml streptomisin, P/S (Biological Industries, 03-031-1B)
- DMEM (Sigma, 5546)
- % 10 FBS (Biowest, S1810-500)

Fizyolojik tuzlu su içerisinde süspansiyon halinde olan hücreler, aseptik koşullarda önceden 37°C'ye ısıtılmış DMEM besiyerine %5 CO₂ içeren laminar flow hücre kültürü inkübatörü içerisinde aktarılmıştır. Hücreler daha sonra 2 × tripsin/EDTA solüsyonu ile 1:3 oranında alt kültürlere ayrılmışlardır.

1200 rpm'de (dakikadaki devir sayısı) 6 dakika santrifüj edilen hücrelerden elde edilen pellet, DMEM besiyeri içerisinde tekrar süspansiyon edildikten sonra, bir kez daha 1200 rpm'de santrifüj edilmiştir (Aghadavod vd., 2015). Atılan süpernatanttan geriye kalan pellet 1 mL DMEM besiyeri içerisinde süspansiyon edilmiştir. 10 cm'lik petrilere ekilmiştir. Ardından alt kültürleri sağlanmıştır. Yeterli sayıda stok elde edildiğinde deneylere başlanmıştır.

Hazırlanan hücre kültürlerinde uygulanan işlemler aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: Granuloza hücrelerine uygulanan işlemler.

| Günler | Kültürde yapılan işlemler |
|------------------|--|
| Ekim yapılan gün | 1 gece DMEM besiyerinde kültür kabına yapışmaları beklendi. |
| 2. gün | Belirlenen dozlarda kurkumin DMEM besiyerinde hazırlanıp besiyeri değişikliği yapıldı. |
| 3. gün | İnkübe edildi. |
| 4. gün | Belirlenen dozlarda kurkumin DMEM besiyerinde hazırlanıp besiyeri değişikliği yapıldı. |
| 5. Gün | Çift olarak ekilen doz gruplarından bir tanesi MTT testi için bir tanesi de tripan mavisi ile sayım ve akrinin turuncusu ile boyama için kullanıldı. |

Her iki grubun da granuloza hücrelerinin kültürü 96 kuyucuklu plaklarda tam DMEM ile hazırlanmıştır.

Kurkumin (Curcuma longa –Turmeric, toz Sigma-Aldrich CAS Number: 458-37-7) ticari olarak satın alınmıştır. Toz halinde olması sebebiyle %95 etanolde çözdürülüp filtreden geçirilerek 1 molarlık stok Kurkumin elde edilmiştir. Kurkuminin 3 farklı konsantrasyonu (1-10-100 µg/mL) hazırlanarak, 24 ve 48 saatlik inkübasyonunda doza bağımlı araştırması yapılmıştır.

Tüm çalışmalar 3 tekrarlı olarak sürdürülmüş, her doz grubu için çift kuyu ekim yapılmıştır. Çift olarak ekilen doz gruplarından bir tanesi MTT testi için bir tanesi de tripan mavisi ile sayım ve akridin turuncusu ile boyama için kullanılmıştır. Çalışmadaki istatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

3.4.Hücre Canlılığının Saptanması

Kurkumin'in aşağıda belirtilen dozlarda(Kádasi vd., 2012) besiyeri içerisinde çözdürülerek kullanımı ile hücrelerin çoğalması üzerinde inhibisyona yol açıp açmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, yapılacak uygulamaların hücre ölümü üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla aşağıda açıklanan iki temel yöntem (Tripan Mavisi Sayımı ve MTT testi) kullanılmıştır.

Kontrol: Kurkumin 0 µg/mL

Doz 1: Kurkumin 1 µg/mL

Doz 2: Kurkumin 10 µg/mL

Doz 3: Kurkumin 100 µg/mL

3.4.1. Tripan Mavisi Sayımı

Tripsinizasyonla hücreler ayrıldıktan sonra PBS içinde süspansiyon haline getirilmiştir. PBS içinde hazırlanmış %0.4'lük tripan mavisi 1:1 oranında hücre süspansiyonuyla karıştırılmıştır. 5-10 dakika içinde hemasitometrede sayım yapılarak boyayı içine alan mavi renkli hücrelerin ve boyanmayan hücrelerin sayısı belirlenmiştir.

Aşağıdaki formül kullanılarak kültürdeki canlı hücrelerin oranı % olarak belirlenmiştir(Strober, 2015).

$$\% \text{ canlı hücre} = [1.00 - (\text{mavi boyanan hücre sayısı} \div \text{toplam hücre sayısı})] \times 100$$

Hücre canlılık oranı tripan mavi boyama yöntemi ile mikroskopik olarak da incelenmiştir.

3.4.2. Hücre Canlılığı ve Proliferasyon Hızlarının Karşılaştırılması (MTT Tayini)

MTT solüsyonunun hazırlanması:

- 1G MTT (Biofrox, 3580GR001, Lot: 5A13FBF0, CAS: 298-93-1) 200 mL PBS (pH 7.4 , 5 mg/mL) içerisinde karanlıkta (folyoya sarılarak) vortekslenerek çözdürülecektir. 0.22 µm filtreden geçirilmiştir.
- 5 mL aliquot stokları folyaya sarılarak -20'de saklanmıştır.
- 1 mL besiyerine stoktan 100 µl alınarak çalışma solüsyonu hazırlanmıştır. Stoktan hazırlanan çalışma solüsyonu 4 hafta stabildir (w.s.: 0.5mg/ml). Deneyden önce MTT çözeltisi 37°C'ye ısıtılmıştır.

0,05N HCl içeren Asidik izopropanol hazırlanması:

%37'lik HCl: 4,14 mL - 62,1 µL

İzopropanol: 1000mL'e - 15mL'e tamamlanmıştır.

MTT uygulanması

MTT testleri Scudiero vd. (1988) tarafından açıklandığı şekilde 24-kuyucuklu petri formatında yapılmıştır(Scudiere vd., 1988).

Besi yerinde, 0.5mg/ml MTT- [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide]çözeltisi hazırlandıktan sonra 0.22 µm filtreden geçirilmiştir. (Deneyden önce MTT çözeltisi 37°C'ye ısıtılmıştır).

24-kuyucuklu petride üretilen hücreler bir kez PBS ile yıkandıktan sonra hücrelerin üzerine (250µl / kuyucuk olacak şekilde) MTT çözeltisi (w.s.) eklenmiştir.

Petriler 4 saat 37°C'de bekletildikten sonra MTT çözeltisi kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve kuyucuklara 300 µL / kuyucuk olacak şekilde 0,05N HCl asidik izopropanol (ya da DMSO) eklenmiştir.

Kuyucukların dibinde görülen koyu renkli formazan kristallerinin tümü pipetleme yardımıyla çözünene kadar bekletilmiştir.

200 µL örnek alınarak 96-kuyucuklu petriye aktarılmış ve ELISA okuyucuda 570 nm abzorbansta okuma yapılmıştır (referans 540-560nm)(Scudiere *vd.*, 1988).

3.5. Akridin Turuncusu / Etidyum Bromür Boyaması

Akridin turuncusu/Etidyum Bromür (AO/EtBr) çözeltisinin hazırlanışı:

- 100 µg / mL akridin turuncusu ve 100 µg/mL EtBr, PBS içinde hazırlanıp vortekslendikten sonra 0,22 mikronluk filtreden geçirilmiştir.

Hücrelerin madde uygulanma inkübasyonu bittikten sonra PBS (pH 7.4) ile yıkayıp 96 kuyucuklu petrilerde (yaklaşık $1-2 \times 10^3$ olacak şekilde, 100 µl hacimde) için 100 µL tripsinle kaldırılmıştır. Tripsin 200 µL çalışma besiyeri ile inhibe edildikten sonra santrifüjlenen hücreler (pellet halinde) 450 µl PBS içinde süspense edilmiştir.

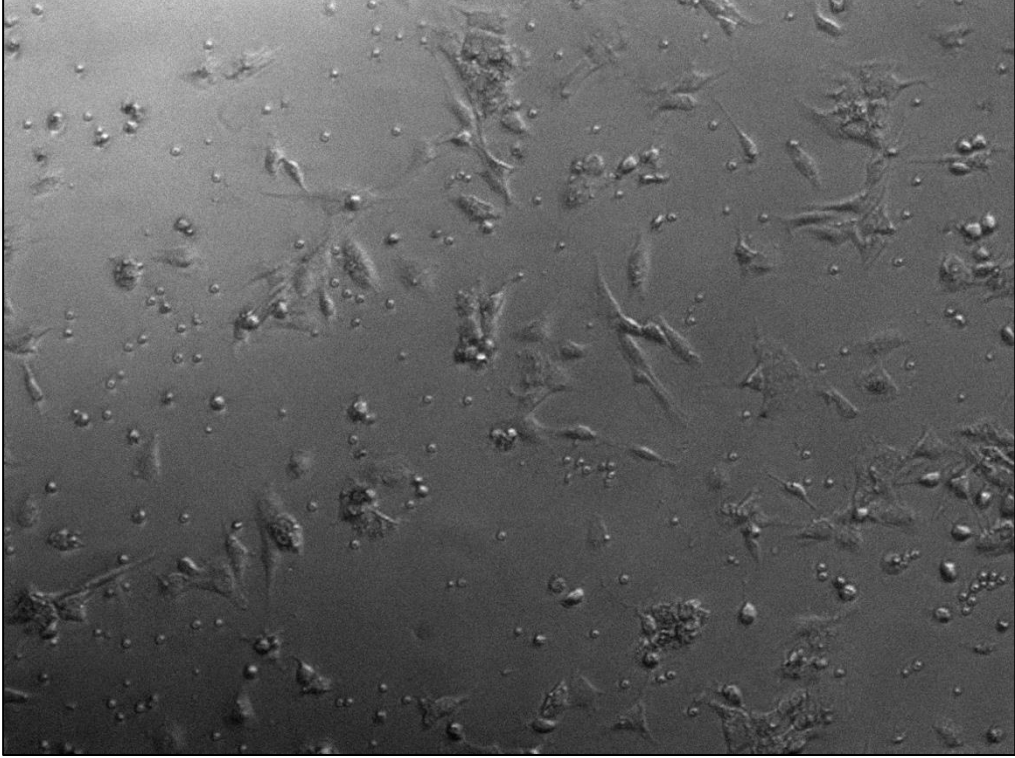
Hücre süspansiyonu üzerine 50 µL AO/EtBr çözeltisi eklenerek 37°C'de, 2-5 dakika süreyle inkübe edilmiştir.

10 µL kadar boyanan hücre örneği teflon kaplı lama konulup üzerine lamel kapatıldıktan sonra örnekler floresan mikroskop altında incelenmiştir.

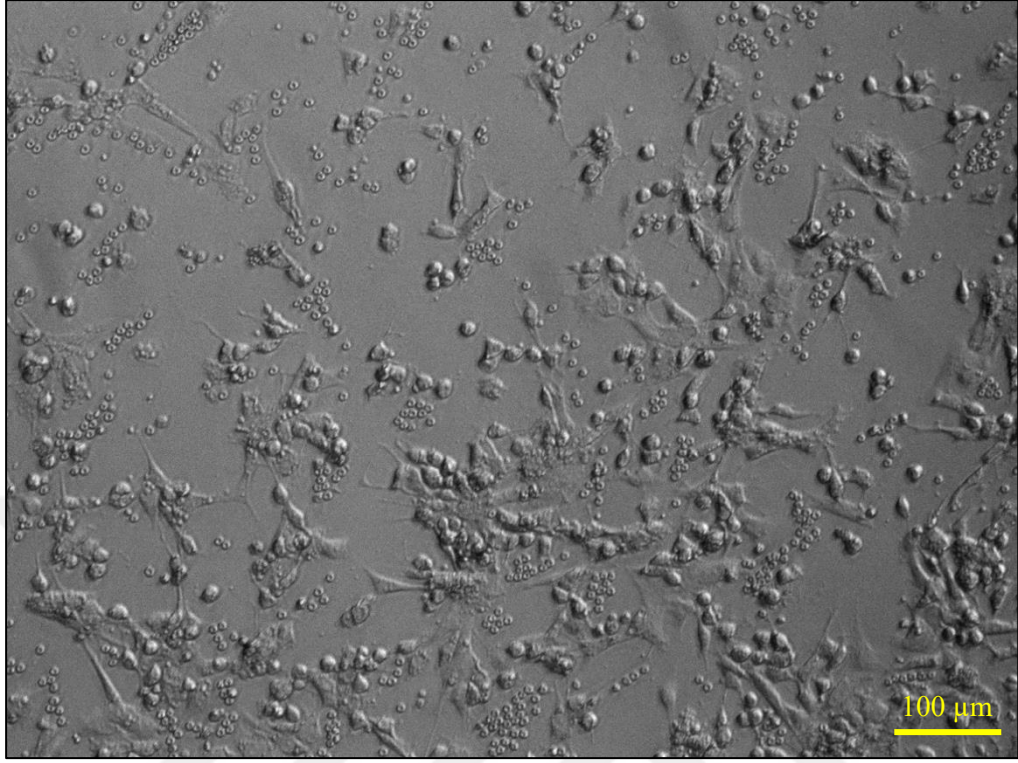
Çalışmadaki tüm istatistiksel analizler, tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

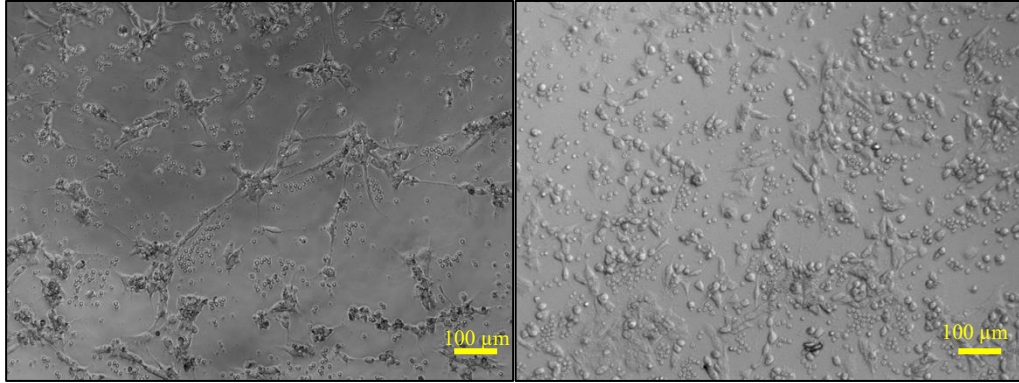
4.1. İnvirt Mikroskop Görüntüleri



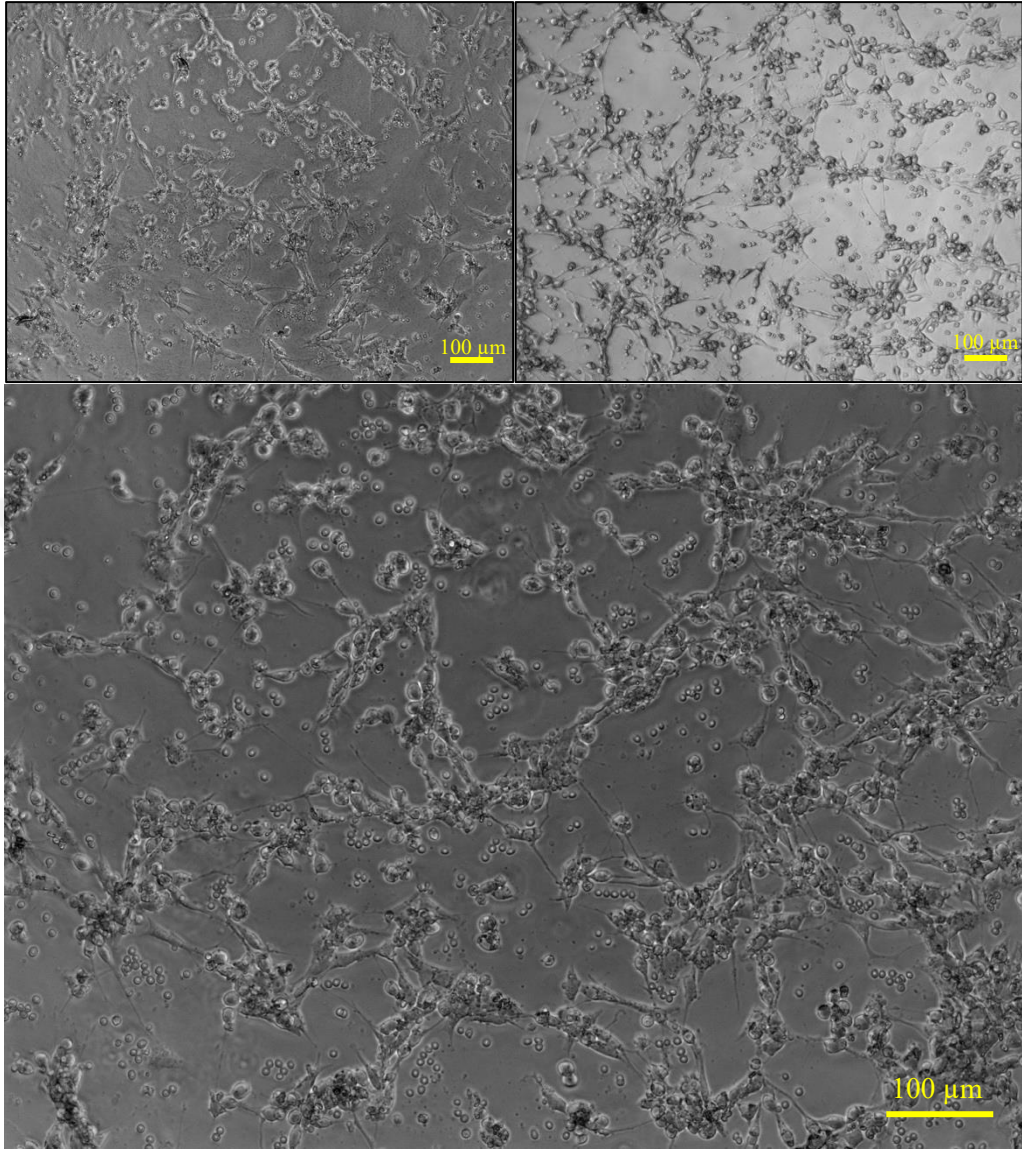
Resim 1: Ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastalarına (HG) ait granuloza hücrelerinin ekimi yapıldıktan 24 saat sonraki invert mikroskop görüntüleri.



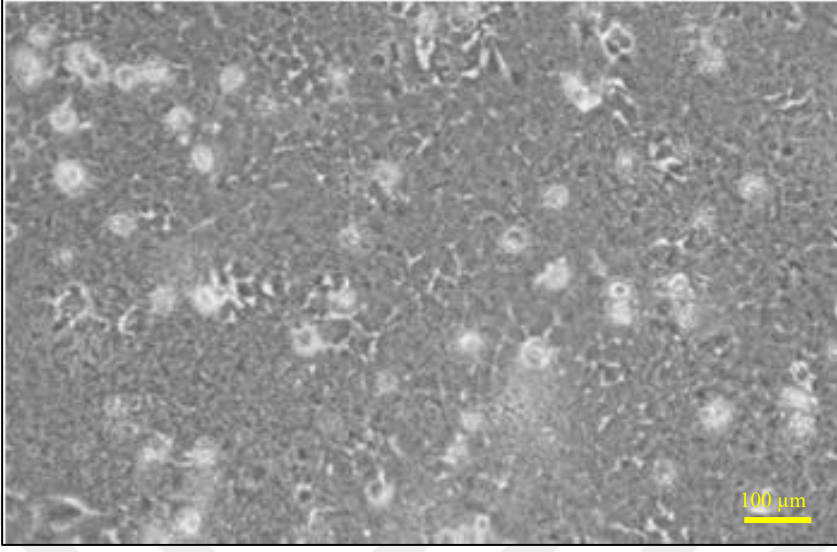
Resim 2: Polikistik over sendromu'na sahip IVF hastalarına (PKG) ait granuloza hücrelerinin ekimi yapıldıktan 24 saat sonraki invert mikroskop görüntüleri (10x).



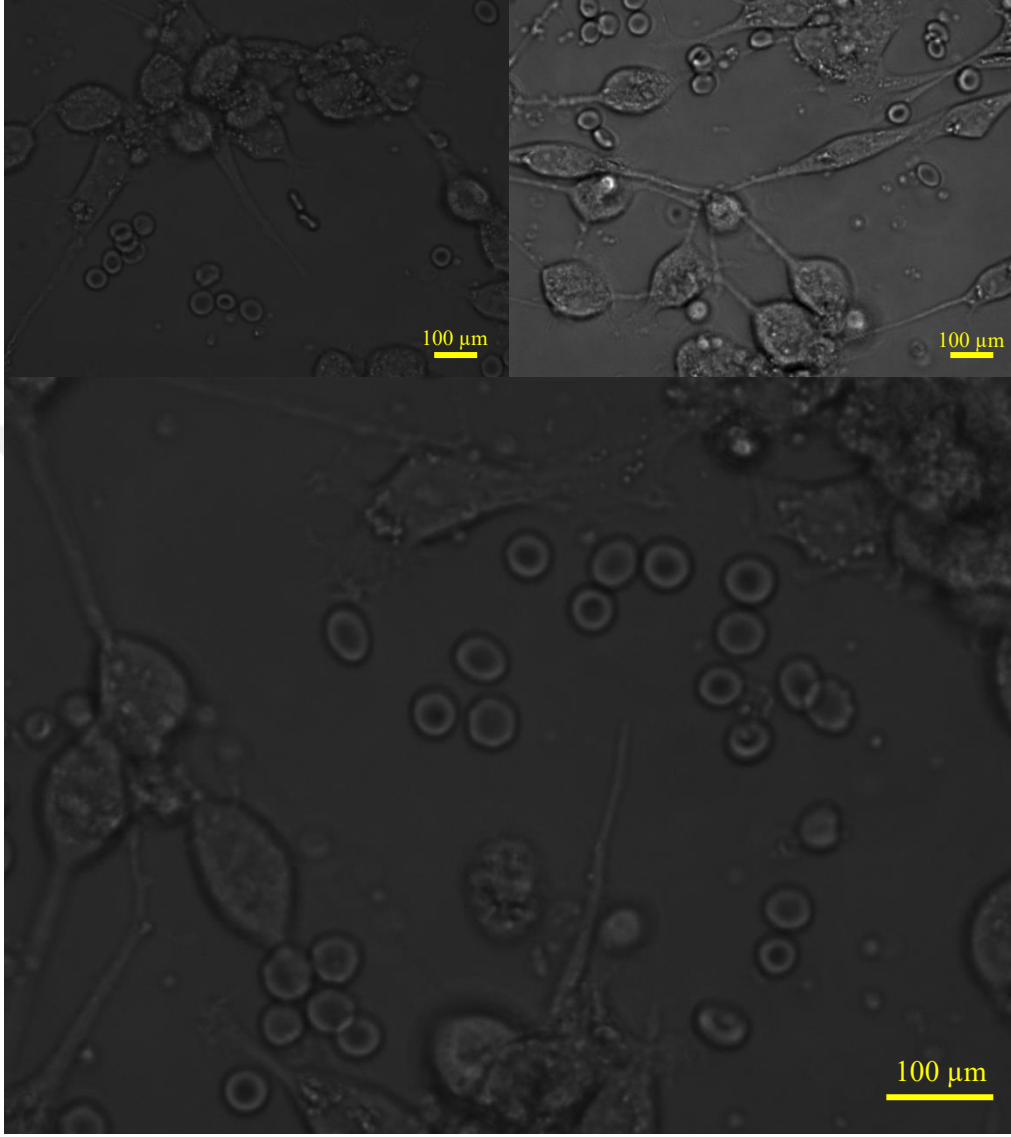
Resim 3: HG'ye ait granuloza hücrelerinin semi-konfluent görüntüleri (10x).



Resim 4: PKG'ye ait granuloza hücrelerinin semi-konfluent görüntüleri (10x).



Resim 5: Hücrelerin konfluent görüntüleri (10x).

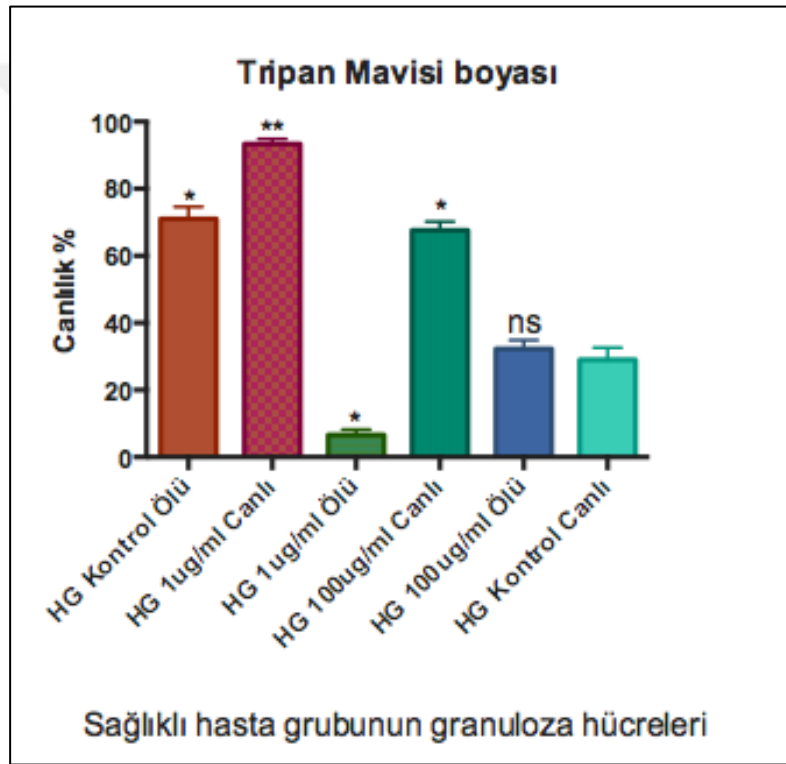


Resim 6: Hücrelerin 63x objektifte görüntüleri.

4.2. Hücrelerin Canlılık Oranlarının Saptanması Amacıyla Tripan Mavisi Boyaması

Tablo 8: Tripan mavisi boyama yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonrası HG'ye (Ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastalarına) ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı.

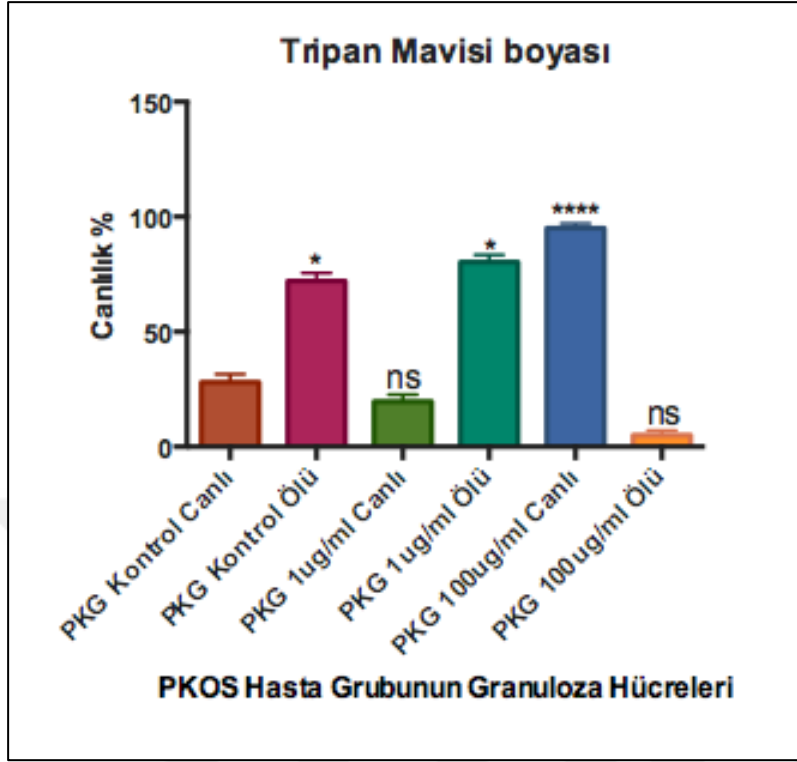
| Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary |
|--|------------|------------------|--------------|---------|
| HG Kontrol Canlı vs HG Kontrol Ölü | -42.00 | -76.54 to -7.457 | Yes | * |
| HG Kontrol Canlı vs HG (1 µg/mL) Canlı | -64.33 | -83.69 to -44.97 | Yes | ** |
| HG Kontrol Canlı vs HG (1 µg/mL) Ölü | 22.33 | 4.198 to 40.47 | Yes | * |
| HG Kontrol Canlı vs HG (100 µg/mL) Canlı | -38.67 | -63.25 to -14.09 | Yes | * |
| HG Kontrol Canlı vs HG (100 µg/mL) Ölü | -3.333 | -20.16 to 13.49 | No | ns |



Grafik 1: Tripan mavisi ile boyanması sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı.

Tablo 9: Tripan mavisi boyama yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonrası PKG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı.

| Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary |
|--|------------|------------------|--------------|---------|
| PKG Kontrol Canlı vs PKG Kontrol Ölü | -44.00 | -78.54 to -9.457 | Yes | * |
| PKG Kontrol Canlı vs PKG (1 µg/mL) Canlı | 8.333 | -13.27 to 29.93 | No | ns |
| PKG Kontrol Canlı vs PKG (1 µg/mL) Ölü | -52.33 | -75.96 to -28.70 | Yes | * |
| PKG Kontrol Canlı vs PKG (100 µg/mL) Canlı | -67.00 | -75.30 to -58.70 | Yes | **** |
| PKG Kontrol Canlı vs PKG (100 µg/mL) Ölü | 23.00 | -3.671 to 49.67 | No | ns |



Grafik 2: Tripan mavisi ile boyanması sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı.

Kurkuminin hücreler üzerine olan sitotoksik veya koruyucu etkileri doza bağımlı olarak ortaya çıkmıştır (Grafik 1 ve 2). 24 saat sonra 1µg/ml Kurkumin konsantrasyonunun hücrelerde bir koruyucu etkisi olmadığı hatta hücre ölümünün bu grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Koruyucu etki olarak ise 100µg/ml Kurkumin uygulanmasının etki yapabildiği anlaşılmaktadır (Grafik 1).

PKG grubundaki granuloza hücreleri üzerinde 1µg/ml Kurkumin uygulandığında kontrole oranla istatistiksel olarak anlamlı çıkan %37 oranında canlılık için koruyucu etki göstermezken ($P < 0.05$), bu oran konsantrasyonun artmasına bağlı olarak 100µg/ml Kurkumin uygulandığında kontrole oranla istatistiksel olarak anlamlı çıkan %47 oranında canlılık üzerine koruyucu etki göstermiştir ($P < 0.05$).

Diğer grup olan sağlıklı hastaların granulozaları HG grubundaki Kurkumin canlılık etkisi Grafik 1'de gösterilmiştir. Sağlıklı grupta 1µg/ml Kurkumin konsantrasyonunun hücre ölümünü geciktirerek koruyucu etki yaptığı anlaşılmaktadır ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$). Daha

yüksek konsantrasyonların etkileri istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde canlılık üzerine herhangi bir toksik etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır. Canlılık kontrol grubu gibi %100'e yakındır.

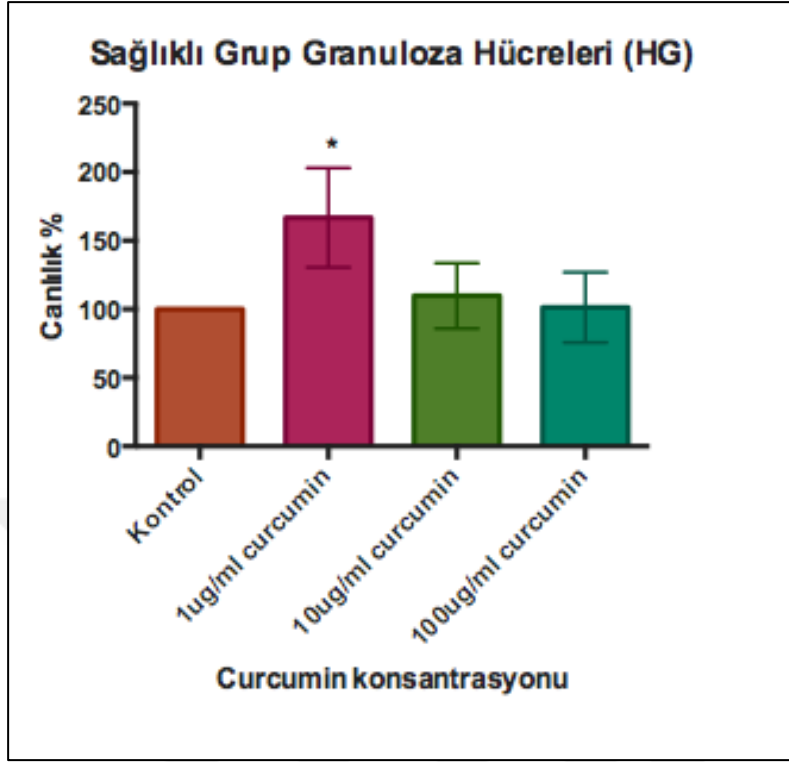
Çalışmadaki istatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

4.3. Hücrelerin Proliferatif (Çoğalma) Kapasitelerinin ve Metabolik Aktivite Düzeylerinin (Canlılık) MTT Yöntemiyle Saptanması

Çalışmadaki istatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

Tablo 10:Kurkumin inkübasyonu sonrası HG'ye ait granuloza hücrelerinin MTT sonuçları (P < 0.05).

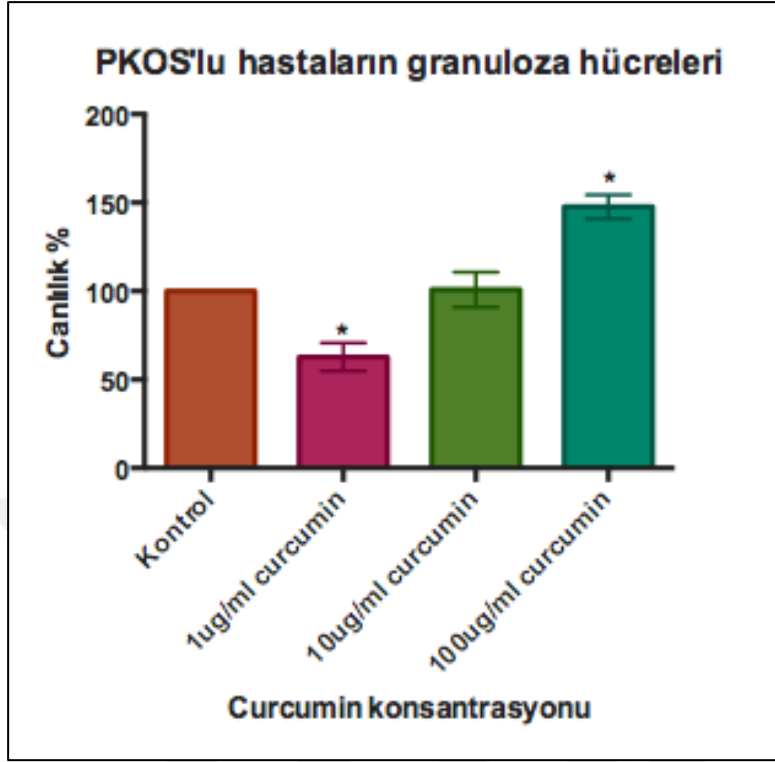
| Alpha | 0.05 | | | | | | | | |
|-------------------------------------|------------|------------------|--------------|-------------|-----|--------------------|--------|--|----|
| Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary | A-? | | | | |
| Kontrol vs. 1 µg/mL curcumin | -66.72 | -115.5 to -17.98 | Yes | * | B | 1 µg/mL curcumin | | | |
| Kontrol vs. 10 µg/mL curcumin | -9.815 | -41.92 to 22.30 | No | ns | C | 10 µg/mL curcumin | | | |
| Kontrol vs. 100 µg/mL curcumin | -1.391 | -35.77 to 32.99 | No | ns | D | 100 µg/mL curcumin | | | |
| Test details | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff. | SE of diff. | n1 | n2 | q | | DF |
| Kontrol vs. 1 µg/mL curcumin | 100.0 | 166.7 | -66.72 | 14.80 | 6 | 6 | 4.508 | | 5 |
| Kontrol vs. 10 µg/mL curcumin | 100.0 | 109.8 | -9.815 | 9.750 | 6 | 6 | 1.007 | | 5 |
| Kontrol vs. 100 µg/mL curcumin | 100.0 | 101.4 | -1.391 | 16.346 | 6 | 6 | 0.1332 | | 5 |



Grafik 3: MTT yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı.

Tablo 11: Kurkumin inkübasyonu sonrası PKG'ye ait granuloza hücrelerinin MTT sonuçları (P < 0.05).

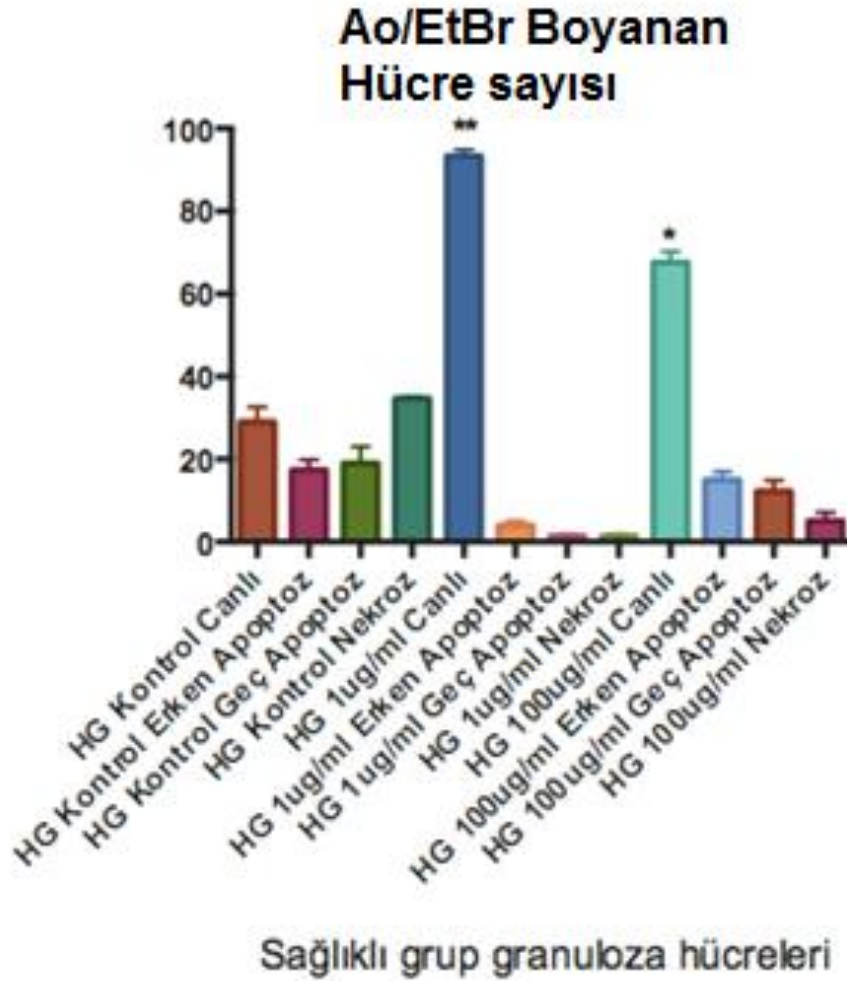
| | | | | | | | | |
|--|-------------------|------------------------|---------------------|--------------------|------------|--------------------|----------|-----------|
| Alpha | 0.05 | | | | | | | |
| Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95% CI of diff. | Significant? | Summary | A-? | | | |
| Kontrol vs. 1 µg/mL curcumin | 37.19 | 9.378 to 65.00 | Yes | * | B | 1 µg/mL curcumin | | |
| Kontrol vs. 10 µg/mL curcumin | -0.8655 | -35.50 to 33.77 | No | ns | C | 10 µg/mL curcumin | | |
| Kontrol vs. 100 µg/mL curcumin | 47.72 | -71.42 to 24.02 | Yes | * | D | 100 µg/mL curcumin | | |
| Test details | Mean 1 | Mean 2 | Mean Diff. | SE of diff. | n1 | n2 | q | DF |
| Kontrol vs. 1 µg/mL curcumin | 100.0 | 62.81 | 37.1 | 4.585 | 3 | 3 | 8.111 | 2 |
| Kontrol vs. 10 µg/mL curcumin | 100.0 | 100.9 | -0.8655 | 5.710 | 3 | 3 | 0.1516 | 2 |
| Kontrol vs. 100 µg/mL curcumin | 100.0 | 147.7 | -47.72 | 3.907 | 3 | 3 | 12.21 | 2 |



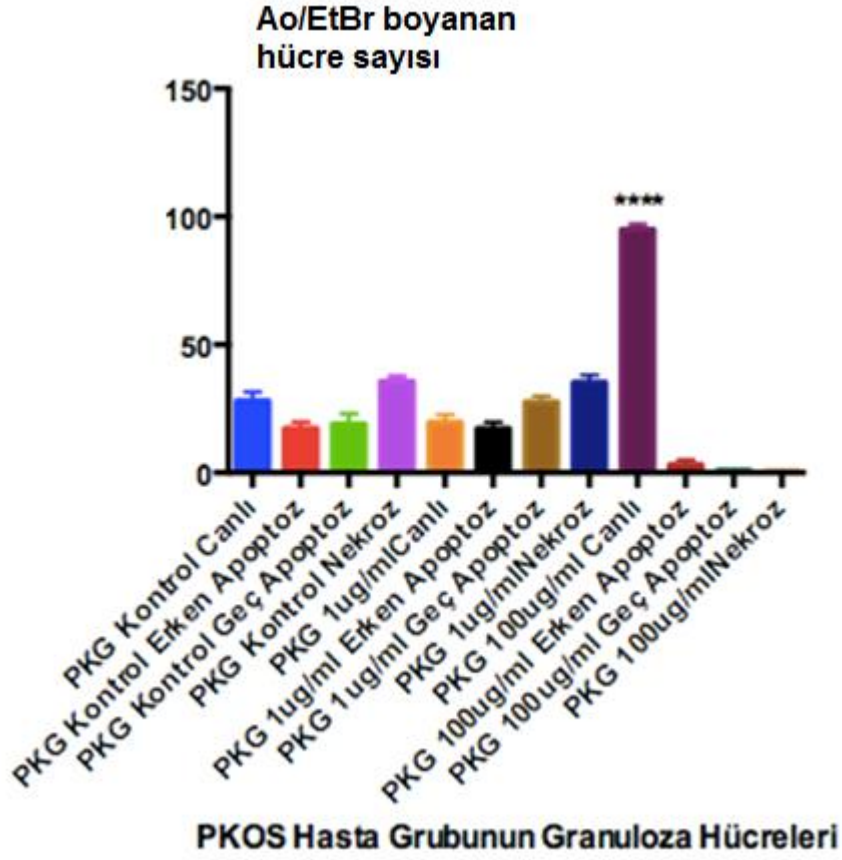
Grafik 4: MTT yönteminde Kurkumin inkübasyonu sonucu PKG'ye ait granuloza hücrelerinin canlılık oranı.

4.4. Akridin Turuncusu/Etidyum Bromür Boyamasıyla Apoptotik Hücrelerin Oranının Floresan Mikroskopta Sayım Yapılarak Saptanması

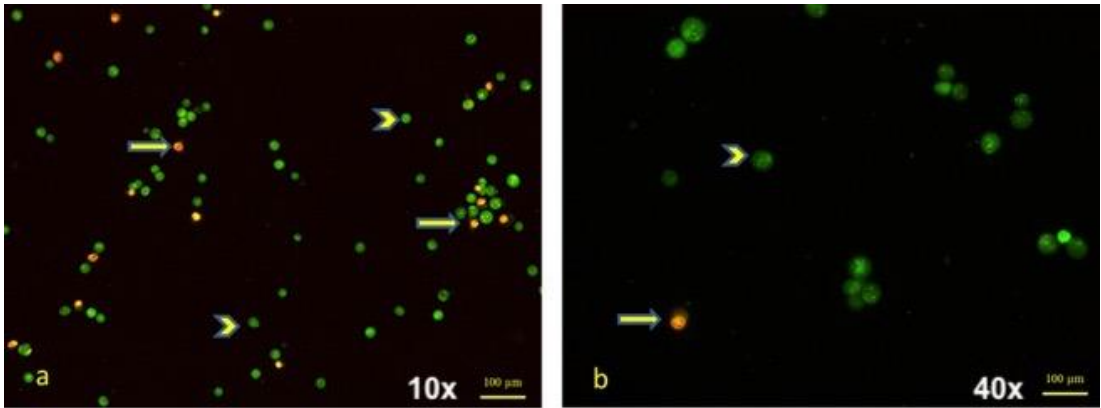
Çalışmadaki istatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.



Grafik 5: AO/EtBr boyaması sonucu HG'ye ait granuloza hücrelerinin sayısı.



Grafik 6: AO/EtBr boyaması sonucu PKG'ye ait granuloza hücrelerinin sayısı.



Resim 7: AO/EtBr boyaması sonucu apoptotik (kırmızı) ve canlı (yeşil) granuloza hücrelerinin fluoresan mikroskop görüntüleri.

Canlı hücreler düzgün şekilli ve yeşil renkte, dairesel nukleus hücre merkezinde görüntülenmiştir. Erken evredeki apoptotik hücreler, hücrelerin bir tarafında hilal şekilli veya granül halinde sarımsı-yeşil ve parlak yeşil noktalar içeren kromatin yoğunlaşması ve nükleer parçalanma sonucu oluşan nukleuslarıyla görüntülenmiştir. Geç evredeki apoptotik hücreler ise kırmızı-turuncu renkli ve asimetric (parçalı) nukleusları ile ayırt edilebilmektedir. Nekrotik hücrelerde hacimsel genişleme ve periferde düzensiz turuncu-kırmızı boyanma göstermektedir. Her grupta 100 hücre sayılarak tanımlanan hücrelerin yüzde oranları oluşturulmuştur.

Morfolojik olarak granuloza hücrelerinin her iki grupta da, 24 saatlik 2 farklı (1µg/ml ve 100µg/ml) konsantrasyonun farklı apoptotik / nekrotik etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Etkin konsantrasyonu literatür çalışmaları ve MTT sonuçlarımız ile belirlenmiştir). Kurkuminin her iki gruptaki 24 saat inkübasyonu sonucunda hücre sitoplazmasının ve çekirdeğinin küçülmesi, apoptotik yapıların hücre zarı etrafında toplanması ve hücre çekirdeğinin yarımay şeklini alması gibi apoptotik morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. Bu morfolojik değişimler 24 saat inkübasyon sonunda gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlarda sağlıklı grupta 1µg/ml Kurkumin konsantrasyonunun hücre ölümünü geciktirerek koruyucu etki yaptığı anlaşılmaktadır. Daha yüksek konsantrasyonların etkileri istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde canlılık üzerine herhangi bir toksik etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır. Canlılık kontrol grubu gibi %100'e yakındır.

24 saatlik 2 farklı (1µg/mL ve 100 µg/mL) konsantrasyonun PKG grubundaki granuloza hücreleri üzerinde farklı apoptotik / nekrotik etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. 1 µg/mL Kurkumin inkübasyonunda PKG grubu granuloza hücrelerinin canlılığının istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir.

HG grubunda ise kontrole göre kıyaslandığında 1µg/ml kurkumin istatistiki olarak anlamlı $** (P < 0.05)$ 100µg/ml kurkumin istatistiki olarak anlamlı $* (P < 0.05)$ koruyucu canlılık etkisi tespit edilmiştir (Grafik 3).

Düşük doz 1µg/mL kurkumin inkübasyonu PKG grubu granuloza hücrelerinin canlılığını istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırmadığı anlaşılmıştır. Yüksek doz 100 µg/mL kurkumin inkübasyonunda PKG grubu granuloza hücrelerinin canlılığının anlamlı derecede ($P < 0.05$) arttırdığı tespit edilmiştir.

Çalışmadaki istatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

5. TARTIŞMA

PKOS üreme çağındaki kadınlarda infertiliteye yol açabilen bir endokrin bozukluğudur ve metabolik bir sorundur. Bu sendromda folikülogenez, tek bir baskın folikül seçiminden ziyade birçok kistin birikmesine yol açacak şekilde oluşmaktadır(Yeh ve Kim, 1996). PKOS'ta; yüksek androjen seviyeleri tarafından desteklendiği tahmin edilen gelişmiş foliküller atreziye uğramaktadır(Yeh ve Kim, 1996). Atretik foliküllerin ortadan kaldırılması, doku hasarı veya iltihap yokluğunda meydana gelir, bu da programlanmış apoptozun, bu eliminasyon işleminin mekanizması olabileceğini düşündürmektedir(Yeh ve Kim, 1996).

Yen ve Kim'in hipotezlerine göre; foliküler granuloza hücrelerindeki apoptozun artışı, androjenlerin östrojenlere dönüştürülememesine ve dolayısıyla hiperandrojenizme sebep olmaktadır(Yeh ve Kim, 1996).

PKOS'un tedavisi ve ovulasyonun iyileştirilmesi için pek çok çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmaktadır(Lashen, 2010; Bency *vd.*, 2016; Chitra, Dhivya ve Precious, 2017). Fakat bu tedavilerin çok fazla yan etkisi bulunmasından ve bazen hormonal tedaviye yanıt alınamamasından dolayı çalışmalar çok az veya hiç yan etki göstermeyen doğal kaynaklı çözümler üzerine yoğunlaşmıştır(Kasim-Karakas ve Mishra, 2009). Bu bağlamda, herhangi bir yan etkisinin gözlenmediği kurkuminin metabolik süreçlerde antiinflamatuvar, antioksidan, hipoglisemik ve antihiperlipidemik aktivitelerde biyolojik olumlu etkileri olmasından dolayı PKOS'un tedavi sürecinde de yararlı olabileceği gösterilmiştir. Aynı zamanda Ohtsu ve arkadaşlarının 2002 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, insan prostat kanseri hücre hatlarında kurkuminin güçlü bir anti-androjen aktivitesi sergilemesi; kurkuminin PKOS'daki androjen fazlalığını azaltmada rol oynayabileceği hipotezini doğrulmuştur(Ohtsu *vd.*, 2002).

Reddy ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada, PKOS'lu ratlara kurkumin desteği ile Letrozol aromataz inhibitörü kullanılarak elde edilen biyokimyasal bulgularda, kurkuminin PKOS tedavisinde yararlı olacağı bildirilmiştir (Reddy *vd.*, 2016). Çıkan sonuçlarda kurkumin takviyesi alan gruplarda insülin direnci ve diyabetik komplikasyonlara karşı olumlu yönden iyileşmeler görülmüştür (Reddy *vd.*, 2016). Özellikle yüksek doz (200 mg/kg) kurkumin alan PKOS'lu ratlarda antioksidan enzim aktivitesindeki artışın gözlenmesi, kurkuminin faydasını ortaya koymaktadır (Reddy *vd.*, 2016). Kurkumin tedavisi yapılan gruplarda, kistlerin kaybolması ve piknotik granül hücrelerinin insidansının azalması, ovulasyonun normalleşmesi gözlenmiştir (Reddy *vd.*, 2016).

Mohammadi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 72 dişi erişkin Wistar sıçanı kontrol, PKOS'lu ve kurkuminle tedavi edilen (100, 200, 300 ve 400 mg/kg kurkumin) PKOS'lu gruplarına ayrılmış, kurkumin ile tedavi olan grupta; PKOS'ta sıkça görülen insülin direnci ve vücut yağ miktarı ile güçlü bir şekilde ilişkili olan tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarda etkili olan TNF- α , serum IL-6 ve CRP'nin ekspresyonu ve seviyeleri üzerindeki inhibitör etkisi ortaya çıkmıştır (Mohammadi, Kayedpoor, *vd.*, 2017).

Kurkuminin overlerin yapısındaki etkinliğini ölçen bir rat çalışmasında, kurkuminin yumurtalıklarda androjen reseptör proteinin ekspresyonunun ve COX-2 seviyelerinin azaldığı ve böylece hiperandrojenizm etkilerinin PKOS'lu ratlarda elimine edildiği, yumurtalık histolojisi ile oosit komponentlerinde iyileşmeler olduğu gözlenmiştir (Tiwari-Pandey ve Ram Sairam, 2009).

Antiinfertilite üzerine yapılan bir çalışmada ise 200 mg doz kurkumin sağlıklı yumurtalık fonksiyonlarına sahip ratlarda değerlendirilmiştir. 30 günlük inkübasyon sonucunda, ovulasyon süreçleri takip edilen ratlarda herhangi bir kist gözlenmemiş, ancak kurkuminin östrojenin hipofiz bezinde negatif geribesleme mekanizmasını baskılaması üzerine antioovuluar etkisi olabileceği tahmin edilmiştir (Ghosh, Das ve Patra, 2011).

Deneysel rat modelleri üzerinde PKOS ve kurkumin ilişkisinin incelendiği yayınlanmamış uzmanlık çalışmasında; 30 gün boyunca 100 mg/kg kurkumin verilen PKOS'lu grupta sekonder folikül ve atretik folikül sayılarının anlamlı derecede azaldığı görülmüştür(Aydın Çetinkaya, 2018).

Nabiuni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, erişkin ratlardan izole edilen oositlere uygulanan 100, 200, 300 ve 400 mg/kg kurkumin sonucunda; teka hücrelerinin, primordial foliküllerin ve kist sayısının kalınlığı, enjeksiyon yapılmayan PKOS grubuna kıyasla yüksek doz kurkuminle tedavi edilen overlerde anlamlı ölçüde azalmış, tekrarlayan ovulasyonun ana belirtisi olarak korpus luteumların ortaya çıkması sağlanmıştır. Serolojik analizler, FSH ve progesteronda bir artış ve PKOS ile karşılaştırıldığında LH, estradiol ve testosteronda azalma göstermiştir(Nabiuni vd., 2015).

Öte yandan, Kadasi ve arkadaşlarının 2012 yılında PKOS'lu domuzlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, kurkuminin yumurtalık granuloza hücreleri üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu gözlenmiştir(Kadasi vd., 2012). Kullanılan kurkumin konsantrasyon miktarı ile bu çalışmada kullanılan miktar örtüşmekte olup, PKOS hasta grubunda 1µg/ml kurkumin konsantrasyonunun hücrelerde bir koruyucu etkisi olmadığı hatta hücre ölümünün bu grupta istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Koruyucu etki olarak sağlıklı hastaların granuloza hücrelerine göre daha yüksek dozda (100µg/mL) kurkumin uygulanmasının ancak koruyucu etki yapabildiği anlaşılmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları ile Kadasi'nin 2012 yılındaki çalışmaları benzer niteliktedir.

6. SONUÇ

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağındaki kadınların %5 ila 8'ini etkileyen yaygın ve karmaşık bir endokrin hastalıdır ve hirsutizm ve anovülatör kısırlığın ana nedenidir. Bununla birlikte, PKOS üreme hastalığından daha fazlasıdır; glukoz intoleransı, diyabet, dislipidemi, hipertansiyon, hepatik steatoz ve artmış kardiyovasküler vekil belirteçleri gibi çok çeşitli metabolik bozukluklarla ilişkilidir.

PKOS'un klinik tedavisinde ve / veya IVF yöntemi uygulanırken kullanılan klasik ilaçlara destek olarak doğal takviyelerin yapılması güncel araştırma konusudur. PKOS için kullanılabilir olan bitki kökenli antioksidanların listesi kapsamlı olsa da, kurkumin gibi bunlardan sadece birkaçı PKOS hastalarında doğrudan test edilmiştir. Kullanılan botaniklerin potansiyel faydaları, benzer üreme veya metabolik anormallikleri olan diğer hasta popülasyonlarından hesaplanmıştır. Ayrıca, kurkumin ve benzeri antioksidanların hücresel etkinlikleri ile ilgili çalışmalar yetersizdir.

Bu çalışmada, farklı konsantrasyondaki kurkuminin PKOS'lu IVF hastalarının ve ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastalarının granuloza hücreleri üzerindeki canlılık, proliferasyon ve apoptoz etkisi araştırılmıştır.

Sonuç olarak; PKOS'lu IVF hastalarının granuloza hücrelerinin kurkumin ile inkübasyonunda hücrelerinin canlılığının $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar, kurkuminin PKOS'u iyileştirmek ve çeşitli antioksidan ve anti-enflamatuar etkileri ile ovulasyonu başlatmak için yararlı bir ajan olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma, PKOS hastalarına ait oositlerin *in vitro* olarak kurkumin ile inkübasyonunun insan granuloza hücrelerinde hücre kültürü düzeyinde incelendiği ilk çalışmadır ve uzun vadede PKOS hakkında yapılacak olan çalışmalara fayda sunması amaçlanmıştır.

7. ÖZET

Bu çalışmada, polikistik over sendromuna (PKOS) sahip *in vitro* fertilizasyon (IVF) hastaları (PKG) ile ovaryen sağlığı yerinde olan IVF hastalarının (HG) granuloza hücrelerine *Curcuma longa* bitki molekülü olan kurkumin uygulandığında, hücrelerin canlılık, proliferasyon ve apoptoz üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, Ota Jinemed Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'nden 10 PKG ve 10 HG olmak üzere toplam 20 hastadan alınan oositlerden elde edilen granuloza hücreleri sırasıyla; hücrelerin canlılık oranlarının saptanması amacıyla Tripan mavisi boyaması, hücrelerin proliferatif kapasitelerinin ve metabolik aktivite düzeylerinin MTT yöntemiyle saptanması, akridin turuncusu/etidyum bromür boyamasıyla apoptotik hücrelerin oranının floresan mikroskopta sayım yapılarak incelenmesi işlemleri uygulanmıştır. Elde edilen bulgular ışığında izlenen istatistiksel analiz, tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır. 24 saatlik inkübasyonunda HG grubunda, 1 µg/mL Kurkumin konsantrasyonunun hücre ölümünü geciktirerek koruyucu etki yaptığı, yüksek konsantrasyonların toksik etkiye neden olmadığı, canlılık oranının %100'e yakın olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan aynı koşulların PKG grubundaki granuloza hücreleri üzerinde farklı apoptotik / nekrotik etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. 1 µg/mL Kurkumin inkübasyonunda PKG grubu granuloza hücrelerinin canlılığının istatistiksel olarak $P < 0.05$ düzeyinde anlamlı derecede azaldığı, yüksek doz 100 µg/mL Kurkumin inkübasyonunda PKG grubu granuloza hücrelerinin canlılığının anlamlı derecede ($P < 0.05$) arttırdığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; PKOS'lu IVF hastalarının granuloza hücrelerinin kurkumin ile inkübasyonunda hücrelerinin canlılığının $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir.

Bu çalışma, PKOS hastalarına ait oositlerin *in vitro* olarak kurkumin ile inkübasyonunun insan granuloza hücrelerinde hücre kültürü

düzeyinde incelendiği ilk çalışmadır ve uzun vadede PKOS hakkında yapılacak olan çalışmalara fayda sunması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler:Polikistik ovaryen sendromu, Granuloza hücreleri, Canlılık, Apoptoz, Kurkumin



8. SUMMARY

The aim of this study is to investigate the effect of *Curcuma Longa* plant molecule, curcumin on proliferation and apoptosis of granulosa cells of polycystic ovary syndrome (PCOS) in vitro fertilization (IVF) patients (PKG) and IVF patients with ovarian health (HG). In this study, granulosa cells obtained from oocytes taken from a total of 20 patients, 10 PKG and 10 HG from Ota Jinemed Hospital IVF Center; In order to determine the viability of the cells through trypan blue staining, determination of the proliferative capacity and metabolic activity levels of the cells by MTT method, and the ratio of apoptotic cells by acridine orange / ethidium bromide staining were examined by fluorescence microscopy. In the light of the findings, statistical analysis was performed with one-way ANOVA and Tukey multiple comparison test. In the 24 hour incubation, it was found that 1 µg/mL Curcumin concentration in the HG group had a protective effect by delaying cell death; high concentrations did not cause any toxic effect and viability rate was close to 100%. On the other hand, the same conditions were found to have different apoptotic / necrotic effects on granulosa cells in the PKG group. It was found that the viability of PKG group granulosa cells decreased significantly at $P < 0.05$ level in 1 µg/mL curcumin incubation, and the viability of PKG group granulosa cells increased significantly ($P < 0.05$) in high dose 100 µg/mL incubation.

As a result; it was found that the viability of the cells decreased significantly ($P < 0.05$) in the incubation of granulosa cells with curcumin in IVF patients with PCOS.

This is the first study investigating *in vitro* curcumin incubation of granulosa cells from PCOS patients' oocytes in cell culture level and is thought to be beneficial for long-term PCOS studies.

Keywords: Polycystic ovarian syndrome, Granulosa cells, Viability, Apoptosis, Curcumin



9. KAYNAKLAR

- Aggarwal, B. B. vd. (2006) "Curcumin-Biological and Medicinal Properties", içinde Ravindran, P. N., Nirmal-Babu, K., ve Sivaraman, K. (ed.) *Turmeric: The Genus Curcuma*. 1.Baskı. Florida: CRC Press, ss. 297–368.
- Aghadavod, E. vd. (2015) "Isolation of granulosa cells from follicular fluid; applications in biomedical and molecular biology experiments", *Advanced Biomedical Research*, 4(1), s. 250. doi: 10.4103/2277-9175.170675.
- Amalraj, A. vd. (2017) "Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review", *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. Elsevier Ltd, 7(2), ss. 205–233. doi: 10.1016/j.jtcme.2016.05.005.
- Aydın Çetinkaya, C. (2018) *Polikistik Over Sendromunda Farklı Antioksidanların Oksidatif Stres Belirteçleri Üzerine Etkisinin Deneysel Rat Modelinde İncelenmesi*. Celal Bayar Üniversitesi.
- Aydos, A., Öztemur, Y. ve Gür-Dedeoğlu, B. (2016) "Polycystic ovary syndrome and molecular approaches", *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73(1), ss. 81–88. doi: 10.5505/TurkHijyen.2016.09327.
- Azziz, R. (2016) "New insights into the genetics of polycystic ovary syndrome", *Nature Reviews Endocrinology*, 12(2), ss. 74–75. doi: 10.1038/nrendo.2015.230.
- Bakhshalizadeh, S. vd. (2018) "Assessment of PGC1 α -FNDC5 Axis in Granulosa Cells of PCOS Mouse Model", *J. Reprod Infertil.*, 19(2), ss. 89–94.
- Batra, H., Pawar, S. ve Bahl, D. (2019) "Curcumin in combination with anti-cancer drugs: A nanomedicine review", *Pharmacological*

- Research*. Elsevier, 139(March 2018), ss. 91–105. doi: 10.1016/j.phrs.2018.11.005.
- Bency, B. T. vd. (2016) "Polycystic ovarian syndrome: Therapeutic potential of herbal remedies-A review", *International Journal of Herbal Medicine*, 4(5), ss. 91–96. Available at: <http://www.florajournal.com/archives/2016/vol4issue5/PartB/5-1-2-689.pdf>.
- Bordoloi, D. ve Kunnumakkara, A. B. (2017) *The Potential of Curcumin: A Multitargeting Agent in Cancer Cell Chemosensitization*. 1. baskı, *Role of Nutraceuticals in Chemoresistance to Cancer*. 1. baskı. Elsevier Inc. doi: 10.1016/b978-0-12-812373-7.00002-4.
- Çelebi, S. (2015) *Benzo(A)piren Uygulanan Sıçanlarda Ovaryum Dokusunda Meydana Gelen Değişikliklere Bir Antioksidan Olarak Curcumin'in Rolü*. T.C. Gazi Üniversitesi.
- Chitra, V., Dhivya ve Precious, D. (2017) "Role of herbals in the management of polycystic ovarian syndrome and its associated symptoms", *International Journal of Herbal Medicine*, 5(5), ss. 125–131. Available at: <http://www.florajournal.com/archives/2017/vol5issue5/PartB/6-2-20-837.pdf>.
- Christin-Maitre, S. (2018) "Gonadotrophins", içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Cham: Springer International Publishing, ss. 153–168.
- Crespo, R. P. vd. (2018) "An update of genetic basis of PCOS pathogenesis", *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 62(3), ss. 352–361. doi: 10.20945/2359-3997000000049.
- Dariya, B. vd. (2019) *Curcumin and Genistein Enhance the Sensitivity of Pancreatic Cancer to Chemotherapy, Breaking Tolerance to Pancreatic Cancer Unresponsiveness to Chemotherapy*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/b978-0-12-817661-0.00006-8.

- Das, M. vd. (2008) "Granulosa cell survival and proliferation are altered in polycystic ovary syndrome", *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(3), ss. 881–887. doi: 10.1210/jc.2007-1650.
- Das, U. N. (2019) "Molecular Mechanisms of Action of Curcumin and Its Relevance to Some Clinical Conditions", içinde *Curcumin for Neurological and Psychiatric Disorders*. Elsevier, ss. 325–332. doi: 10.1016/B978-0-12-815461-8.00017-7.
- Dumont, A., Plouvier, P. ve Dewailly, D. (2018) "Follicle Excess and Abnormalities in Women with PCOS: Pathophysiology, Assessment and Clinical Role", içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Cham: Springer International Publishing, ss. 89–105.
- Ece Mine Demir (2009) "Deneyisel Fibrosarkom Modelinde Curcumin'in Apoptoz Üzerine Etkisi", *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yüksek Lisans Tezi*. Available at: [http://adudspace.adu.edu.tr:8080/jspui/bitstream/11607/813/2/Ece Mine Demir.pdf](http://adudspace.adu.edu.tr:8080/jspui/bitstream/11607/813/2/Ece%20Mine%20Demir.pdf).
- Edmondson, E. S. (2018) "Understanding Polycystic Ovarian Syndrome", *Physician Assistant Clinics*. Elsevier Inc, 3(3), ss. 353–362. doi: 10.1016/j.cpha.2018.02.004.
- Eleftheriadou, M. vd. (2015) "Dietary habits in adolescent girls with polycystic ovarian syndrome", *Gynecological Endocrinology*, 31(4), ss. 269–271. doi: 10.3109/09513590.2014.984677.
- Fanchin, R. (2018) "In Vitro Fertilization (IVF)", içinde *Encyclopedia of Endocrine Diseases*. 2. baskı. Elsevier, ss. 595–598. doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.95849-5.
- Ghosh, A. K., Das, A. K. ve Patra, K. K. (2011) "Studies on antifertility effect of rhizome of curcuma longa linn", *Asian J Pharm Life Sci*, 1(4), ss. 2231–4423.

- Hewlings, S. ve Kalman, D. (2017) "Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health", *Foods*, 6(10), s. 92. doi: 10.3390/foods6100092.
- Hu, C. vd. (2019) "Anti-metastasis activity of curcumin against breast cancer via the inhibition of stem cell-like properties and EMT", *Phytomedicine*. Elsevier GmbH, 58. doi: 10.1016/j.phymed.2018.11.001.
- Jacob, A. vd. (2007) "Mechanism of the Anti-inflammatory Effect of Curcumin: PPAR- γ Activation", *PPAR Research*, 2007, ss. 1–5. doi: 10.1155/2007/89369.
- Jayaprakasha, G. K., Jagan Mohan Rao, L. ve Sakariah, K. K. (2005) "Chemistry and biological activities of *C. longa*", *Trends in Food Science & Technology*, 16(12), ss. 533–548. doi: 10.1016/j.tifs.2005.08.006.
- Johnson, N. P. . (2014) "Metformin use in women with polycystic ovary syndrome", *Annals of Translational Medicine*, 2(6), s. 56. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.04.15.
- Kádasi, A. vd. (2012) "The effect of curcumin on secretory activity, proliferation and apoptosis of the porcine ovarian granulosa cells", *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(1), ss. 349–357.
- Kar, S. (2013) "Current evidence supporting 'letrozole' for ovulation induction", *Journal of Human Reproductive Sciences*, 6(2), s. 93. doi: 10.4103/0974-1208.117166.
- Kasim-Karakas, S. E. ve Mishra, S. (2009) "Botanical Treatment for Polycystic Ovary Syndrome", içinde *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population*. Elsevier, ss. 317–332. doi: 10.1016/B978-0-12-374228-5.00015-9.
- Khuda-Bukhsh, A. R., Saha, S. K. ve Das, S. (2014) *Molecular Approaches*

Toward Targeted Cancer Therapy with Some Food Plant Products: On the Role of Antioxidants, Cancer: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants. Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-405205-5.00008-8.

Lashen, H. (2010) "Review: Role of metformin in the management of polycystic ovary syndrome", *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 1(3), ss. 117–128. doi: 10.1177/2042018810380215.

Legro, R. S. vd. (2014) "Letrozole versus Clomiphene for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome", *New England Journal of Medicine*, 371(2), ss. 119–129. doi: 10.1056/NEJMoa1313517.

Legro, R. S. (2018) "Antiestrogens", içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Cham: Springer International Publishing, ss. 109–118.

Liu, H.-T. ve Ho, Y.-S. (2018) "Anticancer effect of curcumin on breast cancer and stem cells", *Food Science and Human Wellness*. Beijing Academy of Food Sciences., 7(2), ss. 134–137. doi: 10.1016/j.fshw.2018.06.001.

Lizneva, D., Atabekov, I. ve Azziz, R. (2018) "Polycystic Ovary Syndrome", içinde *Encyclopedia of Reproduction*. Second Edi. Elsevier, ss. 59–69. doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.64517-8.

Majumdar, A. P. N. (2019) *Preclinical animal tumor models to study prevention of colon cancer recurrence by curcumin*, *Animal Models in Cancer Drug Discovery*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/b978-0-12-814704-7.00012-x.

Meier, R. K. (2018) "Polycystic Ovary Syndrome", *Nursing Clinics of North America*. Elsevier Inc, 53(3), ss. 407–420. doi: 10.1016/j.cnur.2018.04.008.

Mohammadi, S., Bardei, L. K., vd. (2017) "Anti-inflammatory effects of

- curcumin on insulin resistance index, levels of interleukin-6, C-reactive protein, and liver histology in polycystic ovary syndrome-induced rats”, *Cell Journal*, 19(3), ss. 425–433. doi: 10.22074/cellj.2017.4415.
- Mohammadi, S., Kayedpoor, P., vd. (2017) “The Effect of Curcumin on TNF- α , IL-6 and CRP Expression in a Model of Polycystic Ovary Syndrome as an Inflammation State”, *Journal of Reproduction and Infertility*, 18(4), ss. 352–360.
- Mykhalchenko, K. vd. (2017) “Genetics of polycystic ovary syndrome”, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 17(7), ss. 723–733. doi: 10.1080/14737159.2017.1340833.
- Nabiuni, M. vd. (2015) “The effect of curcumin on the estradiol valerate-induced polycystic ovary in rats”, *Feyz*, 18(6), ss. 515–523.
- Ohtsu, H. vd. (2002) “Antitumor Agents. 217. † Curcumin Analogues as Novel Androgen Receptor Antagonists with Potential as Anti-Prostate Cancer Agents”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(23), ss. 5037–5042. doi: 10.1021/jm020200g.
- Orio, F. ve Muscogiuri, G. (2018) “Diagnostic Criteria for PCOS”, içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*2. Cham: Springer International Publishing.
- Ortiz-Flores, A. E., Luque-Ramírez, M. ve Escobar-Morreale, H. F. (2019) “Polycystic ovary syndrome in adult women”, *Medicina Clinica*. Elsevier España, S.L.U., (xx). doi: 10.1016/j.medcli.2018.11.019.
- Orvieto, R. (2018) “Controlled Ovarian Stimulation for In Vitro Fertilisation Cycles”, içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Cham: Springer International Publishing, ss. 259–270.
- Palomba, S. (2018) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*.

Cham: Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-319-45534-1.

Palomba, S., Fablo, A. ve Battista La Sala, G. (2018) "Insulin-Sensitizing Drugs", içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Cham: Springer International Publishing, ss. 135–152.

Pasquali, R. (2018) "Lifestyle Interventions and Natural and Assisted Reproduction in Patients with PCOS", içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Cham: Springer International Publishing, ss. 162–180.

Prichard, J. ve Kaspar, H. G. (2015) *Ovary, Handbook of Practical Immunohistochemistry: Frequently Asked Questions*. Elsevier Inc. doi: 10.1007/978-1-4939-1578-1_20.

Reddy, P. S. vd. (2016) "Beneficial effect of Curcumin in Letrozole induced polycystic ovary syndrome", *Asian Pacific Journal of Reproduction*. Elsevier (Singapore) Pte Ltd, 5(2), ss. 116–122. doi: 10.1016/j.apjr.2016.01.006.

Ring, M. (2018) "Polycystic Ovarian Syndrome", içinde *Integrative Medicine*. Fourth Edi. Elsevier, ss. 361-369.e2. doi: 10.1016/B978-0-323-35868-2.00035-9.

Rothenberg, S. S. vd. (2018) "Polycystic ovary syndrome in adolescents", *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. Elsevier Ltd, 48, ss. 103–114. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.08.008.

Saladin, K. S. vd. (2018) *Essentials of Anatomy & Physiology*. 2.Baskı. New York: Mc Graw Hill Education.

Samara, N. ve Casper, R. F. (2018) "Aromatase Inhibitors", içinde Palomba, S. (ed.) *Infertility in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Cham: Springer International Publishing, ss. 119–134.

- Scudiere, D. A. vd. (1988) "Evaluation of a Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth and Drug Sensitivity in Culture Using Human and Other Tumor Cell Lines", *Cancer Research*, 48, ss. 4827–4833.
- Shanmugam, M. K. vd. (2019) *Epigenetic Effects of Curcumin in Cancer Prevention, Epigenetics of Cancer Prevention*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/b978-0-12-812494-9.00005-6.
- Strober, W. (2015) "Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability", içinde *Current Protocols in Immunology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., s. A3.B.1-A3.B.3. doi: 10.1002/0471142735.ima03bs111.
- Tanbo, T. vd. (2018) "Ovulation induction in polycystic ovary syndrome", *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. Elsevier Inc., 97(10), ss. 1162–1167. doi: 10.1111/aogs.13395.
- Tasneem, S. vd. (2019) "Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents", *Pharmacological Research*. Elsevier, 139(June 2018), ss. 126–140. doi: 10.1016/j.phrs.2018.11.001.
- Tiwari-Pandey, R. ve Ram Sairam, M. (2009) "Modulation of Ovarian Structure and Abdominal Obesity in Curcumin- and Flutamide-treated Aging FSH-R Haploinsufficient Mice", *Reproductive Sciences*, 16(6), ss. 539–550. doi: 10.1177/1933719109332822.
- Tortora, G. J. ve Derrickson, B. H. (2009) *Principles of Anatomy and Physiology Volume 2*. 12.Baskı. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Waldman, I. N. ve Legro, R. S. (2019) "Polycystic Ovary Syndrome", içinde *The Ovary*. Elsevier, ss. 415–435. doi: 10.1016/B978-0-12-813209-8.00026-1.

- Widmaier, E. P. vd. (2019) *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. 15.Baskı. New York: Mc Graw Hill Education.
- Wolf, W. vd. (2018) "Geographical Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome as Determined by Region and Race/Ethnicity", *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(11), s. 2589. doi: 10.3390/ijerph15112589.
- Yeh, J. ve Kim, H. H. (1996) "Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Possible Roles of Apoptosis in Human Granulosa Cells", içinde *Polycystic Ovary Syndrome*. New York, NY: Springer New York, ss. 51–70. doi: 10.1007/978-1-4613-8483-0_4.
- Zisser H.C. (2007) "Polycystic ovary syndrome and pregnancy: Is metformin the magic bullet?.", *Diabetes Spectrum*, ss. 85–89.

10. EKLER

Ek-1: Etik Kurul Onayı



Ek-2: Olgu Rapor Formu (Hasta Veri Takip Formu)

Tarih: __/__/____

Adı, Soyadı: _____/_____

Giriş Kayıt/Dosya no.: _____

TC Kimlik no.: _____

Doğum tarihi: ___/___/_____

Cinsiyet: Erkek _ / Kadın _

Tel.no: _____

Daha önce geçirdiği ameliyat/hastalıklar:

Kronik hastalıkları:

Kullandığı ilaçlar:

Ailede görülen hastalıklar:

Boy / Kilo:

Kliniğe başvuru şikayet(ler)i:

Aile hekimi bilgileri:

Ek-3: Asgari Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği

Bu araştırmada üremeye yardımcı teknikler kullanılarak FSH tedavisi gören hastalardan rutinde elde edilen ve kullanılmayıp atılan granuloza hücreleri kullanılacaktır. Laboratuvar ortamına alınan bu granuloza hücreleri Kurkumin ile muamele edildiğinde hücrelerdeki canlılık, proliferasyon ve apoptoz üzerindeki etkisinin saptanabilmesi amacıyla inceleme yapılacaktır. Etkisinin saptanması durumunda Kurkumin'in over fonksiyonunu etkileyebileceği tespit edilmiş olacaktır. Daha sonra, etkilenen fonksiyonun moleküler teknikler kullanılarak tespiti için ön veri çalışması yapılmış olacaktır.

Araştırmamız sırasında size aldığınız tedavi dışında herhangi bir ek tedavi uygulanmayacaktır ve gönüllüler rastgele seçilecektir. Araştırmamızda sadece hastalardan rutinde elde edilen ve kullanılmayıp atılan granuloza hücreleri kullanılacaktır. Araştırmaya katılmanız tamamen sizin isteğinize bağlıdır ve istediğiniz zaman herhangi bir cezaya ya da yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkınızı kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilirsiniz. Maruz kalacağınız herhangi bir öngörülen risk veya rahatsızlık olmayacaktır. Araştırmaya katılmanız halinde hedeflenen herhangi bir klinik yarar bulunmamaktadır ve tedavinize yönelik herhangi bir farklı yöntem uygulanmayacaktır. Araştırmaya katılmanız halinde size herhangi bir tedavi uygulanmayacağından tazminat durumu söz konusu değildir. Katılmanız halinde izleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Kurum, Bakanlık ve diğer sağlık otoriteleri size ait orijinal tıbbi kayıtlara doğrudan erişebilecektir, bununla birlikte kimlik bilgileriniz gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacak ve araştırma sonuçlarının yayınlanması durumunda dahi kimliğiniz gizli tutulacaktır.

Sizden elde edilecek granuloza hücrelerine Kurkumin'in etkisi laboratuvar koşullarında incelenecektir. Granuloza hücreleriniz Kurkumin'in etkisi için çalışıldıktan sonra başka bir amaçla kullanılmayacaktır. Örneğiniz araştırma sonrası imha edilecektir. Örneklerinizin analizi İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde yapılacak ve yurtdışında herhangi bir çalışma yapılmayacaktır.

Araştırma hakkında herhangi bir bilgi temin edilebilmesi için temasa geçebilecek kişi Dr. Öğr. Üyesi Gül İpek Gündoğan'a ait 0212 444 5001/1103 numaralı telefonlardan günün 24 saatinde erişebileceksiniz.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki bütün açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.

Evet

Hayır

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ettiğimi beyan ederim.

Evet

Hayır

“İn Vitro Fertilizasyon Hastalarından Elde Edilen Granuloza Hücrelerine Kurkumin’in İn Vitro Etkisi” adlı araştırmanız kapsamında alınan biyolojik örneğimin (granuloza hücresi);

- Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Çalışmaya katılan kişinin;

Adı-soyadı ve imzası:

Tarih:

Telefon Numarası:

Araştırma ekibindeki koordinatör araştırmacının;

Adı-soyadı ve imzası: Dr. Gül İpek Gündoğan

Tarih:11.06.2018

Telefon Numarası: 0212 444 5001/1103

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Neslihan

Soyadı : Aktaş

Doğum Yeri ve Tarihi : İstanbul -17.03.1991

Eğitim

Yüksek Lisans : İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi –
Sağlık Bilimleri Enstitüsü -

Lisans : Fatih Üniversitesi –Fen Fakültesi –
Biyoloji Bölümü - 2013

Yabancı Dil : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar :

Bilimsel Etkinlikler (burs, ödül, projeler) :