

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU VE SAĞLIKLI KADINLARDA
BAĞIRSAK MİKROBİYOTA ÜYELERİNDEN *PREVOTELLA*
MELANİNOGENİCA, *RUMİNOCOCCUS TORQUES* ve *CLOSTRİDİUM*
DİFFİCİLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Gulnar MAMMADOVA

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2017

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU VE SAĞLIKLI KADINLARDA
BAĞIRSAK MİKROBİYOTA ÜYELERİNDEN *PREVOTELLA*
MELANİNOGENİCA, *RUMİNOCOCCUS TORQUES* ve *CLOSTRIDIUM*
DİFFİCİLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Gulnar MAMMADOVA

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Okan Bülent YILDIZ

ANKARA

2017

TEŞEKKÜR

Öncelikle tezimin her aşamasında bana destek olan değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Okan Bülent Yıldız'a teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimimiz süresince bizlere her zaman destek olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Yahya Büyükaşık'a teşekkür ederim.

Tezimi hazırlama sürecimde katkılarını esirgemeyen Prof. Dr. Miyase Bayraktar, Prof. Dr. Tomris Erbaş, Prof. Dr. Alper Gürlek, Prof. Dr. Selçuk Dağdelen, Yrd. Doç. Dr. Uğur Ünlütürk olmak üzere tüm Endokrinoloji Bölümü öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Hasta toplama sürecimde bana destek olan Uzm. Dr. Nafiye Helvacı'ya, Uzm. Dr. Seda Oğuz'a, Stj. Dr. Melisa Zengin'e; over ultrasonografisinin yapılmasında yardımcı olan Prof. Dr. Gürkan Bozdağ'a, Dr. Sevil Mammadova'ya teşekkür ederim.

Mikrobiyota üyelerinden *Prevotella Melaninogenica*, *Ruminococcus Torques* ve *Clostridium Difficile* düzeylerinin ölçülmesindeki katkılarından ötürü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yakut Akyon'a ve Dr. Ceren Özkul'a teşekkür ederim.

Son olarak da; varlıkları ile kendimi her zaman güçlü hissettiğim annem, ablam ve babam Tahir Mammadov'a teşekkür ederim.

ÖZET

Mammadova G., Polikistik over sendromlu ve sağlıklı kadınlarda bağırsak mikrobiyota üyelerinden *Prevotella Melaninogenica*, *Ruminococcus Torques* ve *Clostridium Difficile* karşılaştırılması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Ankara 2017. Polikistik over sendromu (PKOS); hiperandrojenizm, oligo-anovulasyon ve polikistik over morfolojisi ile karakterize sık görülen kompleks bir endokrinopatidir. Bağırsak florasının disbiyozu diyabet, obezite ve çeşitli metabolik bozukluklar dahil olmak üzere birçok hastalık durumu ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte bağırsak mikrobiyotası ile PKOS arasındaki ilişkiyi değerlendiren yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu pilot çalışmada, bağırsak mikrobiyota üyelerinden *Prevotella melaninogenica*, *Ruminococcus torques* ve *Clostridium difficile*, doğurganlık çağında ve normal vücut ağırlığına sahip 25 PKOS'lu hasta ile VKİ açısından benzer özellikte 25 sağlıklı kadında kantitatif olarak karşılaştırıldı. PKOS'lu hastalarda *Prevotella Melaninogenica*'nın sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu bulundu ($6.50 \pm 0.27 \log_{10} / \text{gr dışkıda}$, $5.81 \pm 0.19 \log_{10} / \text{gram dışkıda}$; $p = 0.04$). *Prevotella melaninogenica* ve testosteron seviyeleri arasında pozitif korelasyon mevcuttu (Pearson $r=0.28$; $p=0.04$). PKOS ve kontrol grupları arasında *Ruminococcus torques* ve *Clostridium difficile* sayıları açısından anlamlı bir fark bulunamadı. Bu sonuçlar PKOS ile *Prevotella melaninogenica* arasında muhtemelen androjen fazlalığı üzerinden bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyota, polikistik over sendromu, *Prevotella melaninogenica*

ABSTRACT

Mammadova G., Comparison of intestinal microbiota members *Prevotella Melaninogenica*, *Ruminococcus Torques* and *Clostridium Difficile* in patients with polycystic ovary syndrome and healthy women, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara 2017. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common and complex endocrinopathy characterized with hyperandrogenism, oligo-anovulation and polycystic ovaries. Dysbiosis of intestinal microbiota is associated with diabetes, obesity and several metabolic disorders. However, limited data is available regarding potential relationship between PCOS and intestinal microbiota. In this pilot study, intestinal microbiota members *Prevotella melaninogenica*, *Ruminococcus torques* and *Clostridium difficile* were compared quantitatively in 25 reproductive aged patients with PCOS and normal body weight and 25 healthy, BMI-matched women. As compared to healthy control group, the amount of *Prevotella Melaninogenica* was significantly higher in PCOS group ($6.50 \pm 0.27 \log_{10}$ / gram stool, $5.81 \pm 0.19 \log_{10}$ / gram stool; $p = 0.04$). Significant positive correlation was found between *Prevotella melaninogenica* and testosterone levels (Pearson $r=0.28$; $p=0.04$). No significant difference was found between PCOS and control groups for the amount of a *Ruminococcus torques* and *Clostridium difficile*. These results suggest a potential relationship between PCOS and *Prevotella melaninogenica* possibly through androgen excess.

Key Words: Microbiota, polycystic ovary syndrome, *Prevotella melaninogenica*

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER.....	x
TABLOLAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Polikistik over sendromu	3
2.1.1. Tanımı ve tarihçe.....	3
2.1.2. Prevalans	6
2.1.3. Etyopatofizyoloji.....	7
2.2. Mikrobiyota.....	9
2.2.1. Diyabet ve mikrobiyota.....	10
2.2.2. Obezite ve mikrobiyota	11
2.2.3. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD)	13
2.2.4. PKOS.....	13
3. BİREYLER VE YÖNTEM.....	15
3.1. Hasta Seçimi ve Verilerin Toplanması	15
3.2. Laboratuvar ölçümleri.....	15
3.3. Gaita örneklerin toplanması	16
3.4. Gaita örneklerinin DNA ekstraksiyonu	16
3.5. qPZR metodu	18
3.6. İstatistiksel analiz.....	18
3.7. Etik kurul onayı.....	19
4. BULGULAR.....	20
4.1. Klinik Göstergeler.....	20
4.2. Hormonal ve Biyokimyasal Göstergeler.....	21
4.3. Bakteriyel kantitatif PZR sonuçları.....	21

4.4. İlişki analiz sonuçları	24
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	33
7. KAYNAKLAR	34
8. EKLER.....	40
EK 1. Modifiye Ferriman-Gallwey skorlaması.....	40
EK 2. Hirsutizm atlası Yıldız et al., Hum Riprod update 2010	41
EK 3. Etik Kurul Onayı.....	43



SİMGELER ve KISALTMALAR

17OHP	: 17-hidroksiprogesteron
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AE-PCOS	: Androgen Excess and PCOS Society
AMH	: Anti-müllerian hormon
CYP11A1	: Kolesterol desmolaz
CYP17A1	: 17 α -hidroksilaz/17,20-liyaz
DHEA	: Dihidroepiandrosteron
DHEAS	: Dihidroepiandrosteron sülfat
DM	: Diabetes mellitus
FAI	: Serbest androjen indeksi
FMT	: Fekal mikrobiyota transplantasyonu
FSH	: Follikül uyarıcı hormon
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
HA	: Hiperandrojenizm
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HOMA-IR	: Homeostatik model - insülin direnci
IFG	: Bozulmuş açlık glukozu
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IGF-BP	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein
IGT	: Bozulmuş glukoz toleransı
IPG	: Fosfoinositoglikan
KAH	: Konjenital adrenal hiperplazi
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LH	: Luteinizan hormon
LPS	: Lipopolisakkarid
MAP2K1	: Mitojenle aktiflenen protein kinaz 1
mFG	: Modifiye Ferriman-Gallwey skorlaması
MS	: Metabolik sendrom
NAFLD	: Nonalkolik yağlı karaciğer
NASH	: Nonalkolik steatohepatit

NGT	: Normal glukoz toleransı
NIH	: Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüleri
OA	: Oligo-anovulasyon
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
OK	: Oral kontraseptif
PKO	: Polikistik over
PKOS	: Polikistik over sendromu
SHBG	: Seks hormon bağlayıcı globulin
T4	: Tiroksin
TG	: Trigliserit
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon
VA	: Vücut ağırlığı
VKİ	: Vücut kitle indeksi

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 4.3.1. PKOS ve kontrol grubunda <i>P. melaninogenica</i> 'nın log10 kopya sayısı/gr dışkı dağılımı.....	22
Şekil 4.3.2. PKOS ve kontrol grubunda <i>R. torques</i> 'in log10 kopya sayısı/gr dışkı dağılımı	23
Şekil 4.3.3. PKOS ve kontrol grubunda <i>C. difficile</i> 'in log10 kopya sayısı/gr dışkı dağılımı	23
Şekil 4.4.1. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve testosteron seviyeleri arasındaki korelasyon	24
Şekil 4.4.2. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve 0. dk glukoz seviyeleri arasındaki korelasyon	25
Şekil 4.4.3. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve 120. dk glukoz seviyeleri arasındaki korelasyon	25
Şekil 4.4.4. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve 0. dk insülin seviyeleri arasındaki korelasyon	26
Şekil 4.4.5. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve 120. dk insülin seviyeleri arasındaki korelasyon	26
Şekil 4.4.6. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve HOMA-IR seviyeleri arasındaki korelasyon	27
Şekil 4.4.7. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve mFG seviyeleri arasındaki korelasyon	27
Şekil 4.4.8. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve FAI seviyeleri arasındaki korelasyon	28
Şekil 4.4.9. Dışkıda <i>P. melaninogenica</i> miktarı ve SHBG seviyeleri arasındaki korelasyon	28

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 2.1.1. Polikistik over sendromunun tanı kriterlerine göre fenotipleri.....	4
Tablo 2.1.2. PKOS ve sendromun fenotipik özelliklerinin prevalansı.....	6
Tablo 2.2. Diğer hastalıkların insan bağırsak mikrobiyota türleri ile ilişkisi	10
Tablo 3.1. Gerçek zamanlı PZR amplikasyon koşulları.....	18
Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunun klinik parametreleri	20
Tablo 4.2. Hasta ve kontrol grubunun hormonal ve biyokimyasal parametreleri.....	21

1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS) doğurganlık çağındaki kadınlarda % 5-10 prevalans ile en sık görülen reproduktif endokrinopati olarak tanımlanabilir. PKOS; hiperandrojenizm, menstrüasyon düzeni bozukluğu, polikistik overler ve santral adipositenin eşlik ettiği bir hastalık spektrumudur. PKOS için Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH), Rotterdam ve “Androgen Excess and PCOS Society (AE-PCOS) tanı kriterleri olmak üzere 3 alternatif tanımlama mevcuttur. En sık kullanılan ve 1990 yılında oluşturulan NIH tanı kriterlerinde klinik ya da biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ve kronik anovulasyon yer almaktadır. 2003 yılında belirlenen Rotterdam kriterlerine göre; anovulasyon ya da oligoovulasyona bağlı menstrüel düzensizlik, hiperandrojenizmin klinik ya da biyokimyasal bulguları ve ultrasonografi ile gösterilen polikistik over bulgularından en az ikisinin saptanması ile PKOS tanısı konulabilmektedir. 2006 yılında belirlenen AE-PCOS kriterlerine göre ise, PKOS, oligo-anovulasyon ya da polikistik overler formundaki ovulatuvar disfonksiyon ile ilişkili klinik ya da biyokimyasal hiperandrojenizm olarak tanımlanır. Her üç tanımlamada da PKOS tanısı konulmadan önce diğer ilişkili bozuklukların dışlanması gerektiği vurgulanmaktadır [1].

PKOS patofizyolojisi, halen tam olarak anlaşılammakla birlikte en temel noktaların insülin direnci, hiperandrojenizm ve değişen gonadotropin dinamikleri olduğu bilinmektedir. PKOS'nin patogenetik mekanizmaları; insülin direnci ve hiperinsülinemi, hipotalamik-pitüiter-gonadal aksın bozulması, ovaryen steroidogenezin bozulması, adrenal steroidogenez anormallikleri ve genetik faktörler olarak sayılabilir. Ailesel ve genetik faktörlerin yatkınlık oluşturduğunu gösteren kanıtlar olmakla birlikte, ek olarak puberte ya da obezitenin eklenmesi ile birlikte sendrom fenotipi ortaya çıkmaktadır. PKOS'ta insülin direnci kompensatuar hiperinsülinemiye neden olmaktadır, insülin direncinin varlığı ve adipozite bu hastalarda diabetes mellitus, hipertansiyon, dislipidemi ve kardiyovasküler hastalık riskini daha da artırmaktadır [2].

İnsan vücudunda birçok organ ve dokuda kolonize olmuş toplam 10^{14} mikroorganizma olduğu tahmin edilmektedir. Bir başka deyişle insan vücudundaki mikroorganizma sayısı, toplam insan hücre sayısından 10 kat fazladır. Bu

mikroorganizmaların büyük çoğunluğunu bakteriler oluşturmakla birlikte, virüsler, funguslar ve birçok ökaryotik mikroorganizma da insan mikrobiyotasında yerini almaktadır. İnsan mikrobiyotasının büyük kısmı başta gastrointestinal sistem olmak üzere deri, genitoüriner sistem ve solunum sisteminde kolonize olmuştur. Gastrointestinal sistem yaklaşık 200 m² yüzey alanı ve mikroorganizmalar için zengin besin öğeleri içermesi nedeniyle kolonizasyon için en uygun ortamı sunmaktadır. Bu nedenle kolon, tek başına vücudumuzdaki mikroorganizmaların %70'inden fazlasını barındırmaktadır [3].

İntestinal mikrobiyota; insanlarda başta beslenme olmak üzere, metabolik, fizyolojik ve immünolojik olarak birçok olayda önemli rol oynamaktadır. İntestinal sistem mikrobiyotası tüm bu özellikleri nedeniyle ilgi odağı haline gelmiş ve son yıllarda yapılan çok sayıda çalışmanın konusu olmuştur. Bu çalışmaların artmasıyla birlikte sanılanın aksine gastrointestinal sistem florasının; günümüzde fizyolojik koşullar dışında en önemli mortalite ve morbidite nedenleri olan obezite, metabolik sendrom, tip 2 diyabet ve ateroskleroz ile yakın ilişkisi olduğu anlaşılmıştır. Bu konuda yapılan değişik araştırmalarda bizim çalışmamızda adı geçen bağırsak mikrobiyota üyelerinin miktarının arttığı ve ya azaldığı görülmüştür [4, 5].

Literatürde yakın zamanda, letrozol ile indüklenmiş hayvan PKOS modelinde bağırsak mikrobiyotasını değerlendiren iki çalışma yayınlanmıştır [6, 7]. Bu çalışmaların ilkinde, Bacteroidetes ve Firmicutes oranlarında önemli değişiklikler bulunmuş; ikincisinde ise PKOS'lu farelerde *Prevotella*'nın artmış; *Lactobacillus*, *Ruminococcus* ve *Clostridium*'un sağlıklı farelere oranla azalmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PKOS'lu fareler *Lactobacillus* ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) ile tedavi edildiğinde; FMT grubundakilerin menstrual döngülerinde düzelme, *Lactobacillus* grubundakilerin ise androjen biyosentezinde azalma gözlenmiştir.

Çalışmamızda, literatürdeki bütün bu verilerin ışığında, PKOS'lu hastalarda ve sağlıklı kontrollerde karşılaştırmalı olarak bağırsak mikrobiyota üyelerinden *Prevotella melaninogenica*, *Ruminococcus torques* ve *Clostridium Difficile* değerlendirmesinin yapılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik over sendromu

2.1.1. Tanımı ve tarihçe

Polikistik over sendromu (PKOS), ilk kez 1935'de Stein ve Leventhal tarafından obez, amenoreik, hirsüt ve büyük polikistik görünümde overleri olan 7 kadında tanımlanmıştır. Bu hastaların over dokularının 1/2 - 3/4'ü kadarlık kısmına wedge rezeksiyon yapıldığında, tümünde menstrüel siklusun normale döndüğü, ikisinde de gebelik sağlandığı saptanmıştır [8]. PKOS, doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık görülen ve prevalansı yaklaşık %5-10 olan kompleks bir endokrin bozukluktur [9]. Heterojen semptom ve bulgalara sahip olması ve tek bir tanımlamasının olmaması tanıyı zorlaştırmaktadır. Oligo-anovulasyon (OA), klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm (HA) ve ultrasonografide polikistik over görünümü (PKO) sendromun temel bulgularıdır.

PKOS'un heterojen yapısından dolayı tanı kriterlerinin belirlenmesinde zorluklar mevcuttur. İlk kez 1990 yılında NIH tarafından düzenlenen bir konferansta tanı kriterleri oluşturulmuştur. Buna göre PKOS benzeri kliniğe yol açabilecek diğer etiyolojik nedenler ekarte edildikten sonra klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm ve oligo-anovulasyonu karşılayanlar PKOS olarak kabul edilmiştir.

2003 yılında European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) ve the American Society for Reproductive Medicine (ASRM), Rotterdam kriterleri olarak bilinen aşağıdaki kriterleri ortaya koymuştur [10]. PKOS benzeri kliniğe yol açabilecek diğer etiyolojik nedenler ekarte edildikten sonra aşağıdaki kriterlerden ikisinin olması tanı için yeterli kabul edilmiştir.

- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm
- Oligo-anovulasyon
- Polikistik overler

NIH 1990 ve Rotterdam 2003 kriterlerinde androjen fazlalığı veya menstrüel disfonksiyon olmaksızın PKOS tanısı konabilmesi uzmanlar arasında tartışma yaratmıştır ve 2006 yılında AE-PCOS tarafından yeni tanı kriterleri oluşturulmuştur [11]. Buna göre PKOS benzeri kliniğe yol açabilecek diğer etiyolojik nedenler ekarte

edildikten sonra hirsütizm ve/veya hiperandrojenemi beraberinde oligo-anovulasyon ve/veya polikistik over kriterlerine sahip hastalar PKOS olarak kabul edilmiştir.

Tanı kriterlerinin hepsinde bahsedildiği gibi PKOS tanısı koyulmadan önce irregüler menstruasyon ve androjen fazlalığına yol açabilecek diğer nedenlerin ekarte edilmesi gerekmektedir. PKOS benzeri kliniğe yol açan nedenler arasında Cushing sendromu, non-klasik konjenital adrenal hiperplazi, primer hipotiroidi, obezite, prematür ovaryen yetmezlik, akromegali, prolaktinoma ve ilaçlar yer almaktadır [8].

NIH 1990, Rotterdam 2003 ve AE-PCOS 2006 kriterlerine göre PKOS, 4 alt fenotipe ayrılmıştır. Bunlar arasında yer alan fenotip A; PKOS'sun en sık görülen ve en ciddi seyreden fenotipidir. Bu fenotipe sahip hastalar PKOS'un üç tanı kriterini kapsamaktadır (HA + OA + PKO). Fenotip B ise fenotip A'ya oldukça benzer ancak daha az görülür. PKOS'un diğer iki fenotipi (fenotip C, D) ise zayıf fenotip olarak değerlendirilir.

Aşağıdaki tabloda kriterlere göre sendromun fenotipleri gösterilmiştir [12].

Tablo 2.1.1. Polikistik over sendromunun tanı kriterlerine göre fenotipleri

Özellik	Fenotip			
	A	B	C	D
Hiperandrojenizm	✓	✓	✓	
Oligo-anovulasyon	✓	✓		✓
Polikistik overler	✓		✓	✓
NIH 1990	✓	✓		
Rotterdam 2003	✓	✓	✓	✓
AE-PCOS 2006	✓	✓	✓	✓

Aşağıda PKOS'un tanı kriterleri ve fenotipik özelliklerinde adı geçen klinik bulgulardan (klinik/biyokimyasal hiperandrojenizm, oligo-anovulasyon, polikistik over) kısaca bahsedilmiştir.

Klinik hiperandrojenizm bulguları: hirsütizm, akne ve alopesidir. Bunların arasında en sık görülen hirsütizmdir [13]. Hirsütizm androjen bağımlı cilt bölgelerinde erkek tipi kılların gelişmesi olarak tanımlanır [13]. PKOS'lu hastalarda görülme sıklığı %70 iken, PKOS olmayanlarda %10 civarındadır [14]. Ancak bu

linik bulgunun değerlendirilmesi oldukça subjektiftir [15]. Hirsütizmin klinikte standart olarak değerlendirilebilmesi amacıyla modifiye Ferriman-Gallwey skorlaması oluşturulmuştur. Modifiye Ferriman-Gallwey metodu ile vücudun toplam 9 alanındaki (dudak üstü, çene, göğüs, üst kol, üst ve alt karın, sırt, bel ve bacak) kıl dağılımı 0-4 arasında puanlandırılır ve toplam skor $\geq 6-8$ hirsütizm olarak kabul edilir [15]. Bu skorlama sistemi de semikantitatifdir ve subjektivitenin önüne yeteri kadar geçmemektedir [15].

Akne; PKOS'lu genç kadınların 1/3'de sık görülse de tek başına tanı için yeterli bulgu değildir. Androjenler yağ üretimini artırarak bakteriyal kolonizasyona zemin hazırlar ve böylelikle akne oluşumuna katkı sağlarlar [16].

Alopesi; vertekste saç azalması olarak tanımlanır. Ayrıca bu bulgu sadece androjen yüksekliği sonucu değil [17] demir eksikliği anemisi, yaşlanma gibi nedenlerde de görülmektedir [18]. Alopesi tek başına güvenilir bir bulgu olmasa da [11], genellikle ağır hiperandrojenizmin göstergesidir.

Biyokimyasal hiperandrojenizm; serumda androjen düzeylerinin yüksek tespit edilmesidir. PKOS'lu hastaların %60-80'inde hiperandrojenemi görülür [11]. Hiperandrojenizm tespitinde total ve serbest testosteron, SHBG, androstenedion ve dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS) ölçümü kullanılabilir. DHEAS ve androstenedion ölçümünün etnik gruplarda farklılık göstermesi dışında klinik açıdan çok değeri yoktur [19]. Total ve serbest testosteron ve SHBG klinik olarak daha önemlidir. Çünkü; testosteron dolaşımında albumine ve SHBG'ye bağlı olarak bulunur. Albumine bağlı kısmı, aktif olan serbest kısımdır. [20] Testosteron ölçümünde en değerli yöntem denge diyaliz yöntemi olmakla birlikte yöntemin pahalı ve zor olması rutin olarak kullanılmasını engellemektedir [21]. Testosteronun direkt ölçümünde kullanılan ticari kitlerin de özellikle alt seviyelerde güvenilir olmaması nedeniyle hiperandrojenemi tespiti için serbest androjen indeksi (FAI) hesaplaması alternatif bir yöntemdir. Bu hesaplama da $(\text{Total testosteron} / \text{SHBG} \times 100)$ formülü kullanılarak yapılır.

Anovulasyon, PKOS'ta menstrüel disfonksiyonun sonucudur ve tanıda temel bulgudur. Anovulasyon hastalarda oligo-amenore ve disfonksiyonel uterus kanaması ile kendini gösterir. Oligomenore yılda 9'dan az adet veya 35 günden uzun sikluslar olarak tanımlanır. Amenore ise 3 aydan uzun süre menstürasyonun olmamasıdır.

PKOS'lu kadınların yaklaşık beşte birinde normal menstrüel siklus görülebilir. Ancak normal menstrüel sıklusa rağmen ovulatuvar disfonksiyon söz konusu olabilir. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada hastaların %15-30'unda düzenli adetlere rağmen oligo- anovulasyon saptanmıştır [22]. Ovulasyonun takibi progesteron ölçümü ile yapılır. Progesteronun luteal fazda >10 nmol/l, midluteal fazda (adetin 21.günü) >30 nmol/l olması ovulasyonu gösterir [23].

Polikistik over görünümü, uluslararası konsensüs kriterine göre folliküler fazda en az bir overde 2-9 mm boyutlarında ≥ 12 follikül ve/veya over hacminin >10 cm³ olması olarak tanımlanır [24]. Normal populyasyonda %20-30 [25], PKOS'lu populyasyonda ise %75'e varan oranda görülür [11].

2.1.2. Prevalans

Sendromun prevalansı, çalışılan populyasyona ve kullanılan tanı kriterlerine göre değişmektedir. Türkiye'de PKOS prevalansı, NIH kriterlerine göre %6.1 iken, Rotterdam kriterlerine göre %19.9, AE-PCOS kriterlerine göre %15.3 olarak bulunmuştur [1]. Dünyada bu alanda yapılan tüm çalışmaların birlikte incelendiği ilk meta-analize göre PKOS ve sendromun fenotipik özelliklerinin prevalansı Tablo 2.1.2'de gösterilmiştir [26].

Tablo 2.1.2. PKOS ve sendromun fenotipik özelliklerinin prevalansı

	Çalışma sayısı	Prevalans (%95 CI)
NIH	18	%6 (5-8)
Rotterdam	15	%10 (8-13)
AE-PCOS	10	%10 (7-13)
Hirsütizm	14	%13 (8-20)
Hiperandrojenemi	9	%11 (8-15)
PKO	12	%28 (22-35)
Oligo-anovulasyon	19	%15 (12-18)

Kaynak: Bozdag et al. "The prevalence and phenotypic features of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis." *Human Reproduction* (2016) [26].

2.1.3. Etyopatofizyoloji

PKOS'un etiyojisi kesin olarak bilinmemekle beraber çevresel ve genetik faktörlerin neden olduğu düşünülmektedir. PKOS gelişiminde rol oynadığı düşünülen mekanizmalar aşağıda kısaca gözden geçirilmiştir.

Gonadotropin Sekresyon Bozuklukları: PKOS'lu hastalarda gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) frekansında artış ve bunun sonucu olarak luteinizan hormon (LH) frekansında artış tespit edilmektedir [27]. Bu artışın nedeni tam olarak açıklanamasa da kronik östrojen üretiminin pozitif geribesleme mekanizmasıyla etki ettiği düşünülmektedir [28-30]. LH'nin aksine PKOS'lu kadınlarda FSH salınımında rölatif azalma görülmektedir [27]. Azalmış FSH düzeylerinin kesin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte kronik karşılanmamış östrojen alınımının negatif geribesleme etkisinin buna yol açtığı düşünülmektedir [31]. Ayrıca artmış GnRH pulsatilitesinin LH β gen ekspresyonunun FSH β gen ekspresyonuna göre daha fazla arttırması da patogeneizde rol oynadığı düşünülen diğer bir mekanizmadır [32]. Normal fizyolojide LH overin teka hücrelerine etki ederek androjen (testosteron ve androstenedion) yapımına yol açar, bu androjenler teka hücrelerinden granüloza hücrelerine taşınır burada da FSH aromataz enzim etkisi ile estrona dönüştürülür [33]. PKOS'lu hastalarda yüksek LH konsantrasyonu sonucu overlerde artmış androjen sentezi hücre içi sinyal yollarından olan mitojenle aktiflenen protein kinaz 1'in (MAP2K1) inhibe olmasıyla gerçekleşir [33]. LH'nin yükselmesi, rölatif FSH'nin azalması ile overlerde androjen üretimi artar, bu da follikül gelişimi ve ovulasyonda bozulmaya neden olur [34]. Tüm bu mekanizmalar PKOS'un androjen fazlalığı patogenezinde nöroendokrin bozukluklara işaret etmektedir.

Steroidogenez Bozuklukları: PKOS'da klinik ve biyokimyasal hiperandrojenizmin nedeni daha çok teka hücrelerindeki steroidogenez bozukluğundan kaynaklanır [35]. Artmış LH ve insülin düzeyleri, rölatif olarak azalmış FSH düzeyleri ve intraovaryen faktörler androjen sentezini stimüle ederek steroidogenez değişikliklerine neden olur [36]. Anti-müllerian hormon (AMH) ve inhibin androjen sentezini artıran intraovaryen faktörlerdir. AMH granüloza hücresinden köken alır ve parakrin etkiyle androjen sentezini artırır. İnhibin de benzer şekilde parakrin etki göstererek androjen sentezinin stimülasyonuna neden olur. Adrenal steroidogenez bozukluğunun ise PKOS patogenezinde yeri tam olarak

bilinmese de hastaların yaklaşık % 25'inde adrenal androjen fazlalığı görülür [37]. Bu hastalarda genetik olarak CYP17A1'in disregülasyonu söz konusudur [38]. PKOS'lu hastalarda hiperinsülinemi ve androjen fazlalığı nedeniyle 5- α redüktaz aktivitesi uyarılır, 11- β hidroksterooid dehidrogenaz-1 aktivitesi inhibe edilir ve böylelikle kortizolün periferel metabolizması artar [39]. Kortizolün artmış periferel metabolizması, adrenokortikotropik hormon (ACTH) sentezinde ve adrenal androjenlerde artışa neden olur [39]. Sonuç olarak intraovaryen ve adrenal androjen yüksekliği, folliküler atreziye neden olarak anovulasyona zemin hazırlar [40]

İnsülin Direnci: ekzojen ya da endojen insüline karşı bozulmuş biyolojik yanıt olarak tanımlanır. İnsülin direnci hem zayıf hem de obez PKOS'lu hastalarda sık görülen bir bulgudur. PKOS'lu kadınlarda ilk kez 1980 yılında Burghen ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir [41]. Sendromda insülin direncinin mekanizması net olarak açıklanamasa da post-reseptör sinyalizasyon bozukluğu ile ilgili olduğu düşünülmektedir [42]. İnsülin direncinde serum insülin düzeyi artarak LH ile beraber teka hücrelerinden androjen sentezini stimüle eder ve bunun sonucunda artan ovaryen hiperandrojenemi folliküler atreziye ve anovulasyona neden olur [36, 43]. PKOS'ta insülin direnci obeziteden bağımsızdır ancak obez olanlarda olmayanlara göre daha belirgindir [37]. İnsülin karaciğerde insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinin (IGFBP-1) yapımını engellerken IGF-1'in overlerde bağlanmasını ve over kaynaklı androjen salınımını artırır [44]. Ayrıca insülin seks hormon bağlayıcı globulinin (SHBG) karaciğerde üretimini azaltarak biyolojik olarak aktif androjen olan serbest testosteronun dolaşımdaki miktarını artırır [45]. PKOS'ta serin fosforilasyonunun, adrenalde ve overlerdeki P450C17 enzim aktivasyonu arttırarak insülin direnci oluşumunda ve androjen üretiminde temel mekanizma olduğunu destekleyen veriler mevcuttur [46, 47]. Bu bilgiler ışığında PKOS'daki primer bozukluğun insülin direnci olduğu ve hiperandrojenizmin insülin direncine sekonder geliştiği söylenebilir [48].

Genetik faktörler: PKOS gelişimine önemli katkıda bulunur. PKOS'lu kadınların birinci derece akrabalarında hiperandrojenizme sık rastlanması ve tek yumurta ikizleri arasında çift yumurta ikizlerine göre PKOS belirtilerinin daha fazla görülmesi genetik temeli desteklemektedir [49]. PKOS patogenezinde gözlenen %70 değişkenlik poligenetik nedenlere bağlanmaktadır [50]. PKOS patogenezi ile ilgili

bugüne kadar hücre tipini etkilediği bilinen ve hücresel sinyal iletiminde yer alan birçok gen tespit edilmiştir [51, 52]. Bunlar arasında, gonadotropin aktivitesi, androjen sentez ve sekresyonu, insülin direnci ve inflamasyon ile ilişkili aday genler bulunmaktadır [53]. Prenatal testosteron maruziyeti PKOS'a eğilimi artırmaktadır ve bununla ilgili yapılan çalışmalarda intrauterin dönemde yüksek doz testosteronu maruz bırakılan maymunlarda PKOS bulgularının gelişiminin yanı sıra ovaryen ve adrenal androjenlerin arttığı görülmüştür [54, 55]. PKOS gelişim riskini artıran diğer nedenler arasında fazla ve ya düşük doğum ağırlığı hikayesi, kilolu anneden doğum hikayesi, premature pubarş ve obezite de mevcuttur [56].

2.2. Mikrobiyota

İnsan bağırsak mukozası, epitel, lamina propria ve muskularis mukoza tabasından oluşmaktadır ve yaklaşık olarak 10^{14} kadar bakteri ile kolonizedir [57]. Bağırsaktaki bakteri sayısı, insan vücudundaki hücrelerinden on kat daha fazladır [58]. Normal flora olarak adlandırdığımız bakteri topluluğu mikrobiyota olarak tanımlanmıştır [59]. Doğumdan çok kısa bir süre sonra gelişmeye başlayan mikrobiyota; yaklaşık olarak 1000'e kadar bakteri türünü bünyesinde barındırmaktadır [60, 61]. Bakteri türleri kişinin yaşı, diyet alışkanlıkları, yaşam tarzı, genetik yatkınlıkları ve antibiyotik kullanımı gibi faktörler ile değişikliklere uğrayabilmektedir [62-64].

Mikrobiyotanın vücutta inflamasyon, immün sistem, beslenme, endokrin sistem, epitel maturasyonu ve bağırsak epitelizasyonundaki işlevleri düşünüldüğünde birçok hastalık ile ilişkisi gündeme gelmektedir [65]. Çeşitli faktörlerin etkisi ile mikrobiyotanın iç dengesi bozulabilir. Bununla birlikte mikrobiyota hem içerik hem de sayısal olarak bir değişime uğrar. Bu durum da disbiyozis olarak tanımlanır.

Günümüzde mikrobiyotadan kaynaklanan hastalıkların temelinde disbiyozisin var olduğu düşünülmektedir. Bağırsak disbiyozisinin birçok hastalığın gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir. Aşağıdaki tabloda hastalıkların mikrobiyota profilleri özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Diğer hastalıkların insan bağırsak mikrobiyota türleri ile ilişkisi

Örnek hastalık	Örnek	Disbiyozis
Ülseratif kolit [66]	Gaita	↓ <i>R. hominis</i> ↓ <i>F. prausnitzii</i>
Chron hastalığı [67]	Gaita	↓ <i>Bacteroides</i> ↓ <i>Bifidobacteria</i> ↓ <i>Prevotella</i> ↓ <i>Ruminococcus spp.</i> ↓ <i>Pseudobutyrvibrio ruminis</i>
Kolorektal kanser [68]	Gaita	↑ <i>Acidaminobacter</i> , ↑ <i>Phascolarctobacterium</i> , ↑ <i>Citrobacter farmer</i> ↑ <i>Akkermansia muciniphila</i> ↓ <i>Lactobacilli</i> ↓ <i>Bifidobacteria</i>
HIV [69, 70]	Gaita	↑ <i>Candida albicans</i> ↑ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Romatoit artrit [71]	Gaita	↓ <i>Bifidobacteria</i> ↓ <i>Bacteroides fragilis</i>

Aşağıda bağırsak disbiyozisi sonucu oluşan metabolik hastalıklarının mikrobiyota profillerinden bahsedilmiştir.

2.2.1. Diyabet ve mikrobiyota

Diyabet metabolik bir hastalık olup, son zamanlarda bu hastalığın gelişmesinde ilk enteral beslenme içeriği, doğum ağırlığı ve doğum şekline etkilenen erken mikrobiyal kolonizasyonun neden olduğu düşünülmektedir [72]. Buna ek olarak, lipopolisakkaridin (LPS) bu hastalığı tetikleyen yeni bir faktör olduğu düşünülmektedir [73]. Bununla ilgili *Serino ve ark.*'nin yaptığı bir çalışmada, farelere yüksek-yagli-karbonhidratlı (HF) diyet diyabetik olana kadar uygulanmış ve bağırsak geçirgenliğinin ve endotoksininin spesifik bağırsak mikrobiyota profili ile beraber artış gösterdiği görülmüştür [74]. Buna paralel olarak, *Amar ve ark.*'nin yaptığı çalışmada, tip 2 diyabette insülin direnci ile endotoksinin bağırsak inflamasyonda mikrobiyotik katkısını tanımlamak için "metabolik enfeksiyon" kavramı tanımlamıştır [75]. Bazı bakteriyel DNA'ların (>% 85'i Proteobacteria filumundan) serum düzeyleri prediyabetiklerde artmış olarak bulunmuştur [76]. Bu nedenle, mikrobiyal kaynaklı endotoksinin insülin direnci ilişkili tip 2 diyabette önemli bir rol oynayabileceği düşünülmüştür. *Qin ve ark.*, tip 2 diyabette metagenom

çapında önemli bir çalışmayı tamamlayan ilk yazarlardır. Bu yazarlar tarafından tip 2 diyabetli Çinlilerden oluşan bir kohort çalışmada, klinik veriler ile bağırsak mikrobiyal bileşimi arasında ilginç bazı korelasyonlar olduğu gösterilmiştir. Adigeçen bu çalışmada, sağlıklı kontrollerde bütirat üreten bakteriler (*Clostridiales sp.*, *E. rectale*, *F. prausnitzii*, *Roseburia intestinalis*) artmış, tip 2 diyabetli hastalarda ise azalmış olarak tespit edilmiştir [77]. Yine adigeçen bu çalışmada, tip 2 diyabetli hastalarda *Bacteroides caccae*, çeşitli Clostridiales, *Escherichia coli* ve sülfat indirgeyici *Desulfovibrio* türleri baskın olarak tespit edilmiştir [77]. Ayrıca tip 1 ve tip 2 diyabetin mikrobiyotaya ile arasındaki ilişkiyi değerlendiren diğer çalışma sonuçlarına bakıldığında, tip 1 diyabetli çocuklarda non-diyabetiklere göre Clostridium, Bacteroides ve Veillonella düzeyinin belirgin arttığı, Lactobacillus, Bifidobacterium, *Blautia coccooides/Eubacterium rectale* ve Prevotella düzeylerinin azaldığı görülmüştür [78]. Aynı çalışmada, Lactobacillus, Bifidobacterium ve Firmicutes/Bacteroidetes oranlarının diyabetli grupta plazma glukoz düzeyi ile anlamlı negatif, Clostridium düzeyinin ise plazma glukoz düzeyi ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Bununla birlikte, tip 2 diyabet ve mikrobiyotaya arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir başka çalışmanın sonucunda, Firmicutes filimundan *Clostridium Coccooides* ve *Eubacteria rectale*'nin belirgin azaldığı, Bacteroidetes filimundan olan Prevotella-Bacteroides grubu bakterilerin ise belirgin arttığı görülmüştür [79]. Yukarıda adigeçen bakterilerin aynı zamanda plazma glukoz seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdiği görülmüştür. Sonuç olarak yapılan çalışmalar incelendiğinde diyabet tipleri arasında mikrobiyotaya profillerinin değişiklik gösterdiği görülmüştür.

2.2.2. Obezite ve mikrobiyotaya

Günümüzde bağırsak bakteri inflamasyonunun obeziteye neden olabileceği öne sürülmüştür [80]. Bununla ilgili birçok çalışma yayınlanmıştır. İlk kez *Turnbaugh ve ark.*'nin yaptığı çalışmada, mikropsuz farelerin "obez mikrobiyotaya" ile kolonize edilmesi, "zayıf mikrobiyotaya" ile kolonizasyona göre toplam vücut yağında daha fazla bir artışa neden olduğu görülmüştür [81]. *Cani ve ark.*'nin yaptığı çalışmada ise, bağırsak bakterilerinin inflamasyonu sonucu, metabolik endotoksineminin obeziteye neden olabileceği düşünülmüştür [73]. Adigeçen bu

çalışmada, artmış LPS'nin insülin direncini ve obeziteyi arttırdığı gösterilmiştir [82]. Ayrıca, *Ridaura ve ark.*'nin yaptığı çalışmada, diyet ve bağırsak mikrobiyal kompozisyonu ile obezite arasında önemli bir bağ olduğu öne sürülmüştür ve obezite için uyuşmayan kadın ikiz çiftlerinin her birinden “germ-free” farelere bağırsak mikrobiyota nakli yapılarak "obez mikrobiyot" ile transplante edilen farelerde "zayıf mikrobiyot" ile transplante edilen farelere göre toplam vücut ve yağ kütlelerinde artış olduğu görülmüştür [83]. Yukarıda adı geçen çalışmanın sonucunda, fekal bakteri kültürlerinin “germ-free” farelerde obezite ile ilişkili diğer metabolik fenotiplere neden olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, insan bağırsak mikrobiyal kompozisyonu 169 obez ve 123 non-obez Danimarkalı bireyde değerlendirilmiştir ve bu çalışma sonucunda, bakteri zenginlikleri düşük (popülasyonun %23'ü) bireylerin, bakteri zenginlikleri yüksek olan bireylere kıyasla, daha belirgin yağlanma, insülin direnci, sistemik inflamasyon ve dislipidemi gibi metabolik durumlar sergilediği gösterilmiştir [84]. Yine aynı çalışmada, zayıf ve obez gruplar arasında bakteri zenginliğinin ayrımı için sadece birkaç bakteri türünün değerlendirilmesinin yeterli olduğu belirtilmiştir. Böylelikle bu çalışmada 46 bakteri cinsi bakılmıştır ve obez bireylerin düşük bakteriyel zenginliğe sahip olduğu görülmüştür. Düşük bakteriyel zenginliğe sahip obez bireylerde *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Ruminococcus*, *Campylobacter*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Staphylococcus* ve *Anaerostipes* daha baskınken, yüksek bakteri zenginliğine sahip zayıf bireylerde ise *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyrivibrio*, *Alistipes*, *Akkermansia*, *Coprococcus* ve *Methanobrevibacter*'in daha yaygın olduğu görülmüştür [84]. Bu veri, obez ve zayıf bireylerin mikrobik metabolik kapasitelerinin daha yakından incelenmesine izin vermiştir. Sonuç olarak, obez fenotipe ve düşük bakteri zenginliğine sahip kişilerde, bütirat, hidrojen ve metan üreten bakterilerde azalma görülürken, mukus bozulmasına neden olan ve oksidatif stress potansiyelinin artıran bakterilerde artış görülmektedir [84].

Mikrobiyota ve obezite arasındaki ilişkiyi değerlendiren birçok çalışmada, mikrobiyota profilinde en çok firmicutes ve bacteroidetes oranlarında değişiklikler gösterilmiştir. Bu konuyla ilgili yapılan bir hayvan çalışmasında, obez farelerde non-obez farelere göre firmicutes artmış, bacteroidetes ise azalmış olarak bulunmuştur [85]. Aynı zamanda, yapılan retrospektif bir çalışmanın sonucunda, *Clostridium*

difficile ile enfekte olan hastaların daha fazla vücut kitle indekslerine sahip oldukları görülmüştür [86]. Fransa’da yapılan bir insan çalışmada ise, fazla kilolu hastalar ile obez olan hastalar karşılaştırıldığında mikrobiyota türü olan *Akkermansia muciniphyla*’nın gruplar arası değişikliklere uğramadığı gösterilmiştir [87]. Fakat aynı bu çalışmada ortalama bakteri düzeyi yüksek olan hasta grubu ile ortalaması düşük olan hasta grubu karşılaştırıldığında adıgeçen bakterinin sağlıklı metabolik durum ile ilişkisi olduğu görülmüştür. Tüm bu verilerin ışığında bağırsak disbiyozisinin obeziteye neden olabileceği düşünülmektedir.

2.2.3. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD)

İntestinal mikrobiyotanın, obezite patogeneğinde rol oynadığını gösteren verilere karşın nonalkolik yağlı karaciğerde (NAFLD) intestinal mikrobiyota bileşimi iyi tanımlanamamıştır. Kanadalılar tarafından yapılan bir çalışmada, NAFLD olanlar, nonalkolik steatohepatiti (NASH) olanlar ve sağlıklı kontroller eşleştirilmiştir [88]. Bu çalışmanın sonucuna göre, NASH hastalarında sağlıklı kontrollere göre Firmicutes filumundan olan *Clostridium coccides* türünde artış bulunmuş, Bacteroidetes grubu bakteri düzeylerinde ise NASH grubunda diğer iki gruba göre düşüklük gösterilmiştir. Yine bu çalışmada, bakteri türlerinden *Clostridium Leptum* ve *Escherichia Coli* düzeyleri ile eşleştirilmiş gruplar arasında değişiklik gösterilememiştir. Yukarıda adıgeçen *C. Coccides* türü ile diyet ve VKİ arasında anlamlı ilişkili bulunamamış, ancak Bacteroidetes oranı ile bu değişkenler arasında negatif anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu da intestinal mikrobiyotanın NAFLD gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

2.2.4. PKOS

PKOS etyolojisinde bağırsak bakteri florasındaki bozulmanın kötü bir diyetle oluştuğu; bunun sonucunda da bağırsak mukozal geçirgenliğinin artışıyla LPS’nin gram negatif kolonik bakterilerden sistemik dolaşıma geçişi hipotezi öne sürülmüştür. Böylelikle, immün sistemin aktivasyonu insülin reseptör fonksiyonuna müdahale ederek, serum insülin düzeylerini yükseltir ve bu da ovaryen androjen üretimini arttırır ve normal follikül gelişimini engeller. Dolayısıyla, Bağırsak Mikrobiyota Disbiyozisi (DOGMA) teorisi PKOS’da, anovulasyon/adet düzensizliği,

hiper-androjenizm (akne, hirsutizm) ve polikistik over gelişmesini açıklayabilir [89]. Ancak bağırsak mikrobiyotası ile PKOS arasındaki ilişkiyi belirten yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Yakın zamanda, letrozol ile indüklenmiş hayvan PKOS modelinde bağırsak mikrobiyotasını değerlendiren iki çalışma yayınlanmıştır [6, 7]. Bu çalışmaların ilkinde, Bacteroidetes oranında artış, Firmicutes oranlarında ise azalma bulunmuş; ikincisinde ise PKOS'lu farelerde *Prevotella melaninogenica* artmış; *Lactobacillus Johnsonii*, *Ruminococcus torques* ve Clostridium'un sağlıklı farelere oranla azalmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PKOS'lu fareler Lactobacillus ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) ile tedavi edildiğinde; FMT grubundakilerin menstrüel döngülerinde düzelme, Lactobacillus grubundakilerin ise androjen biyosentezinde azalma gözlenmiştir. Avusturya'da yapılan ilk insan çalışmasında PKOS'lu hastalarda Firmicutes ve Bacteroidetes grubu bakterilerde anlamlı değişiklik gösterilememiş ancak Tenerecutes grubunda önemli azalma görülmüştür [90]. İkinci insan çalışması Çinliler tarafından yapılmış ve bu çalışmanın sonucunda PKOS grubunda Bacteroides, Escherichia/Shigella ve Streptococcus düzeyleri yüksek gözlemlenirken Akkermansia ve Ruminococcus düzeyleri düşük olarak saptanmıştır [91]. Ayrıca bu çalışmada testosteron ve VKİ, PKOS grubunda yüksek saptanan mikrobiyota üyeleri ile pozitif korelasyon gösterirken, düşük saptanan mikrobiyota üyeleri ile ise negatif korelasyon göstermiştir. Sonuç olarak, PKOS'lu kadınlarda bağırsak mikrobiyal disbiyozisi, hastalık fenotipleriyle ilişkili gibi görünmektedir.

3. BİREYLER VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi ve Verilerin Toplanması

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı polikliniğine başvuran 18-25 yaş arası bireyler dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilmeden önce katılımcılardan aydınlatılmış onam formu ile yazılı onam alınmıştır. Çalışma grupları Endokrinoloji polikliniğinde değerlendirilip PKOS tanısı alan normal vücut ağırlığına sahip 25 hasta ile aynı yaş grubunda ve VKİ açısından benzer özellikte, PKOS tanısı olmayan 25 sağlıklı kontrolden oluşturulmuştur. PKOS tanısında Rotterdam 2003 tanı kriterleri kullanılmıştır. Çalışmaya dışlama kriterlerini taşımayan bireyler alınmıştır. Çalışma dışı bırakılma kriterleri: son 3 ayda antibiyotik veya oral kontraseptif (OK) kullanım öyküsü, mikrobiyota düzeyini etkileyebilecek ilaçların kullanımı ve hastalıkların varlığıdır. Çalışmaya katılan tüm bireyler için düzenlenen veri toplama formuna yaş, boy, vücut ağırlığı (VA), bel ve kalça çevreleri, mFG skorlaması, testosteron, SHBG, 75 gr OGTT 0. dk ve 120. dk glukoz, 0. dk insülin, LDL, HDL, trigliserit değerleri kaydedilmiştir. Bu değerler üzerinden VKİ, FAI ve homeostatik model-insülin direnci (HOMA-IR) hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar aşağıdaki formüller kullanılarak yapılmıştır.

$$\text{VKİ: Vücut ağırlığı (kg) / boy(m)}^2$$

$$\text{FAI: [Testosteron (ng/dl) / SHBG (nmol/l)] x 0.0347 x 100}$$

$$\text{HOMA-IR: [Açlık kan şekeri (mg/dl) X Açlık insülin (µIU/ml)] / 405}$$

3.2. Laboratuvar ölçümleri

Laboratuvar ölçümü için kan örnekleri bireylerden en az 8 saatlik açlık sonrası sabah saatlerinde alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylerden menstrüel siklusun 3. ve 5. günleri arası alınan kan örneklerinde: testosteron, SHBG, OGTT 0. dk glukoz, OGTT 120. dk glukoz, OGTT 0. dk insülin, OGTT 120. dk insülin, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserit düzeyleri çalışıldı. HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit düzeyleri Beckman Coulter analiz cihazlarında enzimatik renk testi kullanılarak ölçüldü. Alınan kanlarda total testosteron immün assay yöntemi ile (ADVIA Centaur XP), SHBG ise immünezimatif yöntem ile (UNİCEL DxI 800) çalışıldı. 75 gr OGTT'de alınan açlık venöz örneği 8 saatlik gece

açılığında sonra sabah, tokluk venöz örneği ise 75 gr glukoz içiminden 2 saat sonra alındı. Alınan örneklerde glukoz enzimatik UV testi ile (Beckman Coulter), insülin ise immün assay yöntemi ile (UNİCEL DxI 800) çalışıldı.

3.3. Gaita örneklerin toplanması

Çalışmaya dahil olmayı kabul eden gönüllülerin gaita örnekleri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Dalı Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarında toplandı. Tüm gaita örneklerinden 200 mg tartılarak ependorf tüplere alındı. PKOS grubundan alınan örnekler için “PO”, kontrol grubundan alınan örnekler için “KO” kodu kullanıldı. Alınan örnek sırasına göre 01’den başlamak üzere her bir gönüllüye bir numara verildi (PO-01, PO-02, KO-01, KO-02 gibi). PKOS ve kontrol grubundan alınan tüm gaita örnekleri çalışma gününe kadar -80°C’de saklandı.

3.4. Gaita örneklerinin DNA ekstraksiyonu

Gaitada fazla miktarda DNA izolasyon inhibitörlerinin varlığından dolayı bireylerden alınan gaita örneklerinden DNA izolasyon işlemi için, özel gaitadan ekstraksiyon kiti kullanıldı (QIAamp DNA Stool Mini Kit, QIAgen, Hilden Germany). Kitin, gaita tüp protokolüne (Protocol: Using Stool Tubes for Isolation of DNA from Stool for Human DNA Analysis) göre ekstraksiyon işlemi yapıldı. Protokole göre ekstraksiyon işlemi oda sıcaklığında (15-29°C) ve santrifüj süreçleri 20.000g (16.000 rpm)’de gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi aşağıda belirtilen protokole göre gerçekleştirildi:

1. 200 mg gaita örneği 2 ml’lik ependof tüpüne alındı ve tüpler büz aküsü üzerine yerleştirildi.
2. Her bir tüp üzerine 1,4 mL Bufer ASL eklendi. Gaita örneği tampon içinde, homojenize oluncaya kadar kuvvetli ve devamlı bir şekilde vortekslendi.
3. Elde edilen karışım 70°C’ de 5 dakika inkübe edildi
4. Örnekler 15 saniye vortekslendi ve dışkı partiküllerinin çökmesi için en yüksek devirde 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
5. 1,2 µL süpernatant yeni bir 2 µL’lik mikrosantirfüj tüpüne aktarıldı.

6. Her bir tüp içine bir adet İnhibitEX tableti eklendi ve tablet eriyinceye kadar vörteklendi. İnhibitörlerin İnhibitEX matrisine yapışmasını sağlamak için örnekler 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
7. Bu aşamada inhibitörlerin çökmesini sağlamak için 3 dakika santrifüj yapıldı.
8. Bu işlemden sonra üstte kalan 200 µL süpernatant 1,5 µL'lik yeni mikrosantrifüj tüplerine alındı ve 3 dakika yüksek devirde santrifüj edildi.
9. Elde edilen tüm örneklerin üzerine 15 µL proteinaz K eklendi.
10. Sonrasında üzerine 200 µL Buffer AL eklenerek 15 saniye vörteklendi.
11. Bu tüp 70°C' de 10 dakika inkübe edildi.
12. Lizatların üzerine 200 µL %96-100' lük etanol eklendi ve vörtekleterek karıştırıldı.
13. 2 mL'lik toplama tüpü içerisine kapağı hasta kodu ile numaralandırılmış olan QIAmp spin kolon kondu. 12. adımdan elde edilen tüm lizatt QIAmp spin kolona aktarıldı ve 1 dakika santrifüj edildi. QIAmp spin kolon yeni bir 2 µL'lik toplama tüpüne alındı.
14. Spin kolonun ağzı dikkatlice açılarak 500 µL Buffer AW1 eklendi. Kapak kapatılıp 1 dakika santrifüj edildi. QIAmp spin kolon yeni bir 2 mL'lik toplama tüpüne alındı ve alttaki filtrat içeren toplama tüpü atıldı.
15. Spin kolonun ağzı dikkatlice açıldı ve üzerine 500 µL Buffer AW2 eklendi. Kapak kapatılıp 3 dakika santrifüj edildi.
16. Spin kolon yeni bir 2 mL'lik toplama tüpüne alındı ve 1 dakika santrifüj edildi.
17. Spin kolon 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı. Spin kolonun kapağı dikkatlice açılarak içine 200 µL Buffer AE direkt QIAmp membranı üzerine eklendi. Daha sonra kapağı kapatılıp 1 dakika oda ısısında inkübe edildi. Ardından DNA için 1 dakika santrifüj edildi.
18. Elde edilen örnekler gerçek zamanlı PZR testi çalışmaya kadar - 20°C' de saklandı.

Çalışmamızda kullanılan DNA izolasyon kitinde ekstraksiyona giren ve çıkan miktarlar ve PZR reaksiyonu için kullanılan miktar göz önünde bulundurularak dışkıının gramındaki kopya sayısı hesaplandı ve tüm sonuçlar log₁₀/gr dışkı olarak verildi.

3.5. qPZR metodu

Kantitasyon için amplikasyon reaksiyonu Roter Gene 6000 cihazında (Qiagen, Almanya) her bakteri kantitasyonu için 16S rRNA bölgesine spesifik primerler, ilgili standart bakteriyel DNA ve Sybr Green içeren hazır ticari kit (Microbial qPCR Assay Kits, Qiagen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir örnek için toplam hacmi 25 µL olan amplikasyon karışımı hazırlandı.

- 12,5 µL qPZR Mastermix
- 1 µL özgül primer karışımı (qPCR Assay, Qiagen)
- 6,5 µL ddH₂O
- 5 µL DNA

Gerçek zamanlı PZR için amplikasyon koşulları Tablo 3.1’de yer almaktadır.

Tablo 3.1. Gerçek zamanlı PZR amplikasyon koşulları

Basamak	Döngü sayısı	Süre	Sıcaklık*
İlk denatürasyon	1	10 dk	95°C
Denatürasyon	40	15 sn	95°C
Bağlanma ve uzama	40	2 dk	60°C

*Bağlanma sıcaklığı her bir etken için 60°C’dir.

Her bakteri için kit içerisinde sağlanan ve 20000 kopya ilgili bakteri DNA’sı içeren ilk standarttan nükleaz içermeyen su ile 1/10, 1/100, 1/1000 dilüsyonlar hazırlanarak Real-Time PZR cihazında her bakteriye özgül primer dizileri kullanılarak çalışıldı. Her bakteri için 3 farklı standart kullanılarak standart eğriler oluşturuldu ve bilinmeyen örnekteki kopya sayısı standart eğrilere göre hesaplandı.

3.6. İstatistiksel analiz

Veriler Microsoft Excel’e girilerek log bakteriyel miktarı hesaplandı. Verilerin değerlendirilmesi GraphPad Prism 6.0 ve SPSS 22.1 paket programı kullanılarak yapıldı. Ortalama ve yüzde değerler hesaplanarak gerekli kıyaslamalar yapıldı. Ortalamaların karşılaştırılmasında bağımsız gruplar t-testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak ifade edildi. Bakterilerin dışındaki kantitatif

değerleri ile biyokimyasal ve klinik ölçümler arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi kullanılarak yapıldı.

3.7. Etik kurul onayı

Bu çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 24/05/2016 tarihinde GO 16/319 proje numarası ile onay alınmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Klinik Göstergeler

Çalışmaya 25 PKOS ve 25 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 50 kadın dahil edildi. PKOS grubunun yaş ortalaması 20 ± 2.1 (18-25), kontrol grubunun yaş ortalaması 23 ± 1.7 (18-25) idi ($p<0.05$). Bireylerin VKİ değerlerinin ortalamasına bakıldığında PKOS grubunda 22.1 ± 5.5 kg/m² kontrol grubunda 21.2 ± 5.1 kg/m² olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p\geq 0.05$). Grupların birbiriyle karşılaştırılmasında PKOS grubunda mFG skoru 9.9 ± 4.5 kontrol grubunda mFG skoru 1 ± 1 olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin hiçbiri son 3 ayda OK kullanmamaktaydı. Yirmibeş hastanın %72'sinde geçmişte OK kullanım öyküsü yok iken %28'sinde 3 aydan daha önce OK kullanım öyküsü mevcuttu. Kontrol grubunda hirsütizm, PKO, oligomenore ve akne bulguları görülmemiş iken, hasta grubunun %72'sinde klinik hiperandrojenizm bulgusu ve tamamında biyokimyasal hiperandrojenizm, oligomenore ve PKO bulguları gözlenmekteydi.

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunun klinik parametreleri

Değişkenler	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	P değeri
Yaş (yıl)	20 ± 2.1	23 ± 1.7	0.01
VKİ (kg/m ²)	22.1 ± 5.5	21.2 ± 5.1	0.56
Bel Çevresi (cm)	73.8 ± 6.8	72.2 ± 5.8	0.37
mFG skoru	9.9 ± 4.5	1 ± 1	0.001

VKİ: Vücut kitle indeksi, **mFG:** Modifiye Ferriman-Gallwey

4.2. Hormonal ve Biyokimyasal Göstergeler

Çalışmaya dahil edilen hastaların hormonal ve biyokimyasal değerleri Tablo 4.2'de gösterilmiştir. İki grup arasında testosteron, SHBG, FAI ve OGTT 120. dk insülin değerlerinde anlamlı farklılıklar görülmüştür (Tablo 4.2.). Buna karşılık OGTT 0. ve 120. dk. glukoz, 0. dk insülin ve lipid ölçümleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir.

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol grubunun hormonal ve biyokimyasal parametreleri

	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	P değeri
Testosteron (ng/dl)	70.5±19.3	36.9±8.3	0.001
SHBG (nmol/l)	43.9±23.5	61.6±24	0.001
FAI	7.9±6.2	2.6±2	0.001
OGTT 0. dk glukoz (mg/dl)	84.8±7	84.4±7.6	0.87
OGTT 120. dk glukoz (mg/dl)	87.7±21.4	81.5±15	0.25
OGTT 0. dk insülin (µIU/ml)	9.5±8	7±3.2	0.15
OGTT 120. dk insülin (µIU/ml)	43.4±39.5	20.5±11.4	0.001
HOMA-IR	2±1.6	1.5±1	0.12
LDL (mg/dl)	108±22	103±23	0.39
HDL (mg/dl)	55±12	59±12	0.23
Trigliserit (mg/dl)	79±22	71±22	0.20

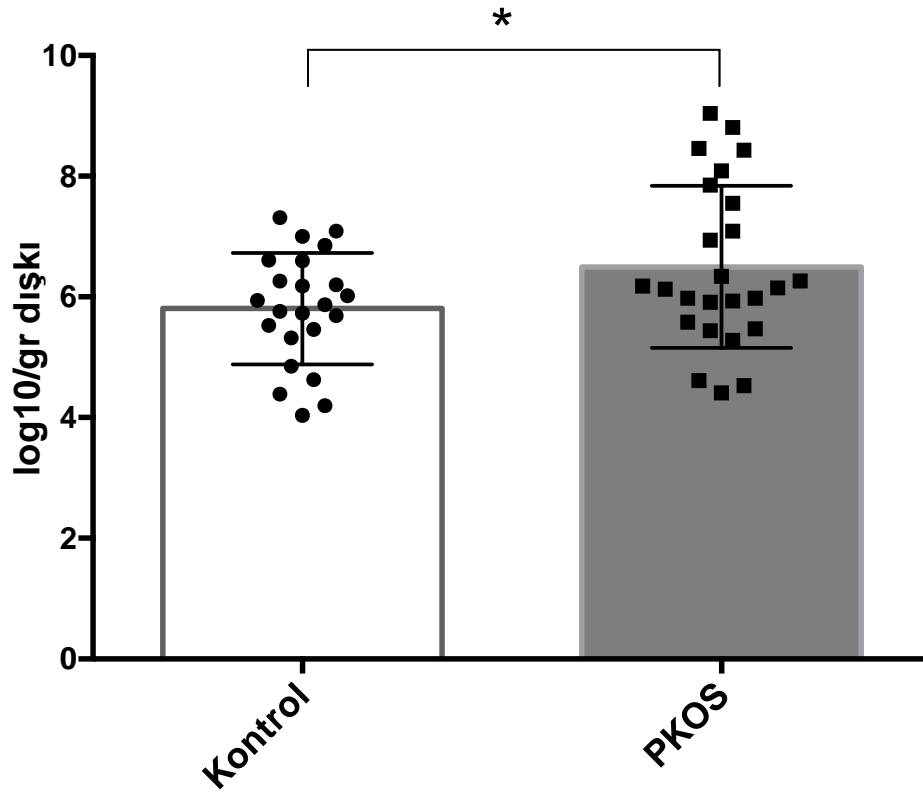
SHBG:Seks hormon bağlayıcı globulin, **FAI:**Serbest androjen indeksi, **OGTT:**Oral glukoz tolerans testi, **HOMA-IR:**Homeostatik model-insülin direnci, **LDL:**Düşük dansiteli lipoprotein, **HDL:**Yüksek dansiteli lipoprotein

4.3. Bakteriyel kantitatif PZR sonuçları

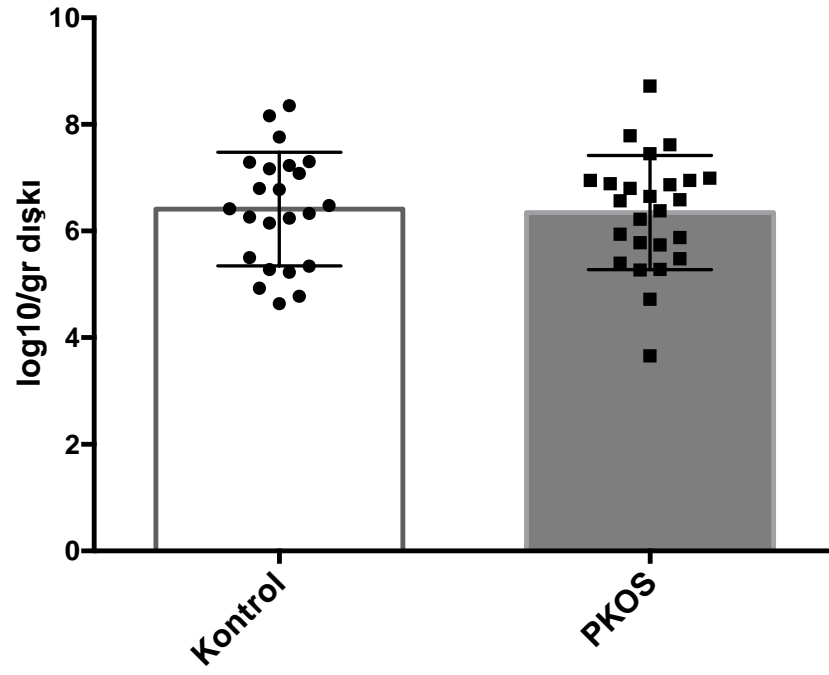
Hasta ve kontrol grubu dışkı örneklerinde bakteri miktarları PZR cihazından kopya sayısı/µL olarak alınmaktadır. Toplam 200 mg dışkı örneğinden ekstraksiyon yapıldığı ve kullanılan ekstraksiyon kitindeki ekstraksiyona giren toplam miktar, dilüsyonlar ve PZR için kullanılan miktar göz önüne alınarak sonuçlar 2500 ile

çarpılıp dışkıının gramındaki kopya sayısı bulunmuş (normalizasyon), daha sonra bu sonuçlar “log 10/gr dışkı” şeklinde ifade edilmiştir.

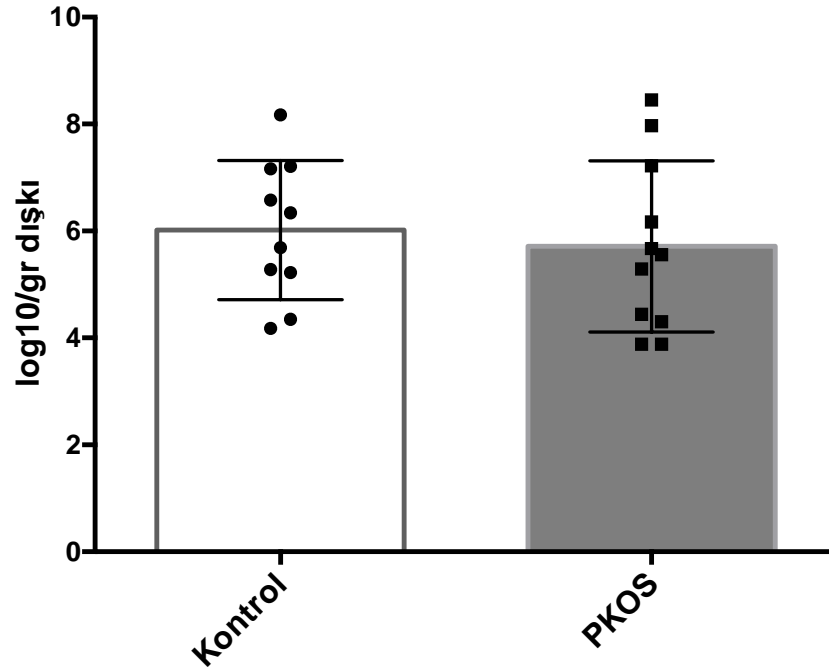
PKOS grubunda *P. melaninogenica*'nın kontrol grubuna göre anlamlı oranda fazla olduğu ($p=0.04$) belirlenmiştir (Şekil 4.3.1). *R. torques* ve *C. difficile* grubu bakterileri içinse gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (sırasıyla $p=0.82$; $p=0.63$) (Şekil 4.3.2, Şekil 4.3.3).



Şekil 4.3.1. PKOS ve kontrol grubunda *P. melaninogenica*'nın log₁₀ kopya sayısı/gr dışkı dağılımı



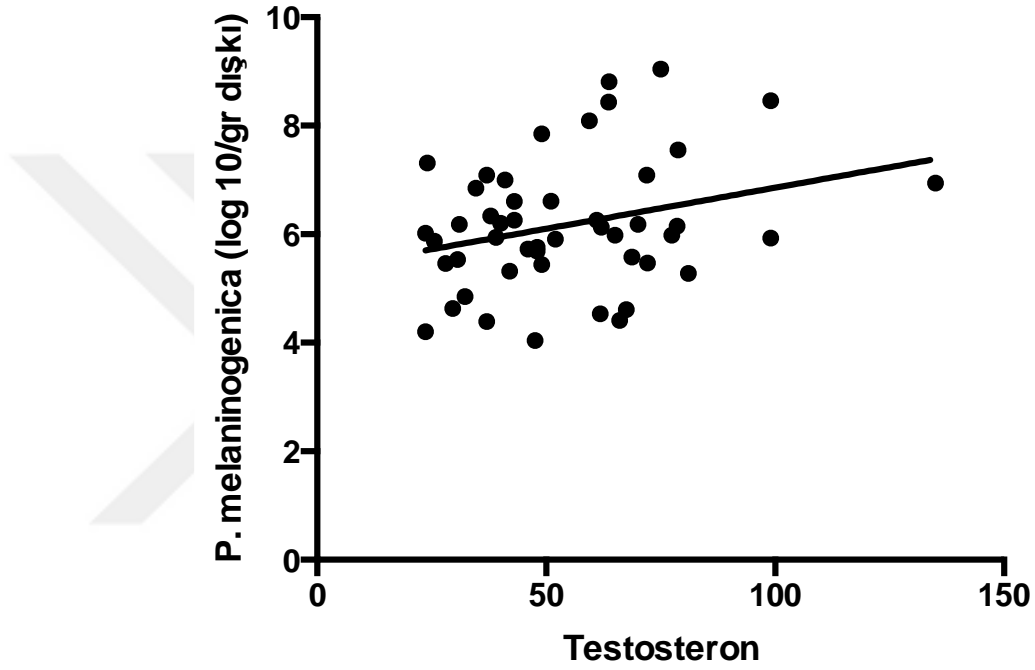
Şekil 4.3.2. PKOS ve kontrol grubunda *R. torques*'in log₁₀ kopya sayısı/gr dışkı dağılımı



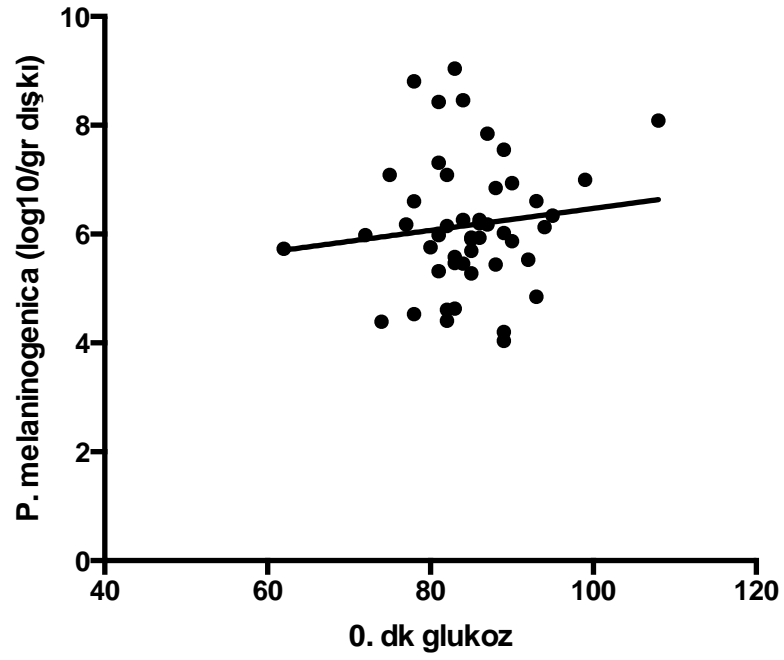
Şekil 4.3.3. PKOS ve kontrol grubunda *C. difficile*'in log₁₀ kopya sayısı/gr dışkı dağılımı

4.4. İlişki analiz sonuçları

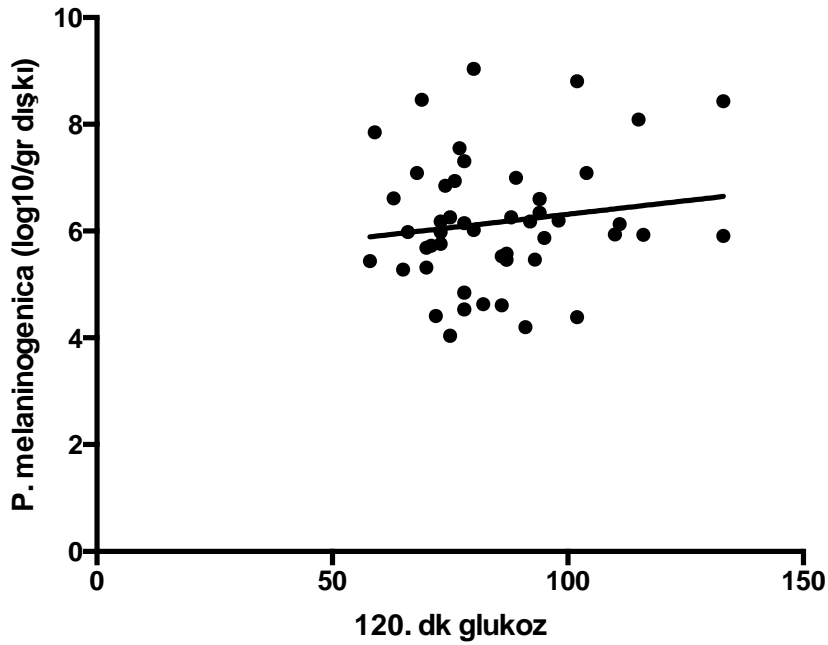
P. melaninogenica ve testosteron seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif korelasyon bulunmuştur (Pearson $r=0.28$; $p=0.04$) (Şekil 4.4.1). *P. melaninogenica* ile 0. dk glukoz, 120. dk glukoz, 0. ve 120.dk insülin, HOMA-IR, mFG, FAI ve SHBG değerleri arasında ise istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı (Şekil 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4, 4.4.5, 4.4.6, 4.4.7, 4.4.8, 4.4.9).



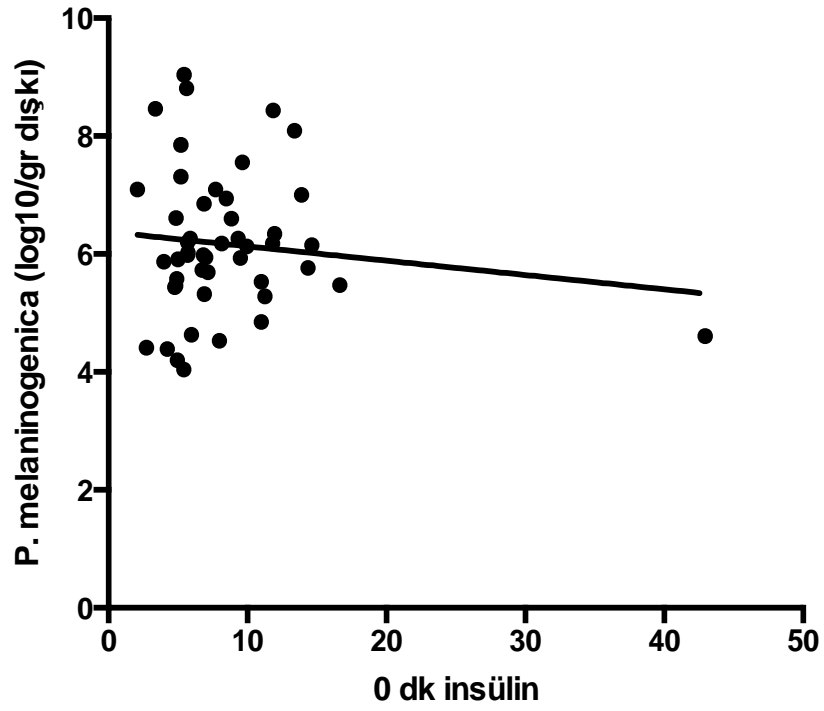
Şekil 4.4.1. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve testosteron seviyeleri arasındaki pozitif korelasyon (Pearson $r=0.28$; $p=0.04$).



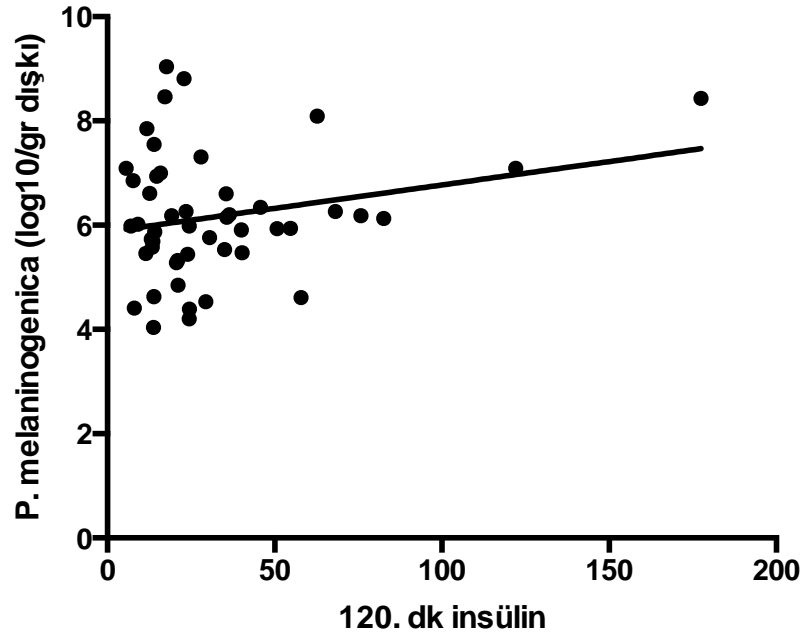
Şekil 4.4.2. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve 0. dk glukoz seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=0.12$; $p=0.40$).



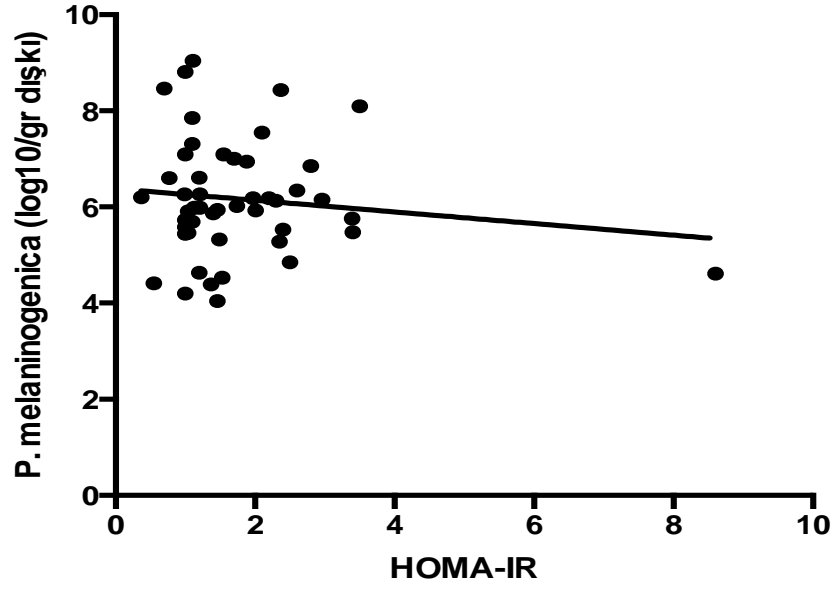
Şekil 4.4.3. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve 120. dk glukoz seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=0.14$; $p=0.31$).



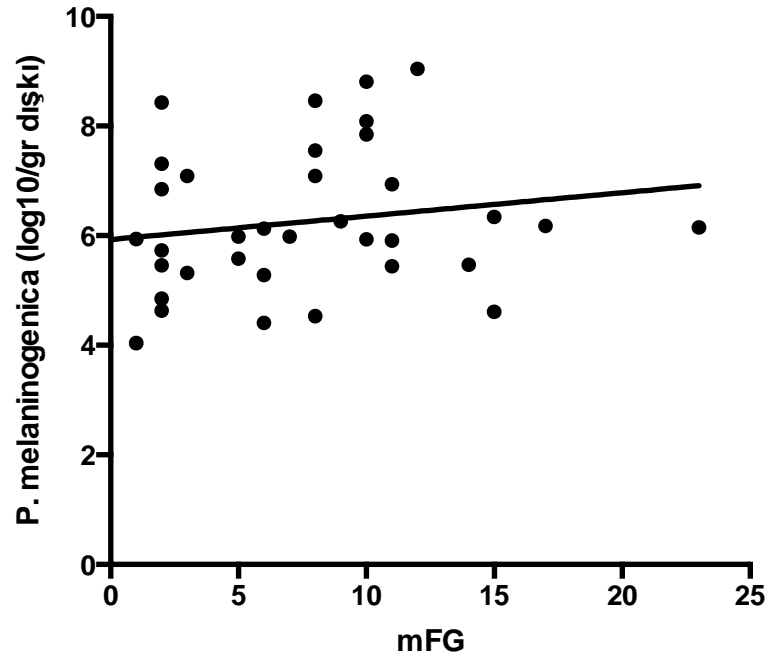
Şekil 4.4.4 Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve 0. dk insülin seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=-0.12$; $p=0.4$).



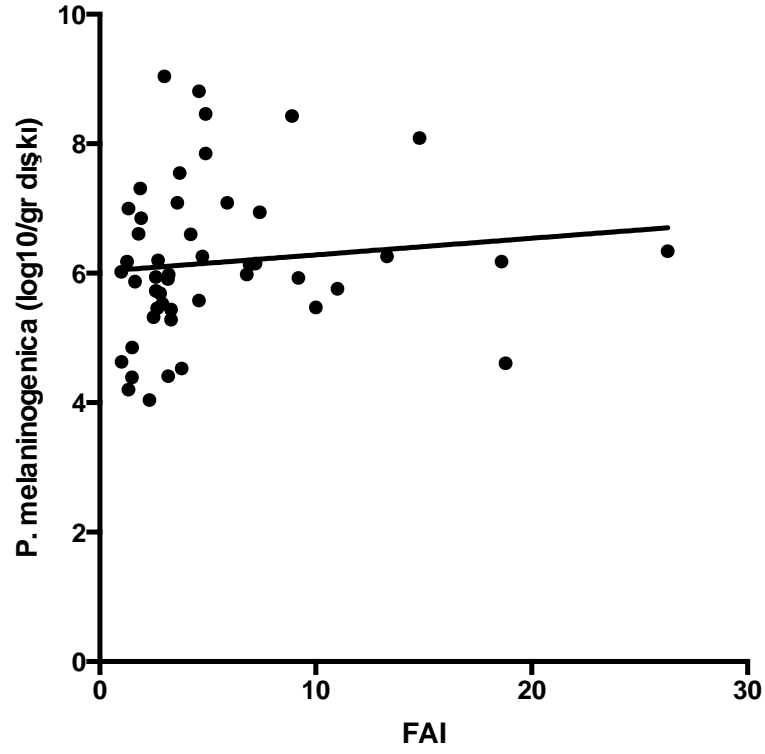
Şekil 4.4.5. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve 120. dk insülin seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=0.23$; $p=0.1$).



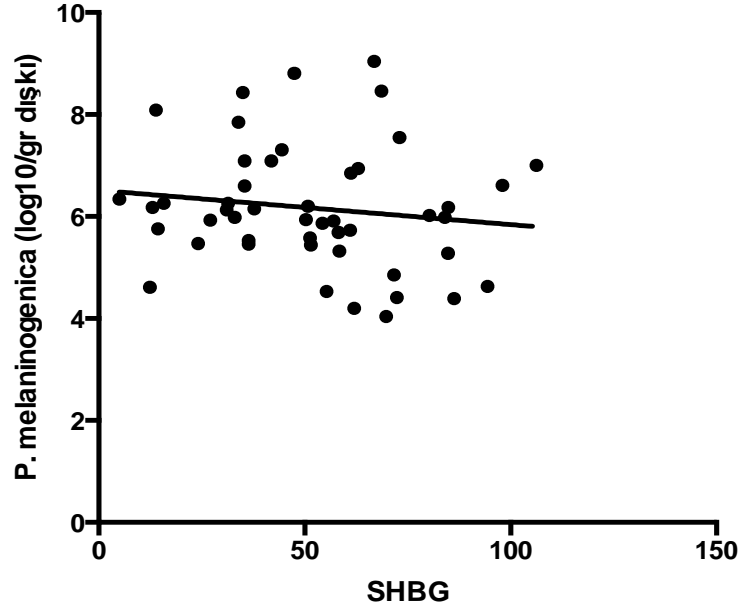
Şekil 4.4.6. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve HOMA-IR seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=-0.12$; $p=0.38$).



Şekil 4.4.7. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve mFG seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=0.19$; $p=0.17$).



Şekil 4.4.8. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve FAI seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=0.11$; $p=0.44$).



Şekil 4.4.9. Dışkıda *P. melaninogenica* miktarı ve SHBG seviyeleri arasındaki korelasyon (Pearson $r=-0.13$; $p=0.34$).

5. TARTIŞMA

PKOS gelişim mekanizmasını kompleks olmakla birlikte günümüzde bağırsak disbiyozisinin de patogeneizde rol oynayabileceğini düşündüren sınırlı veri bulunmaktadır [89]. Disbiyozis sonucu mikrobiyota profili değişikliklere uğramaktadır, yapılan çalışmalarda da bu değişiklikler bacteroidetes ve firmicutes filumunda gösterilmiştir. Bizim yaptığımız pilot çalışmada, PKOS'lu hastalarda ve sağlıklı kontrollerde karşılaştırmalı olarak bacteroidetes ve firmicutes filumu, bağırsak mikrobiyota üyelerinden olan *Prevotella melaninogenica*, *Ruminococcus torques* ve *Clostridium difficile* oranlarındaki değişiklik olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmaya alınan hastaların tamamı PKOS tanı kriterlerinin üçünü de karşılıyordu (fenotip A) ve normal vücut ağırlığına sahipti. Hastalar ile VKİ açısından eşleştirilmiş kontrollerde gaitada kantitasyon gerçek zamanlı PZR ile *Prevotella melaninogenica*, *Ruminococcus torques* ve *Clostridium difficile* düzeyleri ölçüldü. Bacteroidetes filumundan olan *Prevotella melaninogenica*'nın PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı oranda fazla olduğu ($p=0.04$) bulundu. *Ruminococcus torques* ve *Clostridium difficile* grubu bakterileri için bakıldığında ise gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü (sırasıyla $p=0.82$; $p=0.63$). Ayrıca *Prevotella melaninogenica* ile testosteron seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif korelasyon mevcuttu (Pearson $r=0.28$; $p=0.04$). *Prevotella melaninogenica* çalışmada bakılan glukoz ve insülin parametreleri ile, mFG skoru, FAI ve SHBG ile ise istatistiksel anlamlı bir ilişki göstermedi.

Bu çalışmaya başlamadan önce yapılan literatür taramasında PKOS ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiyi gösteren toplam 4 çalışma yayınlandığı görüldü. Bunların ikisi hayvan modelleri üzerinde [6, 7], ikisi ise insanlarda [90, 91] yapılan çalışmalardı.

İlk çalışmada, bağırsak mikrobiyotasının patogeneiz ve tedavideki rolü letrozol (nonsteroidal aromataz inhibitörü) ile indüklenen PKOS'lu fare modellerinde gösterilmiştir [7]. Burada östrojen döngüleri, hormonal düzeyler, yumurtalık morfolojisi ve gerçek zamanlı PZR ile bağırsak mikrobiyota değişikliği tespit edilmiştir. Bu çalışmada anormal östrojen döngüleri PKOS'lu farelerde artmış, bu da

androjen biyosentezi ve inceltiilmiş granüloza tabakalı yumurtalık dokularında çok sayıda büyük kist sergilemesi ile gösterilmiştir. Sonuç olarak, letrozol ile tedavi edilen farelerde bağırsak mikrobiyotunun bileşimi kontrollere göre farklı bulunmuştur. PKOS'lu farelerde *Prevotella* artmış; *Lactobacillus*, *Ruminococcus* ve *Clostridium*'un sağlıklı farelere oranla azalmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PKOS'lu fareler *Lactobacillus* ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) ile tedavi edildiğinde; FMT grubundakilerin menstrual döngülerinde düzelmeye, *Lactobacillus* grubundakilerin ise androjen biyosentezinde azalma gözlenmiştir. Bizim çalışmamızın sonucunda da bu çalışmayı destekler şekilde *Prevotella melaninogenica*'nın PKOS'lularda yüksek bulunması PKOS ile bu bakteri türü arasında anlamlı olarak ilişki olabileceğine işaret etmektedir.

Letrozol ile indüklenmiş ikinci PKOS hayvan modeli çalışmasında, PKOS'lu farelerde, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* oranlarında önemli değişiklikler gösterilmiştir [6]. Aynı zamanda bunun da diyetten bağımsız olarak geliştiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda PKOS ile *bacteroidetes* filumundan olan *Prevotella melaninogenica* arasında artış gösterilmiş olmakla birlikte diyet sorgulaması yapılmadığı için adı geçen bakterilerle ilişkisi gösterilememektedir. Yine de yukarıdaki çalışma sonuçları değerlendirildiğinde PKOS'da gözlemlenen hiperandrojeneminin diyetten bağımsız olarak bağırsak mikrobiyomunu önemli ölçüde değiştirebileceği düşünülebilir.

Polikistik over sendromu, hiperandrojenizm, obezite ve metabolik sendrom gibi çeşitli komplikasyonlara yol açar. Çinliler tarafından yakın zamanda yapılan ve PKOS ve mikrobiyota arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışmada, obez PKOS'lu kadınların normal kilolu PKOS'lu ve tek başına obezitesi olan kadınlara göre daha belirgin metabolik bozukluklar gösterdiği görülmüştür [91]. Mevcut çalışmanın sonucuna göre bağırsak mikrobiyom değişiklikleri metabolik belirtilerin varyasyonlarına benzer eğilimler göstermektedir. Bu da obezite ve PKOS'un benzer bağırsak disbiyozisini paylaştığı, fakat obez PKOS'luların daha ciddi disbiyozise sahip olduğunu düşündürmektedir. Bakteri cinslerine bakıldığında obez PKOS'lularda *Bacteroides* ve *Escherichia/Shigella*'nın belirgin olarak arttığı gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda bireylerin tümü normal vücut ağırlığına sahipti. Tek başına yüksek saptanan *Prevotella melaninogenica* çalışmada bakılan glukoz ve insülin parametreleri ile bir ilişki göstermiyordu.

PKOS'da bağırsak mikrobiyal değişikliğini gösteren diğer bir insan çalışması Avusturya'dan yayınlanmıştır [90]. Bu insan çalışmasına göre non-obeze PKOS'lu hastalarda bacteroidetes ve firmicutes filumuna ait bakterilerin önemli değişikliklere uğramadığı gösterilmiştir. Aynı zamanda mevcut çalışma sonucu PKOS'lu kadınların Tenerecutes filumundan sınıflandırılmamış cins bakteri düzeyinde azalma olduğunu göstermiştir. Yukarıdaki çalışmanın PKOS fenotip dağılımlarına bakıldığında hastaların % 42'sinin fenotip D (OA + PKO), % 29'unun fenotip C (HA + PKO), %21'inin fenotip B (OA + HA) ve % 8'inin ise fenotip A (OA + HA + PKO) olduğu görülmektedir. Bu çalışmadaki PKOS'lu hastalarda bacteroidetes ve firmicutes filum bakteri değişikliklerinin görülmemesinin hastaların çoğunluğunun zayıf fenotipe sahip olmalarından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bizim çalışmamız ise tamamı fenotipi A olan hastaları içermesi nedeniyle hiperandrojenizm ile ilişkili bir şekilde *Prevotella Melaninogenica* artışı göstermiş olabilir.

Danimarka'da yapılan bir çalışmada, non-diyabetik insülin dirençli hastalarda bağırsak mikrobiyomu ile insülin direnci arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [92]. Bu çalışmanın sonucunda *Prevotella* insülin direnci ile serum metabolitler arasındaki ilişkiyi yönlendiren ana tür olarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak *Prevotella*'nın insülin direncini indükleyebildiği ve glukoz intoleransını arttırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, belki de bağırsak disbiyozisi sonucu artan *Prevotella*'nın insülin direncini indükleyerek PKOS'da hiperandrojenizme neden olabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda *prevotella* ile açlık veya OGTT esnasındaki glukoz ve insülin düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmamakla birlikte bu durum çalışmaya dahil edilmiş genç ve non-obeze hasta grubunun insülin direnci yönünden sağlıklı kontrol grubu ile belirgin farklılık göstermemesine ya da çalışmada kullanılan insülin direnci ölçüm metotlarının yeterince hassas olmamasına bağlı olabilir.

Son yıllardaki araştırmalar, *Prevotella intermedia*'nin ağız boşluğunda kolonize olma ihtimalinin erkeklerde kadınlara oranla daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur [93], bu da seks hormonları ile *Prevotella*'nın arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Başka bir çalışmada ise *Prevotella intermedia*'ya karşı oluşan serum antikor düzeyleri PKOS'lu kadınlarda sağlıklı kadınlara göre daha yüksek olarak bulunmuştur [94]. Böylelikle testosteron metabolitlerinin *Prevotella*

büyümesine ve virülansına katkıda bulunduğu hipotezi ileri sürülmüştür [95]. *Prevotella intermedia*, insan gingival fibroblastlarında 5 α -redüktaz aktivitesini uyararak dihidrotestosterondan testosteron ve androstenedion sentezini sağlayabilir [96, 97]. Yapılan bir hayvan çalışmasında letrozol ile indüklenmiş PKOS'lu fare grubunda testosteron ve androstenedion düzeyleri arttıkça *Prevotella* kopya sayısının arttığı görülmüştür [7]. Ayrıca FMT ve *Lactobacillus* nakli ile tedavi edildiğinde *Prevotella*'nın azalmasıyla testosteron ve androstenedion düzeylerinin de azaldığını gösterilmiştir. Adı geçen çalışma yukarıdaki hipotezi destekleyen ilk çalışmadır. Bizim çalışmamızda *Prevotella* ile testosteron arasındaki pozitif ilişki bu hipotezi destekleyen erken insan verisi olarak değerlendirilebilir. Ancak bu yönde daha detaylı ve geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda diş eti iltihabının artmış seks hormon düzeylerinden etkilenebileceği gösterilmiştir [94, 98]. Türkiye'de yapılmış bir çalışmada, PKOS ile periodontal hastalık birlikteliğinde *Prevotella intermedia*'nın artmış olduğu gösterilmiştir [94]. Lindheim ve arkadaşlarının yaptığı diğer çalışma sonucunda ise PKOS'un bizzat periodontal hastalığa neden olmadığını, ancak patojenler için uygun ortam sağladığı ve bununla birlikte diğer risk faktörlerin varlığında periodontite neden olabileceği öne sürülmüştür [98]. PKOS hastalarında periodontal hastalık prevalansının genel popülasyondan daha yüksek olması bu hipotezi desteklemektedir [99]. Ancak Türkiye ve Avusturya'dan yapılmış bu iki çalışmanın sonucu farklılık göstermektedir. Bildiğimiz gibi Lindheim ve arkadaşlar tarafından PKOS ile bağırsak mikrobiyomu ilişkisini değerlendiren çalışma sonucunda *Prevotella* ile PKOS arasında ilişki bulunmamıştır. Çalışmaların sonuç farklılığı etnik gruplar arası mikrobiyotanın değişikliğe göstermesine bağlı olabilir. Aynı zamanda, bu veri farklılıklarının PKOS ile mikrobiyota arasındaki ilişkiyi gösteren çalışma sayısının henüz çok az olmasından da kaynaklanabileceği unutulmamalıdır.

6. SONUÇLAR

Çalışmamız Türkiye’de PKOS ile bağırsak mikrobiyota türleri arasında ilişkiyi gösteren ilk klinik çalışmadır.

1. Çalışma sonuçlarına göre, obez olmayan A fenotipi PKOS’lu kadınlarda bağırsakta *Prevotella melaninogenica* sağlıklı kadınlara göre daha yüksektir. Bu sonuç fenotipi A olan PKOS’lularda bacteroidetes filumundaki bakterilerde artış gösterebileceğini düşündürmektedir.
2. *Prevotella melaninogenica* artışı testosteron seviyeleri ile pozitif korelasyon göstermektedir. Bu bulgu PKOS’da biyokimyasal hiperandrojenemi ile *Prevotella* artışının birbiri ile ilişkili olduğunu göstermektedir.
3. PKOS’da *Prevotella* artışı hiperandrojenemi ile ilişki göstermesine karşın çalışmada bakılan insülin direnci parametreleri ile ilişki göstermemektedir.
4. Çalışmamızda disbiyoziste rol oynayabilecek üç bakteri türü değerlendirilmiştir. Türkiye’deki PKOS hastalarında ileride yapılacak çalışmalarda tüm mikrobiyom bakterilerinin değerlendirilmesi önem arz etmektedir.
5. PKOS’da barsak mikrobiyotasının potansiyel rolünün tam olarak anlaşılabilmesi için farklı fenotiplere sahip obez olan ve olmayan hasta gruplarının sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığı daha geniş çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. İnsan çalışmalarının hayvanlardaki erken verileri desteklemesi durumunda bağırsak disbiyozisine yönelik yaklaşımlar ileride PKOS yönetiminde yeni seçenekler olarak karşımıza çıkabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Yildiz, B.O., et al., *Prevalence, phenotype and cardiometabolic risk of polycystic ovary syndrome under different diagnostic criteria*. Human reproduction, 2012. **27**(10): p. 3067-3073.
2. Khan, K.A., S. Stas, and L.R. Kurukulasuriya, *Polycystic ovarian syndrome*. Journal of the cardiometabolic syndrome, 2006. **1**(2): p. 125-132.
3. Whitman, W.B., D.C. Coleman, and W.J. Wiebe, *Prokaryotes: the unseen majority*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998. **95**(12): p. 6578-6583.
4. Duncan, S.H., et al., *Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss*. International journal of obesity, 2008. **32**(11): p. 1720-1724.
5. Koren, O., et al., *Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011. **108**(Supplement 1): p. 4592-4598.
6. Kelley, S.T., et al., *The gut microbiome is altered in a letrozole-induced mouse model of polycystic ovary syndrome*. PloS one, 2016. **11**(1): p. e0146509.
7. Guo, Y., et al., *Association between Polycystic Ovary Syndrome and Gut Microbiota*. PloS one, 2016. **11**(4): p. e0153196.
8. Ehrmann, D.A., *Polycystic ovary syndrome*. New England Journal of Medicine, 2005. **352**(12): p. 1223-1236.
9. Asunción, M., et al., *A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected caucasian women from spain I*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2000. **85**(7): p. 2434-2438.
10. ESHRE, T.R. and A.-S.P.C.W. Group, *Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome*. Fertility and sterility, 2004. **81**(1): p. 19-25.
11. Azziz, R., et al., *Criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an androgen excess society guideline*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2006. **91**(11): p. 4237-4245.
12. Guastella, E., R.A. Longo, and E. Carmina, *Clinical and endocrine characteristics of the main polycystic ovary syndrome phenotypes*. Fertility and sterility, 2010. **94**(6): p. 2197-2201.
13. Rosenfield, R.L., *Hirsutism*. New England Journal of Medicine, 2005. **353**(24): p. 2578-2588.
14. Hill, K.M., *Update: The pathogenesis and treatment of PCOS*. The Nurse Practitioner, 2003. **28**(7): p. 8-17.
15. Ferriman, D. and A.W. Purdie, *The aetiology of oligomenorrhoea and/or hirsuties: a study of 467 patients*. Postgraduate medical journal, 1983. **59**(687): p. 17-20.
16. Barth, J.H. and S. Clark, *Acne and hirsuties in teenagers*. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 2003. **17**(1): p. 131-148.
17. Ludwig, E., *Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) occurring in the female sex*. British Journal of Dermatology, 1977. **97**(3): p. 247-254.

18. Barth, J.H., E. Yasmin, and A.H. Balen, *The diagnosis of polycystic ovary syndrome: the criteria are insufficiently robust for clinical research*. *Clinical endocrinology*, 2007. **67**(6): p. 811-815.
19. Welt, C., et al., *Defining constant versus variable phenotypic features of women with polycystic ovary syndrome using different ethnic groups and populations*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2006. **91**(11): p. 4361-4368.
20. Escobar-Morreale, H.F., et al., *Receiver operating characteristic analysis of the performance of basal serum hormone profiles for the diagnosis of polycystic ovary syndrome in epidemiological studies*. *European Journal of Endocrinology*, 2001. **145**(5): p. 619-624.
21. Rosner, W., *Letter to the editor: An extraordinarily inaccurate assay for free testosterone is still with us*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2001. **86**(6): p. 2903-2903.
22. Azziz, R., et al., *Idiopathic hirsutism: an uncommon cause of hirsutism in Alabama*. *Fertility and sterility*, 1998. **70**(2): p. 274-278.
23. Medicine, P.C.o.t.A.S.f.R., *Optimal evaluation of the infertile female*. *Fertility and sterility*, 2006. **86**(5): p. S264-S267.
24. Balen, A.H., et al., *Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions*. *Human reproduction update*, 2003. **9**(6): p. 505-514.
25. Farquhar, C.M., et al., *The prevalence of polycystic ovaries on ultrasound scanning in a population of randomly selected women*. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1994. **34**(1): p. 67-72.
26. Bozdag, G., et al., *The prevalence and phenotypic features of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis*. *Human Reproduction*, 2016.
27. Solorzano, C.M.B., et al., *Neuroendocrine dysfunction in polycystic ovary syndrome*. *Steroids*, 2012. **77**(4): p. 332-337.
28. Rebar, R., et al., *Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome*. *Journal of Clinical Investigation*, 1976. **57**(5): p. 1320.
29. CHANG, R.J., et al., *Enhanced Disparity of Gonadotropin Secretion by Estrone in Women with Polycystic Ovarian Disease*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1982. **54**(3): p. 490-494.
30. Lobo, R.A., et al., *ELEVATIONS IN UNBOUND SERUM ESTRADIOL AS A POSSIBLE MECHANISM FOR INAPPROPRIATE GONADOTROPIN SECRETION IN WOMEN WITH PCO I*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1981. **52**(1): p. 156-158.
31. Yen, S., *Review article: the polycystic ovary syndrome*. *Clinical endocrinology*, 1980. **12**(2): p. 177-208.
32. WIERMAN, M.E., J.E. RIVIER, and C. WANG, *Gonadotropin-releasing hormone-dependent regulation of gonadotropin subunit messenger ribonucleic acid levels in the rat*. *Endocrinology*, 1989. **124**(1): p. 272-278.
33. Nelson-Degrave, V.L., et al., *Alterations in mitogen-activated protein kinase kinase and extracellular regulated kinase signaling in theca cells contribute to excessive androgen production in polycystic ovary syndrome*. *Molecular Endocrinology*, 2005. **19**(2): p. 379-390.

34. Waldstreicher, J., et al., *Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with polycystic ovarian disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1988. **66**(1): p. 165-172.
35. Franks, S., *Diagnosis of polycystic ovarian syndrome: in defense of the Rotterdam criteria*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2006. **91**(3): p. 786-789.
36. Poretsky, L., et al., *The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease*. Endocrine reviews, 1999. **20**(4): p. 535-582.
37. Morán, C., et al., *Adrenal androgen excess in hyperandrogenism: relation to age and body mass*. Fertility and sterility, 1999. **71**(4): p. 671-674.
38. Yildiz, B.O., et al., *Stability of adrenocortical steroidogenesis over time in healthy women and women with polycystic ovary syndrome*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2004. **89**(11): p. 5558-5562.
39. Tsilchorozidou, T., J.W. Honour, and G.S. Conway, *Altered cortisol metabolism in polycystic ovary syndrome: insulin enhances 5 α -reduction but not the elevated adrenal steroid production rates*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2003. **88**(12): p. 5907-5913.
40. Uilenbroek, J.T.J., P. Woutersen, and P. Van der Schoot, *Atresia of preovulatory follicles: gonadotropin binding and steroidogenic activity*. Biology of Reproduction, 1980. **23**(1): p. 219-229.
41. BURGHEM, G.A., J.R. GIVENS, and A.E. KITABCHI, *Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1980. **50**(1): p. 113-116.
42. Dunaif, A., *Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis 1*. Endocrine reviews, 1997. **18**(6): p. 774-800.
43. Ben-Shlomo, I., R. Homburg, and E. Shalev, *Hyperandrogenic anovulation (the polycystic ovary syndrome)-back to the ovary?* Human reproduction update, 1998. **4**(3): p. 296-300.
44. Fendri, S., et al., *Relationship between insulin sensitivity and circulating sex hormone-binding globulin levels in hyperandrogenic obese women*. International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity, 1994. **18**(11): p. 755-759.
45. Voutilainen, R., et al., *Expression of insulin-like growth factor (IGF), IGF-binding protein, and IGF receptor messenger ribonucleic acids in normal and polycystic ovaries*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1996. **81**(3): p. 1003-1008.
46. Ferrannini, E., et al., *Insulin action and age: European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)*. Diabetes, 1996. **45**(7): p. 947-953.
47. Zhang, B., et al., *Negative regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor-alpha*. Molecular Endocrinology, 1996. **10**(11): p. 1457-1466.
48. Zacur, H.A., *Polycystic ovary syndrome hyperandrogenism, and insulin resistance*. Obstetrics and gynecology clinics of North America, 2001. **28**(1): p. 21-33.

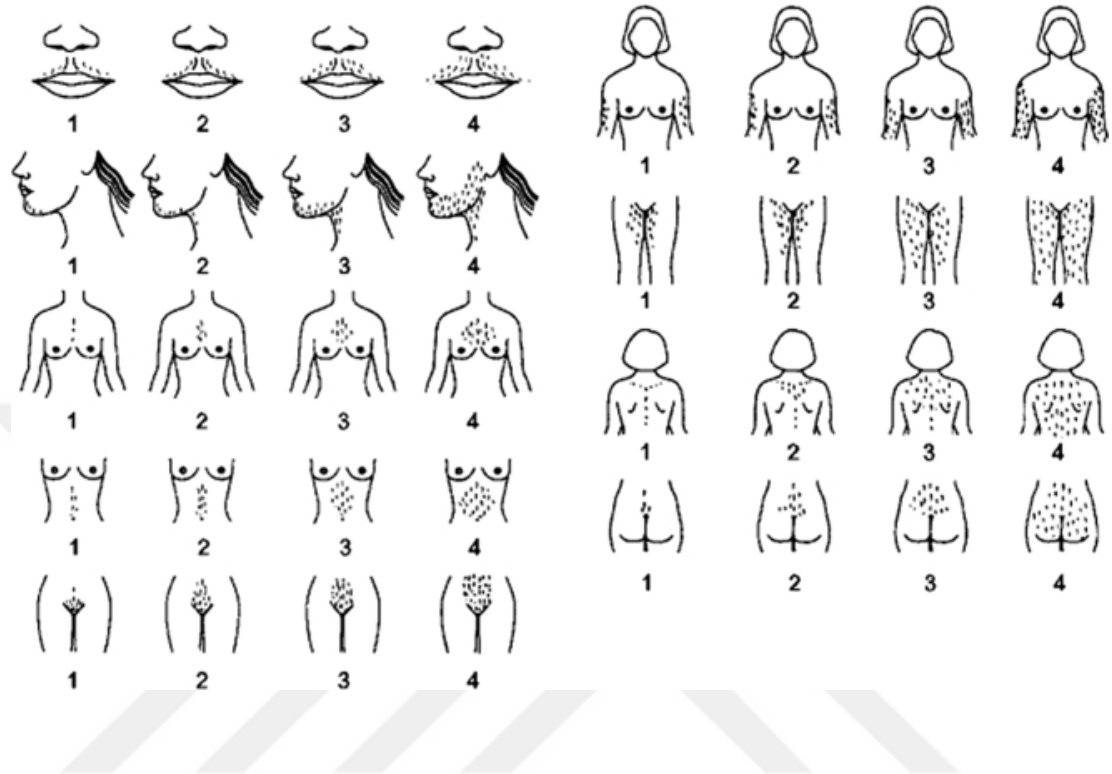
49. Vink, J., et al., *Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2006. **91**(6): p. 2100-2104.
50. Rosenfield, R.L., *Identifying children at risk for polycystic ovary syndrome*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2007. **92**(3): p. 787-796.
51. Legro, R.S. and J.F. Strauss, *Molecular progress in infertility: polycystic ovary syndrome*. Fertility and sterility, 2002. **78**(3): p. 569-576.
52. Diamanti-Kandarakis, E. and C. Piperi, *Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth*. Human Reproduction Update, 2005. **11**(6): p. 631-643.
53. Deligeoroglou, E., C. Kouskouti, and P. Christopoulos, *The role of genes in the polycystic ovary syndrome: predisposition and mechanisms*. Gynecological Endocrinology, 2009. **25**(9): p. 603-609.
54. Franks, S., M.I. McCarthy, and K. Hardy, *Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors*. International journal of andrology, 2006. **29**(1): p. 278-285.
55. Eisner, J.R., et al., *Ovarian hyperandrogenism in adult female rhesus monkeys exposed to prenatal androgen excess*. Fertility and sterility, 2002. **77**(1): p. 167-172.
56. Cresswell, J., et al., *Fetal growth, length of gestation, and polycystic ovaries in adult life*. The Lancet, 1997. **350**(9085): p. 1131-1135.
57. Clark, J.A. and C.M. Coopersmith, *Intestinal crosstalk—a new paradigm for understanding the gut as the “motor” of critical illness*. Shock (Augusta, Ga.), 2007. **28**(4): p. 384.
58. Turnbaugh, P.J., et al., *The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world*. Nature, 2007. **449**(7164): p. 804.
59. Zhang, Y.-J., et al., *Impacts of gut bacteria on human health and diseases*. International journal of molecular sciences, 2015. **16**(4): p. 7493-7519.
60. Honda, K. and K. Takeda, *Regulatory mechanisms of immune responses to intestinal bacteria*. Mucosal Immunology, 2009. **2**(3): p. 187-196.
61. Bischoff, S.C. and S. Krämer, *Human mast cells, bacteria, and intestinal immunity*. Immunological reviews, 2007. **217**(1): p. 329-337.
62. Palmer, C., et al., *Development of the human infant intestinal microbiota*. PLoS biol, 2007. **5**(7): p. e177.
63. Gerritsen, J., et al., *Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics*. Genes & nutrition, 2011. **6**(3): p. 209.
64. Woodmansey, E., *Intestinal bacteria and ageing*. Journal of applied microbiology, 2007. **102**(5): p. 1178-1186.
65. Sekirov, I., et al., *Gut microbiota in health and disease*. Physiological reviews, 2010. **90**(3): p. 859-904.
66. Machiels, K., et al., *A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis*. Gut, 2013: p. gutjnl-2013-304833.
67. Seksik, P., et al., *Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon*. Gut, 2003. **52**(2): p. 237-242.

68. Weir, T.L., et al., *Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults*. PloS one, 2013. **8**(8): p. e70803.
69. Gori, A., et al., *Early impairment of gut function and gut flora supporting a role for alteration of gastrointestinal mucosa in human immunodeficiency virus pathogenesis*. Journal of clinical microbiology, 2008. **46**(2): p. 757-758.
70. Wolf, B., et al., *Safety and tolerance of Lactobacillus reuteri supplementation to a population infected with the human immunodeficiency virus*. Food and Chemical Toxicology, 1998. **36**(12): p. 1085-1094.
71. Yeoh, N., et al., *The role of the microbiome in rheumatic diseases*. Current rheumatology reports, 2013. **15**(3): p. 314.
72. Burcelin, R., et al., *Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective*. Acta diabetologica, 2011. **48**(4): p. 257-273.
73. Cani, P.D., et al., *Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia*. Diabetologia, 2007. **50**(11): p. 2374-2383.
74. Serino, M., et al., *Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota*. Gut, 2012. **61**(4): p. 543-553.
75. Amar, J., et al., *Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment*. EMBO molecular medicine, 2011. **3**(9): p. 559-572.
76. Amar, J., et al., *Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept*. Diabetologia, 2011. **54**(12): p. 3055-3061.
77. Qin, J., et al., *A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes*. Nature, 2012. **490**(7418): p. 55-60.
78. Murri, M., et al., *Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study*. BMC medicine, 2013. **11**(1): p. 46.
79. Larsen, N., et al., *Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults*. PloS one, 2010. **5**(2): p. e9085.
80. Cluny, N.L., R.A. Reimer, and K.A. Sharkey, *Cannabinoid signalling regulates inflammation and energy balance: the importance of the brain-gut axis*. Brain, behavior, and immunity, 2012. **26**(5): p. 691-698.
81. Turnbaugh, P.J., et al., *An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest*. nature, 2006. **444**(7122): p. 1027-131.
82. Amar, J., et al., *Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance*. Fundamental and Clinical Pharmacology, 2007. **21**: p. 2.
83. Ridaura, V.K., et al., *Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice*. Science, 2013. **341**(6150): p. 1241214.
84. Le Chatelier, E., et al., *Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers*. Nature, 2013. **500**(7464): p. 541-546.
85. Hildebrandt, M.A., et al., *High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity*. Gastroenterology, 2009. **137**(5): p. 1716-1724. e2.
86. Leung, J., et al., *Possible association between obesity and Clostridium difficile infection*. Emerging infectious diseases, 2013. **19**(11): p. 1791.

87. Dao, M.C., et al., *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut*, 2015: p. gutjnl-2014-308778.
88. Mouzaki, M., et al., *Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. *Hepatology*, 2013. **58**(1): p. 120-127.
89. Tremellen, K. and K. Pearce, *Dysbiosis of Gut Microbiota (DOGMA)—a novel theory for the development of Polycystic Ovarian Syndrome*. *Medical hypotheses*, 2012. **79**(1): p. 104-112.
90. Lindheim, L., et al., *Alterations in Gut Microbiome Composition and Barrier Function Are Associated with Reproductive and Metabolic Defects in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): A Pilot Study*. *PloS one*, 2017. **12**(1): p. e0168390.
91. Liu, R., et al., *Dysbiosis of Gut Microbiota Associated with Clinical Parameters in Polycystic Ovary Syndrome*. *Frontiers in Microbiology*, 2017. **8**.
92. Pedersen, H.K., et al., *Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity*. *Nature*, 2016.
93. Umeda, M., et al., *Risk indicators for harboring periodontal pathogens*. *Journal of periodontology*, 1998. **69**(10): p. 1111-1118.
94. Akcalı, A., et al., *Association between polycystic ovary syndrome, oral microbiota and systemic antibody responses*. *PloS one*, 2014. **9**(9): p. e108074.
95. Kumar, P.S., *Sex and the subgingival microbiome: do female sex steroids affect periodontal bacteria?* *Periodontology 2000*, 2013. **61**(1): p. 103-124.
96. Soory, M. and S. Ahmad, *5 α -reductase activity in human gingiva and gingival fibroblasts in response to bacterial culture supernatants, using [14C] 4-androstenedione as substrate*. *Archives of oral biology*, 1997. **42**(4): p. 255-262.
97. Soory, M., *Bacterial steroidogenesis by periodontal pathogens and the effect of bacterial enzymes on steroid conversions by human gingival fibroblasts in culture*. *Journal of periodontal research*, 1995. **30**(2): p. 124-131.
98. Lindheim, L., et al., *The Salivary Microbiome in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Its Association with Disease-Related Parameters: A Pilot Study*. *Frontiers in Microbiology*, 2016. **7**.
99. Dursun, E., et al., *Periodontal disease in polycystic ovary syndrome*. *Fertility and sterility*, 2011. **95**(1): p. 320-323.

8. EKLER

EK 1. Modifiye Ferriman-Gallwey skorlaması



EK 2. Hirsutizm atlası Yildiz et al., Hum Riprod update 2010



EK 3. Etik Kurul Onayı



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 550

Konu :

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 24.05.2016 SALI
Toplantı No : 2016/11
Proje No : GO 16/319 (Değerlendirme Tarihi : 10.05.2016)
Karar No : GO 16/319 - 02

Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Okan Bülent YILDIZ'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Yakut Akyön YILMAZ, Doç. Dr. Taylan KAV, Lisans Öğr. Melisa ZENGİN ile birlikte çalışacakları ve Dr. Gülnar MAMMADOVA'nın tezi olan, GO 16/319 kayıt numaralı ve "*Polikistik Over Sendrom'lu ve Sağlıklı Kadınlarda Bağırsak Mikrobiyota Üyelerinden Prevotella Melaninogenica ve Ruminococcus Torques Karşılaştırılması*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|--|--|
| 1. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU (Başkan) | 10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye) |
| İZİNLİ | |
| 2. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Üye) | 11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yılmaz SARA (Üye) | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGIN (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM (Üye) | İZİNLİ |
| | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye) | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye) | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye) |