

T.C.  
YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ PROGRAMI

İNSAN GRANÜLOZA HÜCRE KÜLTÜRÜNDE OMENTİNİN ÖSTRADIOL VE  
PROGESTERON SALINMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

HAZIRLAYAN  
PINAR TARIKAHYA

DANIŞMAN  
DR. ÖĞR. ÜYESİ ÇAĞLA ZÜBEYDE KÖPRÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2024  
ANKARA



**T.C.  
YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ PROGRAMI**

**İNSAN GRANÜLOZA HÜCRE KÜLTÜRÜNDE OMENTİNİN ÖSTRADIOL VE  
PROGESTERON SALINMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**HAZIRLAYAN  
PINAR TARIKAHYA**

**DANIŞMAN  
DR. ÖĞR. ÜYESİ ÇAĞLA ZÜBEYDE KÖPRÜ**

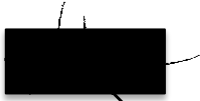
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu çalışma; Yüksek İhtisas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından 2023/01.014 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**2024  
ANKARA**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

A black rectangular box redacting the signature of the author.

Pınar TARIKAHYA

## YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

İnsan Granüloza Hücre Kültüründe Omentinin Östradiol ve Progesteron Salınması Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi adlı Yüksek Lisans Tezi, Yüksek İhtisas Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan

Pınar TARIKAHYA



Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ



Histoloji ve Embriyoloji Program Başkanı


Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ


## KABUL VE ONAY


Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ danışmanlığında Pınar TARIKAHYA tarafından hazırlanan “İnsan Granüloza Hücre Kültüründe Omentinin Östradiol ve Progesteron Salınması Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Yüksek İhtisas Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

.../.../...

JÜRİ:

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ (Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı) 

Üye: Doç. Dr. Bahar KARTAL (Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı) 

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Pınar ŞAHİN (Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı) 

ONAY: Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../...

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman benden esirgemeyip bana sabırla yol gösteren değerli tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ'ye, yalnızca Histoloji ve Embriyoloji alanında değil hayatın her alanında bana kattığı bilgi ve değerlerden dolayı sayın hocam Prof. Dr. Emel KOPTAGEL'e, deney süreçlerinde yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm Dr. Öğr. Üyesi Burcu BABA'ya, hücre hattının temininde bize destek olan Prof. Dr. Aylin YABA UÇAR'a,

Tez çalışmamda kullanılan materyalin alımı ve altyapı konusundaki desteklerinden dolayı Prof. Dr. Volkan BALTACI, Dr. Leyla ÖZER ve Gen-Art Tüp Bebek Merkezi çalışanlarına,

İlgi ve yardımları ile her zaman yanımda olan Egemen BOZDAĞ, Öğr. Gör. Dr. Merve Sevgi İNCE GÜZEL, Öğr. Gör. Dr. İlkem Güzel, Arş. Gör. Katre Cemre ATICI, Arş. Gör. Özgenur KOÇAK ve Arş. Gör. Mehmet Can EBİNÇLİ'ye,

Hayatım boyunca sonsuz sevgi ve güven duygusunu bana yaşatan, hiç bitmeyen özveri ve sabırları ile en büyük destekçilerim olan annem Sühendan TARIKAHYA, babam Ergün TARIKAHYA ve abim Mert TARIKAHYA'ya sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Pınar TARIKAHYA

Ankara, 2024

# İNSAN GRANÜLOZA HÜCRE KÜLTÜRÜNDE OMENTİNİN ÖSTRADIOL VE PROGESTERON SALINMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Pınar TARIKAHYA**

**Yüksek İhtisas Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Histoloji ve Embriyoloji Programı**

**Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2024**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ**

## KISA ÖZET

Kadın infertilitesi, milyonlarca kadını etkileyen ve dünya çapında görülen bir halk sağlığı sorunudur. Günümüzde infertilite tedavisinde yardımcı üreme teknikleri hızla gelişmektedir. İnsan ovaryum foliküllerinde oositi çevreleyen granüloza hücrelerinin omentin gibi bazı adipokinleri eksprese ettiği bilinmektedir. Ovaryum tarafından üretilen omentin folikülogenezi, ovulasyonu ve steroidogenezi parakrin ve otokrin şekilde düzenleyebilmektedir. Bu nedenle omentin seviyelerindeki değişimlerin ovaryumla ilgili bozukluklarla ilişkili olabileceği görülmektedir. Omentinin luteinize ve nonluteinize granüloza hücrelerindeki hormonal etkileri arasındaki farklılıklar, omentinin ovaryum üzerinde hormonal olarak düzenleyici etkisinin olabileceğini göstermektedir. Tez çalışmasında Polikistik Over Sendromu görülen kişilerin hücrelerinde FSH uyarımı sonucu omentinin östradiol ve progesteron üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda; insan kaynaklı granüloza hücreleri kültüre edilerek, hücrelere farklı dozlarda omentin, FSH ve FSH + omentin uygulanmıştır. Granüloza hücrelerinin 48 saatlik kültür sonrası kültür ortamına salgıladığı östradiol ve progesteron seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Sonuç olarak granüloza hücre kültürüne uygulanan omentinin bu hücrelerden östradiol ve progesteron salınmasını doza bağımlı olarak değiştirebileceği saptanmıştır. Ayrıca FSH'nin granüloza hücrelerinden östradiol ve progesteron salınması üzerindeki uyarıcı etkilerinin de omentin ile doza bağımlı olarak düzenlenebileceği gösterilmiştir. Omentin uyarımı ile östradiol ve progesteron seviyelerindeki farklılık PKOS'un patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması için katkı sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Foliküler sıvı, granüloza hücreleri, Polikistik Over Sendromu, FSH, omentin, östradiol, progesteron



# **EVALUATION OF THE EFFECTS OF OMENTIN ON ESTRADIOL AND PROGESTERONE RELEASE IN HUMAN GRANULOSA CELL CULTURE**

**Pınar TARIKAHYA**

**Yüksek İhtisas University, Graduate School of Health Sciences**

**Department of Histology and Embryology**

**M.Sc. Thesis, Ankara, 2024**

**Supervisor: Asst. Prof. Çağla Zübeyde Köprü**

## **ABSTRACT**

Female infertility is a public health problem, affecting millions of women and seen worldwide. Nowadays, assisted reproductive techniques are rapidly developing in the treatment of infertility. It is known that granulosa cells, surrounding the oocyte in human ovarian follicles express some adipokines such as omentin. Omentin produced by the ovary can regulate folliculogenesis, ovulation and steroidogenesis in a paracrine and autocrine manner. Therefore, changes in omentin levels may be related to ovarian disorders. The differences between the hormonal effects of omentin on luteinized and nonluteinized granulosa cells indicate that omentin may have hormonal regulatory effect on the ovary. In thesis study, the effects of omentin on estradiol and progesterone secretion as a result of FSH stimulation in the cells of women with Polycystic Ovary Syndrome were evaluated. For this purpose; human granulosa cells were cultured and treated with different doses of omentin, FSH and FSH + omentin. After 48 hours, the levels of estradiol and progesterone secreted by granulosa cells into the culture medium were evaluated by ELISA. As a result, it was determined that omentin-treated granulosa cells may change the estradiol and progesterone release from these cells in a dose-dependent manner. It was also shown that the stimulatory effects of FSH on estradiol and progesterone release from granulosa cells could be dose-dependently regulated by omentin. The difference in estradiol and progesterone levels with omentin stimulation may contribute to a better understanding of the pathophysiology of PCOS.

**Keywords:** Follicular fluid, granulosa cells, Polycystic Ovary Syndrome, FSH, omentin, estradiol, progesterone



## İÇİNDEKİLER

### İNSAN GRANÜLOZA HÜCRE KÜLTÜRÜNDE OMENTİNİN ÖSTRADIOL VE PROGESTERON SALINMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	iii
KABUL VE ONAY .....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
KISA ÖZET .....	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	x
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ .....	xii
TABLolar LİSTESİ .....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Ovaryum.....	4
2.1.1. Ovaryum gelişimi ve histolojisi.....	4
2.1.2. Folikül gelişimi.....	5
2.1.3. Granüloza hücreleri.....	8
2.2. Ovulasyon.....	9
2.3. Menstrual döngü.....	10
2.4. Steroid hormonlar .....	12
2.5. İnfertilite.....	14
2.6. Adipokinler.....	15
2.6.1 Omentin... ..	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Foliküler sıvı ve granüloza hücrelerinin toplanması.....	19

3.2. Primer granüloza hücrelerinin izolasyonu ve kültürü.....	19
3.3. Primer granüloza hücrelerinin kültürü ve çoğaltılması.....	20
3.4. HGrC1 hücre hattının kültürü ve çoğaltılması.....	20
3.5. Granüloza hücrelerinin dondurulması .....	21
3.6. FSH ve omentinin hazırlanması.....	21
3.7. ELISA deneyleri.....	21
3.8. İstatistiksel analiz .....	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. Katılımcıların özellikleri .....	25
4.2. Primer ve HGrC1 granüloza hücrelerinin kültürü.....	26
4.3. Hücrelerden salınan östradiol ve progesteron miktarlarının değerlendirilmesi ....	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR .....	39
EKLER.....	45
ÖZGEÇMİŞ .....	53

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

<b>AMH</b>	: Anti-müllerian hormon
<b>DMEM F-12</b>	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immunosorbent assay
<b>FBS</b>	: Fetal sığır serumu
<b>FSH</b>	: Folikül uyarıcı hormon
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
<b>HA</b>	: Hiperandrojenizm
<b>hCG</b>	: İnsan koryonik gonadotropin
<b>ICSI</b>	: Intrazitoplazmik sperm enjeksiyonu
<b>IGF</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
<b>IR</b>	: İnsülin direnci
<b>IUI</b>	: Intrauterin inseminasyon
<b>IVF</b>	: In vitro fertilizasyon
<b>IVF-ET</b>	: In vitro fertilizasyon-embriyo transferi
<b>IVM</b>	: In vitro maturasyon
<b>LH</b>	: Luteinize edici hormon
<b>OPU</b>	: Oosit toplama
<b>OMI</b>	: Oosit maturasyon inhibitörü
<b>PAS</b>	: Periyodik asit-Schiff
<b>PBS</b>	: Fosfat tamponlanmış tuz çözeltisi
<b>PKOS</b>	: Polikistik over sendromu

## TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Primer granüloza hücrelerinin deney grupları .....	18
Tablo 2. HGrC1 hücrelerinin deney grupları.....	18
Tablo 3. Katılımcıların demografik ve klinik özellikleri .....	25



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Menstrual ve ovaryal siklus .....	12
Şekil 2. Santrifüj sonrası granüloza hücrelerinden oluşan bulutsu faz .....	19
Şekil 3. Östradiol ELISA standartlarının hazırlanması .....	22
Şekil 4. Progesteron ELISA standartlarının hazırlanması.....	23
Şekil 5. Granüloza hücrelerinin inverted mikroskop görüntüleri .....	27
Şekil 6. HGrC1 hücrelerinin inverted mikroskop görüntüleri.....	28
Şekil 7. Omentinin granüloza hücrelerinden progesteron salınması üzerine etkisi .....	29
Şekil 8. Omentinin granüloza hücrelerinden östradiol salınması üzerine etkisi .....	30
Şekil 9. Omentinin HGrC1 hücrelerinden progesteron salınması üzerine etkisi .....	31
Şekil 10. Omentinin HGrC1 hücrelerinden östradiol salınması üzerine etkisi .....	32

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dişi üreme sisteminin temel birimi olan ovaryumlarda bulunan foliküllerde oosit, granüloza hücreleri ve teka hücreleri olmak üzere üç ana hücre tipi görülür (1). Oosit, folikülün merkezindedir ve granüloza hücreleriyle çevrilidir (2). Ovulasyondan önce, antrum ve çevresindeki granüloza hücreleri, oositin yanındaki kümülüs hücreleri ile Graaf folikülünü oluşturur. Folikül gelişiminin son aşaması olan Graaf folikülünde granüloza hücreleri hem doğrudan korona radiata ile hem de dolaylı olarak foliküler sıvı yoluyla oosit ile temas halindedir. Bir granüloza hücre grubu olan kümülüs hücreleri, embriyo gelişimini destekleyen bazı maddeleri ortama salarlar ve östradiol, progesteron gibi steroid ile protein üretimini sağlamalarından dolayı embriyo gelişiminde olumlu etki yaratırlar (3).

Ovaryum teka hücrelerinde androjen sekresyonu luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) tarafından uyarılır. FSH, androjenleri folikül büyümesini teşvik eden östrojenlere dönüştürmek için granüloza hücrelerinde eşzamanlı olarak FSH reseptörü üzerine etki eder (4). Uyarılan granüloza hücrelerinde östradiol konsantrasyonu artıp eşik konsantrasyonuna ulaştığında, Anti-Müllerian Hormon (AMH) ekspresyonu östradiol tarafından baskılanır (5). Foliküler gelişim sırasında üretilen androjenler, pre-antral ve antral foliküllerin büyümesini teşvik etmesinin yanı sıra, erken antral foliküllerde granüloza hücreleri üzerinde FSH reseptörlerinin (FSHR) ekspresyonunu indükler. Androjenler ayrıca LH reseptör (LHR) ekspresyonunu ve aromataz ekspresyonunu da artırır. Son evrede, baskın bir folikül seçilir ve östradiol konsantrasyonunun artmasıyla FSH salgısı azalır. Baskın folikül içindeki FSH konsantrasyonundaki bu kayıp LH sekresyonunu artırır. Sonuç olarak ovulasyonu indükleyen LH artışı meydana gelir. Steroidogenez basamaklarında bir değişim olması durumunda androjen fazlalığı görülür. Bu da primordiyal foliküllerin büyüme alanına alınımını artırır. Dolayısıyla küçük antral foliküllerin büyümesinin başlatılmasında rol

oyunar. Androjen fazlalığı aynı zamanda erken luteinizasyonu da başlatır. Bu durum, dominant folikülün seçim mekanizmasını bozarak ovulasyonu engeller. Bu da, Polikistik Over Sendromu'na (PKOS) yol açar (6). PKOS, dünya çapında üreme çağındaki birçok kadını etkileyen heterojen bir endokrin bozukluktur (7). Bu sendrom genellikle genişlemiş ve işlevsiz ovaryumlar, aşırı yüksek androjen seviyeleri, insülin direnci vb. ile ilişkilidir (8). LH'nin FSH'ye oranının yüksek olması ve gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) sıklığının artması PKOS'un altında yatan nedenler olarak bilinmesine rağmen, etiyojisi ve patolojisi kapsamlı bir şekilde aydınlatılamamıştır (9). Kanıtlar, insülin direnci (IR), hiperandrojenizm (HA), çevresel faktörler, genetik ve epigenetik dahil olmak üzere farklı dış ve iç faktörlerin rolünü göstermektedir (9, 10).

Ovaryum fonksiyonları metabolizma tarafından düzenlenir. Metabolik durumun üreme süreçleri üzerindeki etkisine, yağ dokusu tarafından üretilen peptid hormonları olan adipokinler aracılık eder (11-13). Yağ dokusu, insan vücudundaki en büyük endokrin organ olarak kabul edilir (14, 15). Adipokinler esas olarak yağ dokusu tarafından üretilmekte olup yağ hücresi farklılaşması, enerji metabolizması, insülin direnci, inflamasyon, bağışıklık, kanser ve anjiyogenezde rol oynar (16, 17). Üreme fonksiyonları da enerji dengesiyle ilişkilidir ve bu nedenle olası metabolik bozukluklar, PKOS gibi bazı patofizyolojilerin gelişmesine yol açabilir (16). Bir adipokin olan omentin ovaryumda folikülogenezi, ovulasyonu ve steroidogenezi parakrin ve otokrin şekilde düzenleyebilmektedir. Bu nedenle omentin seviyelerindeki değişimler PKOS gibi ovaryumla ilgili bozukluklarla ilişkili olabilir.

Çalışmamızın amacı, infertilite görülen PKOS tanılı bireylerden izole edilen insan granüloza hücrelerinin, FSH ve omentin kombinasyonları ile uyarılarak hücrelerden kültür ortamına salınan östradiol ve progesteron miktarlarını değerlendirmektir. Bu sayede omentinin; östradiol ve progesteron salınması üzerine etkilerinin araştırılması hedeflenmektedir. Bu hedef doğrultusundaki araştırma sorularımız aşağıda sıralanmıştır.

- Hastaların granüloza hücrelerine farklı dozlarda omentin uygulaması kültür ortamına salınan östradiol düzeyini etkiler mi?
- Hastaların granüloza hücrelerine farklı dozlarda omentin uygulaması kültür ortamına salınan progesteron düzeyini etkiler mi?

- Hastaların granüloza hücrelerine sadece FSH uygulanması ile FSH + omentin uygulanması sonucu ortama salınan östradiol seviyeleri birbirlerinden farklı mıdır?
- Hastaların granüloza hücrelerine sadece FSH uygulanması ile FSH + omentin uygulanması sonucu ortama salınan progesteron seviyeleri birbirlerinden farklı mıdır?

Bu amaçla in vitro fertilizasyon/intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (IVF/ICSI) hastalarından OPU (ovum pick up) sırasında folikül sıvısından izole edilen granüloza hücreleri hücre kültürüne ekilecek ve farklı dozlarda FSH ve FSH + omentin ile muamele edilmiştir. Bu işlem sonucu kültür ortamına salınan östradiol ve progesteron miktarları ELISA ile ölçülmüştür.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Ovaryum**

Ovaryumlar, pelvis minörün yan duvarlarında bulunan fossa ovarica'da bulunurlar. 4 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde, 2 cm kalınlığında ve 2-3,5 gr ağırlığında pembe-gri renkte iki adet organdır. Tuba uterina'ların arka-alt bölümündedir. Hilustan bir periton katlantısı olan mezovaryum ile uterusun ligamentum latum uterii'nin arka-üst yüzeyine tutunurlar (18). Ovaryumu asılı tutan ve tuba uterinaya bağlanan ligament, ligamentum ovari suspensorium'dur. Extremitas uterina (ovaryumun uterusu bakan ucunda) ile uterusun üst-dış köşesi arasında ise ligamentum ovari proprium adı verilir. Bu bağ, gebelik sırasında uterus ve ovaryumun konumunun değiştirilmesini sağlar (19).

#### **2.1.1. Ovaryum gelişimi ve histolojisi**

Genetik olarak embriyonun cinsiyeti, fertilizasyon sırasında belirlenmiştir ancak gonadlar, gelişimin 7. haftasında dişi veya erkeğe ait morfolojik özellikler göstermezler. Epitel proliferasyonu ve epitelin altında bulunan mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşan gonadlar, burada bir çift gonadal veya genital sırt olarak ortaya çıkarlar. Epiblast kökenli primordiyal germ hücreleri, primitif çizgi boyunca göç eder. 3. haftada primordiyal germ hücrelerinin yolk kesesinin allantois duvarına yakın tarafında bulunan endoderm hücrelerine göçü gerçekleşir. 4. haftada sonbağırsağın mezenterinin dorsalinde ilerleyen primordiyal germ hücreleri 5. hafta başında primitif gonadlara ulaşır, 6. haftada ise genital sırtları işgal ederler. Bu hücrelerin genital sırtlara ulaşamaması durumunda gonadlar gelişemez. Primordiyal germ hücreleri, gonadların over veya testise farklanmasını indükler (20).

SRY geninin olmadığı ve diferansiyasyon sürecinin temel geni olarak bilinen WNT4 geninin varlığında ovaryumlar gelişir. Bu durumda DAX1 geni, SOX geninin ekspresyonunu inhibe eder. Bu sayede WNT4 ile diğer genler birlikte kortikal kordonları oluştururlar, medullar kordonların kaybolmasını ve tunika albugineanın gelişimini durdurarak overlerin oluşmasını sağlarlar (20).

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasıyla genital sırtta bulunan epitel hücreleri proliferer olur ve burada bulunan mezenşimin içerisine gömülürler. Bu sayede primitif cinsiyet kordonlarını meydana getirirler. Gelişimin 10. haftasında primer cinsiyet kordonları medulla içerisine sokulur ve rete ovarii'yi oluştururlar. Erken fetal periyotta rete ovarii overlerin yüzey epitelinden köken alır ve altında bulunan mezenşim içerisine gömülür. Yaklaşık 16. haftada primer cinsiyet kordonları parçalanır ve hücre kümeleri oluştururlar. Böylece primordiyal foliküller, primordiyal germ hücreleri kökenli birer oogonium içerecek şekilde düzenlenmiş olurlar (21).

Ovaryumlar dıştan peritoneum ile sarılıdır. Bu yapı puberte itibariyle değişikliğe uğramaya başlar ve tek katlı yassı epiteliden kübik epitele kadar değişiklik gösterir. Bu tabakanın hemen altında tunika albuginea bulunur ve kollajen liflerden zengin bir yapıdır. Tunika albugineanın altında ovaryumun esas dokusu bulunur ve dış tarafta korteks, iç tarafta ise medulladan oluşur (19, 22). Histolojik kesitlerde korteks ve medulla birbirinden belirgin bir çizgi ile ayrılmaz. Kortekste çeşitli gelişim evrelerindeki foliküller ve bu foliküllerin aralarını dolduran bağ dokusu bulunur. Medullanın yapısını ise hilustan ovaryuma giren gevşek bağ dokusu, sinirler, kan damarları, lenf damarları ve intersitisyel hücreler oluşturur (19).

### **2.1.2. Folikül gelişimi**

Ovaryum folikülleri kortekste bulunur. Burada puberte öncesi sadece primer foliküller vardır. Puberteye girilmesiyle beraber primer, sekonder ve tersiyer foliküller görülmeye başlar. Erişkin kadınların ovaryumlarında yaklaşık 400.000 folikül bulunur. İlerleyen dönemde bu foliküllerin büyük çoğunluğu atreziye uğrar ve dejenere olur. Bu foliküllere atretik folikül adı verilir. 450-500 kadar folikül tersiyer folikül safhasına ulaşabilir (22, 23)

Primordiyal foliküller foliküler gelişimde ilk görülen folikül tipi olup gebeliğin 15. haftasında görülmeye başlar. Gelişimleri doğumdan 6 ay sonra tamamlanır (24). Ovaryum korteksindeki tunika albuginea'nın altında bulunurlar (22). Yassı foliküler hücreler ya da granüloza hücreleri ile çevrilidir ve primer oosit bulundururlar (22, 23). Primer oositler bu dönemde yaklaşık 30 µm çapındadırlar. Geniş veziküler nükleusları ve bir ya da birden çok nükleolusları bulunur. Organelce zengindirler; belirgin Golgi kompleksi, bol mitokondri, lizozom, geniş endoplazmik retikulum ve annüler lameller görülür. Organellerin yoğunlaştığı sitoplazma bölümleri ışık mikroskop altında Balbiani cisimleri olarak adlandırılır. Puberte sonrası folikül gelişimi ve oosit olgunlaşması, foliküldeki epitel hücrelerinin proliferasyonu ve stroma değişimi ile sürer (22).

Primordiyal foliküller prenatal dönemde gelişir ve bu evrede beklerler. Bu evreye dinlenme evresi adı verilir. Bu evreden çıkan foliküllere primer folikül adı verilir. Primordiyal foliküllerdeki yassı hücrelerin gelişerek önce kübik, ardından prizmatik hücrelere dönüşmesi ile oluşurlar (25). İmmatür oositin gelişmesi sırasında glikoprotein ve glikozaminoglikanları salgırlar ve foliküler hücrelerin de desteğiyle folikül hücreleri ile oositin arasında Periyodik asit-Schiff (PAS) pozitif olarak boyanan zona pellusida tabakasını oluştururlar (26). Zona pellusida, oosit kübik veya prizmatik hücrelerle çevrenip folikül çapı 50-80 µm boyutuna geldiğinde görülmeye başlar (24). Burada spermin tanınması için reseptörler bulunur (27). Bu tabakanın hizasında folikül epitel hücreleri ile oosit arasında mikrovilluslar bulunur. Bu mikrovilluslar, oosit-granüloza hücreleri arasında bulunan perivitellin aralığa doğru gelişirler. Bu sayede oosite besinsel olarak destek sağlanır (22). Oositin çevresindeki hücreler çoğalmaya devam eder ve çok katlı bir epitel tabakası oluştururlar. Bu epitel artık stratum granulozum adını alır (28). Tek tabakalı ve çok tabakalı olmak üzere iki tip primer folikül görülmektedir (22). Tek tabakalı primer foliküllerin (unilaminar) çevresi tek tabaka halinde kübik hücreler ile, çok tabakalı primer foliküllerin (multilaminar) çevresi ise çok sayıda kübik hücre tabakasıyla çevrilidir (29).

Folikülün gelişimi devam ederken stroma, folikül çevresinde teka folikülü tabakasını oluşturur. Teka hücrelerinden anjiyogenetik faktör salgılanır ve stromada damarlanma artar. Gittikçe büyüyen oosit ve kalınlaşmakta olan granüloza hücre tabakasının

beslenmesini kolaylaştırır. Bu sayede folikül gelişimini destekler. Teka ile granüloza hücre tabakaları arasında camsı membran adlı bir bazal membran bulunur. Teka folikülü ilerleyen dönemde teka interna ve teka eksternayı oluşturur. Teka interna; kollajen lifler, steroid salgılayan hücreler, kan damarları ve fibroblastlardan oluşur. Buradaki hücreler LH reseptörlerine sahiptir (30). LH etkisi altında androjenleri üretirler. Androjenler granüloza hücrelerine iletilir ve burada FSH etkisi altında östrojenleri üretirler. Bu tabakada üretilen östrojen, kan damarları yardımı ile tüm vücuda dağıtılır. Östrojen granüloza hücrelerinde bulunan LH reseptörlerinin sayısının artırılmasını sağlarlar (22). Teka eksterna, dışta bulunan bağ doku tabakası olup kollajen liflerden ve düz kas hücrelerinden meydana gelir (30).

Primer foliküller gelişirken oosit de olgunlaşmaya devam eder. Balbiani cisminden köken alan yoğunlaşmış Golgi kompleksinin içeriği sitoplazmaya yayılır (30). Mitokondri, serbest ribozom, veziküller ve multiveziküler cisimlerin sayısında artış görülür. Plazma membranının altında kortikal granüller belirir. Oosit spermle karşılaştığı zaman bu granüllerdeki proteazdan zengin içerik salgılanacaktır (22).

Multilaminar primer folikülde stratum granülozumun devamlı çoğalması ve zona pellusida tabakasının kalınlaşması ile sekonder folikül meydana gelir. Foliküler hücrelerin arasında Call-Exner cisimcikleri adı verilen hücreler arası boşluklar bulunur. Bu boşluklarda folikül sıvısı bulunur ve daha sonra antrumu meydana getirirler. Folikül sıvısı başta granüloza hücreleri kaynaklıdır, ileri dönemde plazma kaynaklı olur (22, 23). Antrumun oluşması ile foliküler hücreler primer oosite göre yeniden şekillenirler. Oosit ile folikül duvarı arasında kümülüs ooforus adlı foliküler hücre kümesi oluşur (30).

Folikülün gelişmeye devam etmesi ile folikül içerisindeki sıvı artar, granüloza hücreleriyle çevrili oosit folikül içerisinde kenara itilir. Granüloza hücrelerinin oosit ile ilişkili olduğu bölgede folikül lümenine doğru kümülüs ooforus adlı bir tümsek meydana getirir (22, 30). Burada granüloza hücreleri, çok katlı bir hücre tabakası olan membrana granüloza'yı oluşturur (22). Bu evrede folikül, Graaf folikülü (tersiyer/olgun folikül) adını alır. Primer oosit, zona pellusidaya bitişik olan korona radiatayı oluşturur. Korona radiyata tek sıralı foliküler hücrelerle çevrilidir (23). Korona radiata hücrelerinin

yüzeylerinde bulunan mikrovilluslar ile oosit yüzeyindeki mikrovilluslar gap junctionlarla bağlantılarını sürdürür (22).

Graaf folikülünü diğer foliküllerden ayıran belirgin özellikleri;

- İçerisinde folikül sıvısı bulunan büyük antruma sahip olması,
- Korona radiatayı yapan zona pellusidanın olması,
- Folikül sıvısı içinde serbest olarak yüzen oosit-zona pellusida-korona radiata kompleksinin olmasıdır (23).

Folikülün büyüklüğü 6 cm'ye ulaştığında folikül, ovaryum yüzeyine doğru bir kabartı meydana getirir. Oosit ile granuloza hücrelerinin bağlantısı gevşemeye başlar. Oosit atılmaya hazırlanır (22).

### 2.1.3. Granuloza hücreleri

Granuloza ve teka hücreleri, ovaryum folikülünün temel fonksiyonel birimleridir (31). Granuloza hücreleri, yer yer kübik hale gelen yassı ve küboid bir şekle sahip olmaları ile karakterize edilir. Granuloza hücreleri, gelişen folikül için pro-anjiyogenik faktörlerin kaynağı olmasına rağmen bu hücreler ovaryumun kortikal bölgesindeki oositleri çevreleyen avasküler bir tabaka oluşturur ve teka hücrelerinden bir bazal lamina ile ayrılır. Ergenlik döneminde, ön hipofiz bezi tarafından FSH ve LH'nin üretimi ve salgılanmasıyla birlikte folikülogenez başlar (32, 33).

Granuloza hücreleri, oosit olgunlaşmasının düzenlenmesi ve foliküler büyümenin kontrolü dahil olmak üzere birçok işlevi olan bir foliküler sıvı üretir. Bu foliküler sıvı östrojen, progesteron, oosit maturasyon inhibitörü (OMI), melatonin ve inhibinden oluşur. Bu sıvının folikül içinde birikmesi antrumun oluşmasına neden olur ve folikül antral folikül haline gelir (34). Preovulatuvar folikülde oluşan granuloza hücre tabakalarındaki granuloza hücrelerinin her katmanda farklı işlevleri vardır. Çeşitli salgılar üretirler ve bir dizi reseptörü eksprese ederler (35, 36). Foliküler gelişimin son aşamasında LH artışı nedeniyle ovulasyonun gerçekleşmesiyle granuloza hücreleri luteal hücrelere farklılaşırlar. Folikül yırtılarak granuloza hücreleri tarafından doldurulan bir

boşluk oluşturur ve bu boşluklar, lutein hücrelerine dönüşürler (37). Ayrıca korpus luteumdaki anjiyogenetik süreçler, hormonal aktivite gösteren hücrelere besin, oksijen ve hormon içeren kanın uygun şekilde dağıtılmasını sağlarlar (38). Fertilizasyonun gerçekleşmemesi durumunda korpus luteum geriler ve granüloza hücreleri inhibe edilir (39).

## 2.2. Ovulasyon

Ovulasyon, folikül gelişimiyle beraber olgunlaşan oositin Graaf folikülünden ayrılarak atılması sürecidir (30). Her bir siklusun başında 15-20 adet primer folikül FSH ile stimüle edilir. Ancak 1-2 folikül gelişimini tamamlayabilir ve sekonder oosit karın boşluğuna verilir. Burada yaklaşık 24 saat içerisinde döllenmezse dejenere olur. Ovulasyon öncesinde FSH, sperm geçişini kolaylaştırmak için servikal mukusun incelmelerini sağlar. Endometriumun proliferatif evreye geçmesi, luteinizasyon ve LH'nin siklusun orta döneminde üretimini artırılmasına yol açar. I. mayozun tamamlanmasıyla beraber sekonder oosit ve I. kutup cisimciği oluşur. I. kutup cisimciği zona pellusida-oosit arasındaki perivitellin aralığa atılır. Buradaki foliküler hücreler FSH reseptörlerine sahiptirler ve LH reseptörleri de kazanmaya başlarlar. Bu durum, korpus luteumun luteinizasyonu için çok önemlidir (22, 23).

Ovulasyon sonrası foliküler hücre tabakasının büzüşmeye başlamasıyla meydana gelen korpus luteum, LH uyarılarına yanıt olarak progesteron, östradiol ve inhibin A salgılar. Ovulasyondan 6-7 gün sonra büyüklük, sekresyon ve vaskülarizasyon açısından maksimum düzeye ulaşır (40). Foliküldeki bazal membran yıkılır ve foliküler hücre kümelerinin içinde kan damarları görülmeye başlar. Antrumda kan birikip pıhtılaşır, bu korpus hemorajikumu oluşturur. Anjiyogenez ile yeni oluşan kan damarları, kollajen lifler ve kan damarları bu pıhtı içerisine girerler. Foliküler hücreler, lutein yapılı hücrelere dönüşürler. Gelişmiş agranüler endoplazmik retulumlu, tübüler kristal ve lipid damlacıklı yapıda olan tipik steroid sentezleyen hücre özelliği kazanırlar. Ardından FSH ve LH varlığında östrojen ve progesteron salgılamaya başlarlar. Teka interna hücreleri de teka lutein hücrelerine dönüşürler. LH varlığında androstenediyon ve progesteron üretirler. Teka lutein hücrelerinden foliküler hücrelere sağlanan androstenediyon desteği ile östradiol üretimi gerçekleşir (23).

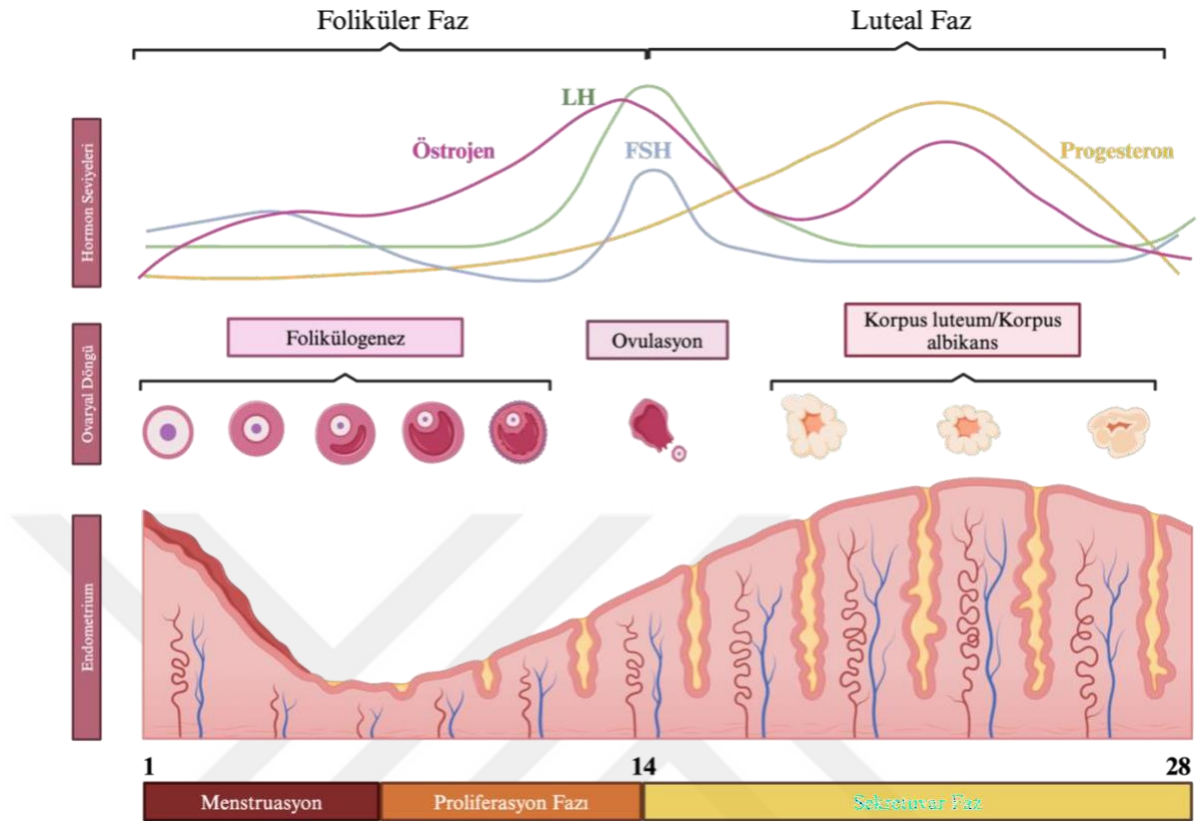
Korpus luteum varlığını sürdürürken fertilizasyon gerçekleşmemişse korpus luteum korpus albicans'a dejenere olur, bu da dolaşımdaki östradiol ve progesteron seviyelerinin azalmasına neden olur. Hormonal çekilme, endometriyumda dökülmeye ve menstrüasyona yol açar. Böylece döngü yeniden başlar (40). Fertilizasyon gerçekleştiyse büyümesi devam eder. Bu sırada östradiol ve progesteron üretmeyi de sürdürmektedir. Burada korpus luteumun varlığını implante olmuş embriyonun trofoblast hücrelerinden salgılanan insan koryonik gonadotropini (hCG) sağlar. Prenatal dönemde 9-10. haftaya kadar östradiol ve progesteron, endometriyumun beslenmesinde görevlidir. Korpus luteum gerilemesi ile korpus albicans oluşur. Bu sırada dejenere olan luteal hücrelerin yerine stromal bağ dokusu geçer. Korpus albicans tamamen yok olmamakla birlikte küçülür ancak ovaryumda varlığını sürdürür. Korpus luteumun gerilemesiyle stromadaki hücreler serbest kalır ve salgılama yeteneklerini yeniden kazanırlar (23).

### **2.3. Menstrual döngü**

Uterus endometriumundaki stratum fonksiyonale tabakasında gerçekleşen gelişimsel evrelerin sürecine menstrual döngü adı verilir (19, 41). Menstrual döngü, foliküler gelişimi, ovulasyonu, luteinizasyonu, luteolizi ve endometriyumun yeniden şekillenmesini düzenleyen endokrin, otokrin ve parakrin faktörler tarafından kontrol edilir (42). Menstrual döngü, ovaryumun steroid salgılarının düzenlenmesinde görevli gonadotropinler tarafından kontrol edilmektedir. Bu süreç puberte ile başlar ve menapoza kadar devam eder ve ortalama 28 gün sürer. Menstrual döngü sırasında endometriumda Menstrual, Proliferatif (Foliküler), Sekretuar ve İskemik dönem olmak üzere dört dönem görülür. Menstrual dönemin ilk iki haftası overlerde foliküllerin geliştiği dönemdir. Menstrual döngünün 14. gününde ovulasyon gerçekleşir. Östrojen ve progesteronun kontrol ettiği menstrual döngü, endometriumun büyümesi, değişmesi ve dökülmesini kapsamaktadır (19). Stratum fonksiyonale menstruasyon sırasında dökülür ve proliferatif dönemde stratum bazaleden yenilenir (43). Stratum bazalenin endotel, epitel ve stromal hücreleri hızla proliferasyona uğrarlar ve bu evre “Proliferasyon Evresi” adını alır. Bu evre, kanamanın beşinci gününden itibaren başlar ve 15-16. günlere kadar devam eder (19).

Menstrual dönemin ilk iki haftasında proliferasyon evresi ile foliküler gelişim eşzamanlı olarak gerçekleşir. Foliküler faz sırasında görülen düşük östradiol ve progesteron seviyeleri hipotalamustan GnRH salınımını uyarır, bu da ön hipofizden LH ve FSH salgılanmasına neden olur. LH'nin varlığı overlerdeki teka hücrelerini androjen üretmesi için uyarırken, FSH aromataz enziminin etkisi yoluyla androjenleri östradiole dönüştürmek için doğrudan granüloza hücreleri üzerinde etki gösterir. FSH ayrıca primordiyal folikülerin olgunlaşma ve büyümesinden sorumludur. FSH etkisiyle dominant folikül oluşumu görülür. Geç foliküler faz sırasında dominant folikül, giderek artan miktarlarda östradiol üretir ve bu da endometriyumun proliferasyonunu uyarır. Östradiol seviyeleri yükseldikçe negatif geri bildirim döngüsü ile LH ve FSH seviyeleri azalır. Östradiol miktarı belirli bir seviyeye ulaşana kadar yükselmeye devam eder. Bu süreçte overlerden ön hipofize doğru giden hipotalamus-hipofiz-ovaryum ekseninin negatif geri bildirim döngüsü, pozitif bir geri bildirim döngüsüne geçer. Bu pozitif geri bildirim döngüsü ise ovulasyonu tetikleyen ve LH dalgalanması olarak bilinen olguya neden olur (40). 28 günlük bir döngünün 14. gününde LH düzeyi pik yapar, ovulasyon gerçekleşir. Ovulasyonla folikülden oositin atılmasıyla beraber folikül korpus luteuma dönüşür böylece “Sekretuar Dönem” başlar (19). Bu dönemde korpus luteum LH'nin etkisi altında progesteron ve az miktarda da östradiol salgılar. Artan progesteron seviyeleri, olası bir implantasyona hazırlık amacıyla endometriyumun proliferatif bir yapıdan sekretuar bir yapıya farklılaşmasına neden olur. Progesteron ayrıca fertilizasyonu sağlamak için servikal mukusu ve vücut ısısını artırır. Fertilizasyonun gerçekleşmemesi durumunda korpus luteumun dejenere olmasıyla meydana gelen korpus albicans, dolaşımdaki östradiol ve progesteron seviyelerinin azalmasına neden olur (44). Hormonal düzeydeki azalma ile “İskemik Dönem” başlar. Bu dönemde endometriyumun damarlardaki kan miktarı azalır ve iskemi başlar. İskemi görülen bölgede hipoksi meydana gelir. Endometriyumun fonksiyonel tabakasının dokusunda nekroz görülür ve bu tabaka menstrual evrede dökülür (19).

Menstrual ve ovaryal döngüler süresince görülen değişiklikler, bu döngülerin fazları ve değişen hormon seviyeleri Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Menstrual ve ovaryal siklus.

**Kaynak:** Created in BioRender. Tarikahya, P. (2024) BioRender.com/x31u415

## 2.4. Steroid hormonlar

Steroid hormonlar; cinsel farklılaşma, üreme fizyolojisi, ozmoregülasyon ve metabolizma gibi çok çeşitli mekanizmalarda kimyasal haberciler olan lipofilik moleküllerdir. Steroid hormonların sentez ve sekresyonunun ana bölgeleri arasında overler, testisler, adrenal bezler ve plasenta bulunur. Hedef bölgenin sentez ve sekresyon bölgesinden uzaklığına bağlı olarak steroid hormonları endokrin, parakrin veya otokrin olarak etki gösterir (45). Over folikülünün olgunlaşma sürecinde foliküler sıvıdan, kan dolaşımından ve granüloza hücrelerinden elde edilen steroid hormonlar foliküler büyüme ve gelişme sürecini etkiler (46).

Steroid yapıda olan dişi cinsiyet hormonları östrojen ve progesterondur (45). Östrojeni ovaryum foliküllerindeki granüloza hücreleri ve ovulasyon sonrasında oluşan korpus

luteum salgılar. Hipofiz bezi, östrojenin negatif geri bildirim etkisinin asıl yeridir. Ovulasyon öncesinde östrojenin pozitif geri bildirim mekanizmasında artış olur. Böylece LH seviyesi 6-10 kat, FSH düzeyi ise 2-3 katına çıkar (19).

Östrojen ovulasyon ve menstruasyonda önemli bir rol oynar. Menstrual siklus ve üremeyi düzenlemek için overlerdeki ER $\alpha$ , ER $\beta$  ve G-protein bağlı östrojen reseptörü (GPER) dahil olmak üzere östrojen reseptörlerine (ER'ler) bağlanır (47). Östrojen ve reseptörlerinin anormal ekspresyonu, PKOS ve endometriozis gibi over hastalıklarıyla yakından ilişkilidir. Menstrual siklusun proliferatif fazında endometrium gelişimi östrojen sayesinde gerçekleşir; müsin kılıfın incilmesi ve mikrovillusların kısalmasını sağlar. Östrojen ayrıca luminal epitel hücrelerini blastokist sinyaline duyarlı hale getirir ve trofoektodermin bu epitel hücrelerine yapışmasını sağlar. Östrojen, sitokinler gibi implantasyonu aktive eden salgıları içeren bez epitelinden salgı salınımını stimüle eder. Ovulasyon döneminde östrojen granüloza hücre farklılaşmasının, folikül ve oosit büyümesi ile gelişiminin yanı sıra, over fonksiyonunun düzenlenmesinde de rol oynar (49).

Progesteron adrenal korteks, overler ve testislerden oluşan gonadlar tarafından üretilen endojen bir steroid hormondur. Progesteron gebeliğin ilk on haftasında overlerdeki korpus luteumdan, gebeliğin sonraki aşamasında ise plasentadan salgılanır (49). Progesteron FSH üretimini artırıp ve LH üretimini azaltmakla görevli olan GnRH sekresyonunu yavaşlatır (19). Uterustaki salgı aktivitesini stimüle eder, böylece menstrual siklus sırasında uterus fonksiyonunu düzenler (19, 50). Progesteron ayrıca desidual dokuların gelişimi için gereklidir. Uterus büyümesini ve miyometriyal kontraksiyonda yer alan faktörleri uyaran progesteron, implantasyonu kolaylaştırır (50). Progesteron reseptörleri, kümülüs matriks fonksiyonunu kontrol etmek ve foliküler rüptürü kolaylaştırmak için kümülüs hücreleriyle etkileşime giren parakrin sinyallerinin ekspresyonunu indükler (51).

## 2.5. İnfertilite

İnfertilite, bir yıl boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen doğal yolla gebelik elde edilememesi olarak tanımlanmaktadır (52). İnfertilite birincil veya ikincil

infertilite olarak sınıflandırılır. Birincil infertilite, daha önce hiç gebelik yaşanmaması iken, ikincil infertilite doğumun gerçekleşmesinden bağımsız olarak daha önce gebeliğin gerçekleşmesidir. Kadın üreme sisteminde infertilitenin başlıca nedenlerini ovulasyon defektleri (obezite, menstruasyon gecikmeleri gibi fiziksel bozukluklar; PKOS ve endometriozis gibi hastalıklar), taşıma defektleri (oosit ve spermin taşınmasına engel olacak rahatsızlıklar vb.) ve implantasyon defektleri (konjenital anomaliler, miyomlar vb.) oluşturmaktadır (53).

Bir ovulasyon defekti sonucu ortaya çıkan PKOS, tipik olarak anovulasyon, infertilite, obezite, insülin direnci ve polikistik overlerle karakterize edilen karmaşık bir endokrin ve metabolik hastalıktır. Dünya genelinde PKOS, üreme çağındaki kadınların %8-%20'sini etkilemektedir (8). PKOS semptomları ilk olarak 1935'te Stein ve Leventhal tarafından tanımlanmış ve hastalık başta Stein-Leventhal sendromu olarak adlandırılmıştır. Daha sonra 1960'larda PKOS olarak yeniden adlandırılmıştır. Rotterdam 2003 Kriterlerine göre PKOS tanısı, HA, menstruasyon düzensizliği ve overlerde polikistik morfoloji kriterlerinden en az ikisinin görüldüğü durumlarda konulmaktadır (54, 55). PKOS'u tanımlamak için kullanılan her bir kriterin kendi başına klinik sonuçları vardır. Androjen fazlalığı; hirsutizm, akne ve alopesi gibi bulgulara; ovulatuvar disfonksiyon ve kronik oligomenore kısırlığa, endometriyal hiperplaziye ve/veya karsinoma neden olabilir (56). Polikistik over morfolojisi, yalnızca ovulasyon indüksiyonu sırasında over hiperstimülasyon sendromu riski ile ilişkilidir (57). Genel bir kural olarak, PKOS'lu hastada ne kadar çok kriter görülürse, fenotipi de o kadar şiddetli olur (58).

PKOS genetik faktörler, nöroendokrin değişiklikler, çevresel faktörler ve obezite gibi risk faktörleri ile ilişkilidir. Bu faktörler hiperinsülinemi, oksidatif stres, HA, bozulmuş folikülogenez ve düzensiz menstrual sıkluslara neden olarak metabolik sendromun artmasına neden olabilmektedir (8). Bu durumun patofizyolojisi, steroidogenez, ovaryum folikülogenezi, nöroendokrin fonksiyon, metabolizma, insülin duyarlılığı, yağ hücresi aktivitesi, inflamatuvar faktörler ve sempatik sinir fonksiyonu, insülin üretimindeki değişikliklerden etkilenir (59).

PKOS tedavisinde yaşam tarzı değişikliği, oral kontraseptif tedavi, ovulasyon indüksiyonu, yüksek testosteron tedavisi, yardımcı üreme teknikleri ile tedavi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Yardımcı üreme teknikleri temel olarak intrauterin

inseminasyon (IUI), in vitro fertilizasyon-embriyo transferi (IVF-ET), in vitro maturasyon (IVM) ve ICSI'yi içerir.

## 2.6. Adipokinler

Adipokinler esas olarak yağ dokusu tarafından üretilen; ancak ekspresyonları dışı üreme organları dahil olmak üzere diğer organlarda da bildirilen ikincil habercilerdir (17). Adipokinler inflamasyonu, metabolizmayı, iştahı, kardiyovasküler fonksiyonu, bağışıklığı ve diğer fizyolojik süreçleri düzenleyen sitokinlerdir (60). Bu adipokinlerden bazıları leptin, adiponektin, apelin, kemerin, rezistin, visfatin ve omentindir (17).

Adipokinler otokrin, parakrin ve endokrin yollarla işlev görür ve tüm vücudun enerji durumunu yöneten metabolik faktörlerin modülatörü olarak görev yapar (61, 62). Yağ dokusu beslenmenin, iştahın, lipit alımının, metabolizmanın ve çeşitli hücrelerin sentezinin düzenlenmesinde anahtar bir unsur olarak gelişmiştir. Obezite görülen kadınlarda menstruasyon bozukluğu, infertilite, gebelik başarısızlığı görülürken; zayıf kadınlarda fetal büyümede azalma, amenore ve düşük yapma görülür (61). Beyaz yağ dokusundan adipokinlerin salgılanmasındaki artış, üreme gibi obezite ile ilişkili birçok fonksiyonu düzenlemektedir (63). Over fonksiyonları ve bunun sonucunda ortaya çıkan doğurganlık, metabolizma tarafından düzenlenir (64). Metabolik durumun üreme süreçleri üzerindeki etkisi adipokinler aracılığıyla sağlanır. Bazı adipokinlerin over hücre fonksiyon kontrolündeki rolü belirlenmiş olsa da, omentin gibi adipokinlerin kadın üreme sistemi üzerindeki etkisi henüz net olarak belirlenmemiştir (65, 66).

### 2.6.1. Omentin

Omentin (Intelectin-1), insanlarda ağırlıklı olarak visseral yağ dokusu tarafından üretilen yakın zamanda keşfedilen bir adipokindir. Omentin, aynı zamanda intelektin-1 olarak da adlandırılan, 313 amino asitlik bir peptid olup, daha çok visseral yağ dokusunun stromal vasküler hücrelerinde eksprese edilen bir anti-inflamatuvar adipokindir (67). Omentinin insülin duyarlılığını artırıcı, kardiyovasküler koruyucu, antidiyabetik, antikanser ve oksidatif stresi azaltıcı etkileri de bilinmektedir (68, 69). Bazı çalışmalar, omentin ekspresyonunun inflamatuvar durumlar ve obezite ile değiştiğini göstermektedir (70, 71).

Omentin insülin etkisini artırır (72). Obezite ile ters orantılıdır ve kilo kaybından sonra artar (70, 73).

Omentin ayrıca metabolik sendrom ve PKOS ile de bağlantılıdır (74). Plazma omentin seviyeleri erkeklerle karşılaştırıldığında kadınlarda daha yüksektir (70). PKOS hastalarının düzenli menstrual sıkluları ve düzensiz menstrual siklusları olanlar arasında omentin plazma seviyelerinde önemli bir fark olduğu bulunmuştur. Bu nedenle omentinin over ve menstruasyon işlevini düzenleyen hormonların salgılanmasını veya bu hormonların reseptörlerini etkileyebileceği düşünülmektedir (75). İnsanlarda, plasenta ve maternal plazmada omentin ekspresyonu, önceden var olan maternal obezite ile ilişkilidir. Bu nedenle gebelikte omentinde meydana gelen değişiklik, yaşamının ilerleyen dönemlerinde bireylerde metabolik bozuklukların gelişimini etkileyebilmektedir (76).

Omentin insan ovaryum folikülünde de eksprese edilmektedir. İnsan lutein granüloza hücrelerinde omentin ekspresyonu FSH, insülin ve IGF-1 dahil olmak üzere folikül gelişiminde rol oynayan çeşitli hormonlar ve insülin duyarlılaştırıcı metformin tarafından kısa süreli (12/24 saat) artar (17). Ayrıca omentin, visfatin ekspresyonunun indüksiyonu yoluyla, IGF-1 ile indüklenen steroidogenez ve IGF-1R sinyalini düzenler. Bu nedenle, omentin folikülogenezde rol almakta ve PKOS'un patofizyolojisine katkıda bulunmaktadır (77).

Polikistik over sendromu, insan kanında omentin seviyesinin azalmasıyla ve yumurtalık foliküler sıvısında artan omentin seviyesiyle ilişkilidir (78-80). Bu ilişkiler, omentinin dişi üreme süreçlerinin kontrolünde rol oynadığını gösterebilir, ancak henüz kanıtlanmamıştır (66).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Yüksek İhtisas Üniversitesi Girişimsel Olmayan Çalışmalar Etik Kurulu tarafından 2023/02/04 numaralı karar ile etik açıdan uygun bulunmuştur.

Çalışma, Gen-Art Tüp Bebek Merkezi'ne IVF/ICSI tedavisi için başvuran, bir yıldır herhangi bir gebeliği önleyici yöntem kullanmamış ancak henüz çocuk sahibi olmayan PKOS görülen kadınların folikül sıvısı örnekleri (n=5) ve HGrC1 hücre hattı ile gerçekleştirilmiştir. Primer granüloza örnekleri için kontrol grubu olarak üzerine FSH, omentin veya FSH + omentin eklenmemiş primer granüloza hücreleri kullanıldı (n=5). HGrC1 hücreleri için kontrol grubu olarak FSH, omentin veya FSH + omentin uygulanmamış HGrC1 hücreleri kullanıldı. HGrC1 hücreleri üçlü tekrar ile çalışıldı. Obezite, hiper-tiroidizm ve hipo-tiroidizm görülen hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Araştırma, hastalardan rutin OPU işlemi sırasında elde edilen folikül sıvısı ve granüloza hücreleri üzerinde yapılmıştır. Çalışmamızda kontrol grubu, omentin, FSH ve omentin + FSH ile muamele edilmiş granüloza hücrelerinin olduğu dört grup bulunmaktadır (Tablo 1, Tablo 2). Farklı dozların uygulanması sonucu kültür ortamına salınan östradiol ve progesteron miktarları ELISA ile ölçülmüştür.

Tablo 1. Primer granüloza hücrelerinin deney grupları

<b>Grup Adı</b>	<b>Uygulama</b>
<b>PKOS</b> (n=5)	Kontrol
	10 ng/ml FSH ile uyarılmış
	100 ng/ml FSH ile uyarılmış
	1 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	10 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	10 ng/ml FSH + 1 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	10 ng/ml FSH + 10 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	100 ng/ml FSH + 10 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	100 ng/ml FSH + 1 ng/ml Omentin ile uyarılmış

Tablo 2. HGrC1 hücrelerinin deney grupları

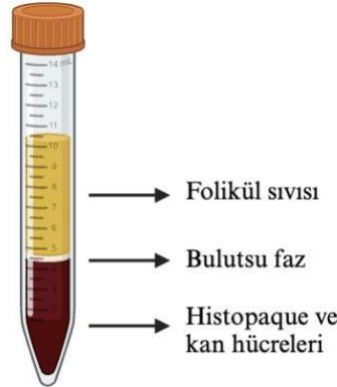
<b>Grup Adı</b>	<b>Uygulama</b>
<b>HGrC1</b>	Kontrol
	10 ng/ml FSH ile uyarılmış
	100 ng/ml FSH ile uyarılmış
	1 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	10 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	10 ng/ml FSH + 1 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	10 ng/ml FSH + 10 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	100 ng/ml FSH + 10 ng/ml Omentin ile uyarılmış
	100 ng/ml FSH + 1 ng/ml Omentin ile uyarılmış

### 3.1. Foliküler sıvı ve granüloza hücrelerinin toplanması

Çalışmamızda kullanılan foliküler sıvı örnekleri, IVF/ICSI tedavisi için başvuran hastalardan OPU sırasında temin edildi. Her hastadan oosit seçimi sonrası arta kalan foliküler sıvı ve içerisinde bulunan granüloza hücreleri test tüplerine toplandı.

### 3.2. Primer granüloza hücrelerinin izolasyonu ve kültürü

OPU sonrası folikül sıvısında bulunup heterojen bir şekilde dağılmış olan granüloza hücrelerini izole etmek için folikül sıvıları toplandı. 15 ml'lik falkon tüpe önce 3 ml Histopaque solüsyonu (Histopaque®-1077, # H8889-100ML, Sigma, USA) ve ardından 12 ml folikül sıvısı eklenip 2500 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Ara kısımda kalan, bulutsu fazda bulunan hücreler mikropipet ile alınıp tripan mavisi ile thoma lamı kullanılarak sayıldı. Bu hücreler başka bir 15 ml'lik falkon tüpüne aktarıldı (Şekil 2).



Şekil 2. Santrifüj sonrası granüloza hücrelerinden oluşan bulutsu faz

**Kaynak:** Created in BioRender. Tarikahya, P. (2024) BioRender.com/u01i823

Bulutsu faz şeklinde görülen hücrelerin üzerine, oositlerin stereomikroskop altında denudasyon işlemi sonrası arta kalan kümülüs hücreleri eklendi. Üzerine bazal medium (DMEM:F12, # DMEM-12-A, Capricorn Scientific, Almanya) eklenerek 15 ml'ye tamamlandı. 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılıp, pelletin üzerine

komplet DMEM F-12 eklendi. Pipetaj işlemi yapılarak pelletin komplet besiyeri içerisinde çözülerek hücrelerin homojen bir şekilde dağılması sağlanarak T25 flasklara ekim yapıldı. 37°C’de nemli atmosfer ve %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde kültüre edildi. Flaskların besiyerleri iki-üç günde bir değiştirildi.

Komplet besiyeri, %10 FBS (Fetal Bovin Serum, # 23031921FBS, Serana, Almanya) %1 Penisilin-Streptomisin-Amfoterisin (Antibiyotik/Antimikotik Solüsyon, # CP23-6318, Capricorn Scientific, Almanya) içeren DMEM F-12’den oluşmaktadır. Hücrelerin ilk ekimlerinde ve pasajlamalarının sonrasında flasklara tutunma yüzdesini artırmak amacıyla komplet besiyerlerine 1:1 oranında Amnioprime (Amnioprime, # CP23-6318, Capricorn Scientific, Almanya) eklendi.

### **3.3. Primer granüloza hücrelerinin kültürü ve çoğaltılması**

Flaskların besiyerleri iki-üç günde bir taze besiyeri ile değiştirildi. Hücreler %70-80 yoğunluğa ulaştığında tripsin (Tripsin-EDTA, # 0150724RTL, Serana, Almanya) ile kaldırılarak pasajlandı. Bu amaçla hücrelerin üzerindeki besiyeri çekildikten sonra PBS ile yıkama yapıldı. PBS uzaklaştırıldıktan sonra her bir flask için hücrelerin üzerine 1 ml tripsin eklendi. 5 dakika inkübasyon sonrası hücrelerin üzerine komplet besiyeri eklenerek hücreler tüplere alındı. 1200 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet komplet besiyeri içerisinde çözdürülerek T25 flasklara ekildi. Deneylerde 2. veya 3. pasajdaki hücreler kullanılmıştır.

### **3.4. HGrC1 hücre hattının kültürü ve çoğaltılması**

Nonluteinize granüloza hücreleri ile yapılan deneylerde insan kaynaklı HGrC1 hücre hattı kullanıldı. Hücrelerin sayımı yapıldıktan sonra üzerine komplet besiyeri eklenen hücreler dondurma besiyerinin uzaklaştırılması için 1200 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Hücreler %10 FBS, %1 Penisilin-Streptomisin-Amfoterisin içeren DMEM F-12 besiyeri ile ekilip 37°C’de nemli atmosfer ve %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde kültüre edildi. Flaskların besiyerleri iki-üç günde bir taze besiyeri ile değiştirildi. Hücreler %70-80 yoğunluğa ulaştığında tripsin ile kaldırılarak pasajlandı.

### 3.5. Granüloza hücrelerinin dondurulması

Inverted mikroskop (Eclipse TS100 Inverted microscope, Nikon, Japan) altında incelenen, %70-80 yoğunluğa ulaşan hücreler tripsin ile kaldırıldı. PBS ile yıkamanın ardından PBS uzaklaştırılarak her bir flask içerisine 1 ml tripsin eklendi. 5 dakika inkübasyon sonrası hücrelerin üzerine komplet besiyeri eklenerek hücreler tüplere alındı. 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı. Sonrasında pelletin üzerine %20 FBS ve %10 DMSO (DMSO, # 67-68-5, CDH, India) içeren DMEM F12 dondurma besiyeri eklenerek kriotüplere alındı. Hücreler ELISA deneylerinde kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

### 3.6. FSH ve omentinin hazırlanması

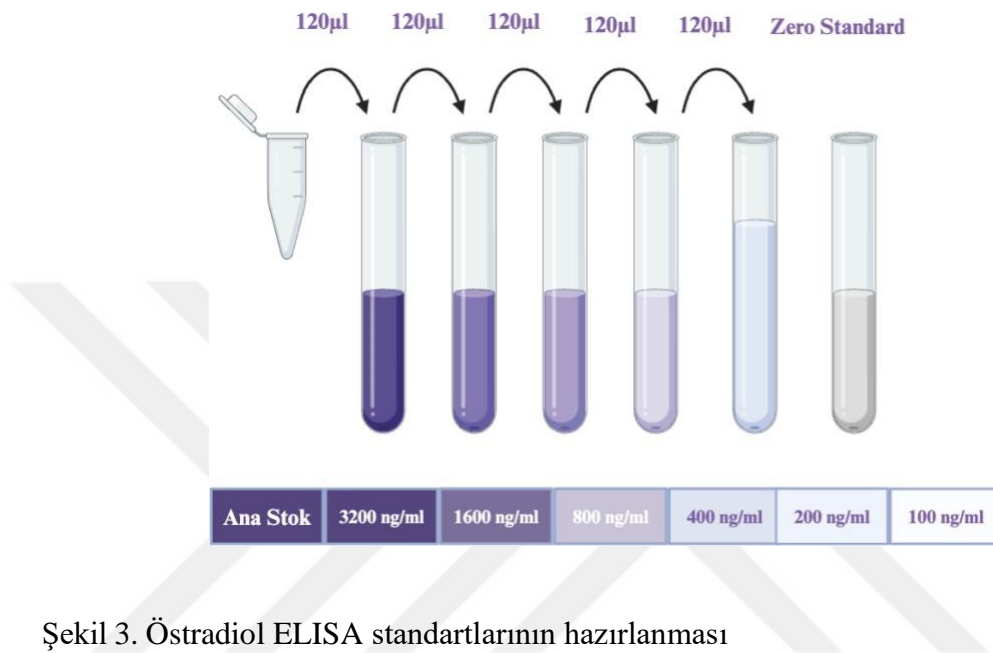
Toz formda olan FSH (Recombinant Human FSH alpha/beta Protein, # 228-12609-2, Raybiotech, USA) ve omentin (Recombinant Human Omentin, # 228-20167-2, Raybiotech, USA) konsantrasyonları 100 µg/ml olacak şekilde hazırlandı. 10ng/ml FSH, 100 ng/ml FSH, 1 ng/ml Omentin, 10 ng/ml omentin ve 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml Omentin, 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml Omentin, 100 ng/ml FSH + 1 ng/ml Omentin, 100 ng/ml FSH + 1 ng/ml Omentin konsantrasyonlarında tüpler hazırlandı.

### 3.7. ELISA deneyleri

Granüloza hücrelerinden östradiol ve progesteron salınmasını ölçmek için Human Estradiol ELISA Kit (# EA0030Hu, Btlab, China) ve Human Progesterone ELISA Kit (# EA0024Hu, Btlab, China) kullanıldı. Bu amaçla dondurulmuş olan hücreler çözülerek 24 kuyucuklu plakalara her kuyucukta  $3 \times 10^4$ - $4 \times 10^4$  hücre olacak şekilde ekildi. Hücreler FSH, omentin ve belirlenen kombinasyonlar ile muamele edilerek 37°C'de nemli atmosfer ve %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası süpernatantlar 1,5ml'lik eppendorf tüplere alınarak -20°C'de muhafaza edildi.

ELISA deneyleri başlamadan önce kitlerin içerikleri ve örnekler oda sıcaklığına getirildi. Östradiol ELISA deneyleri için 6 standart için tüplere 150'şer µl örnek seyreltici

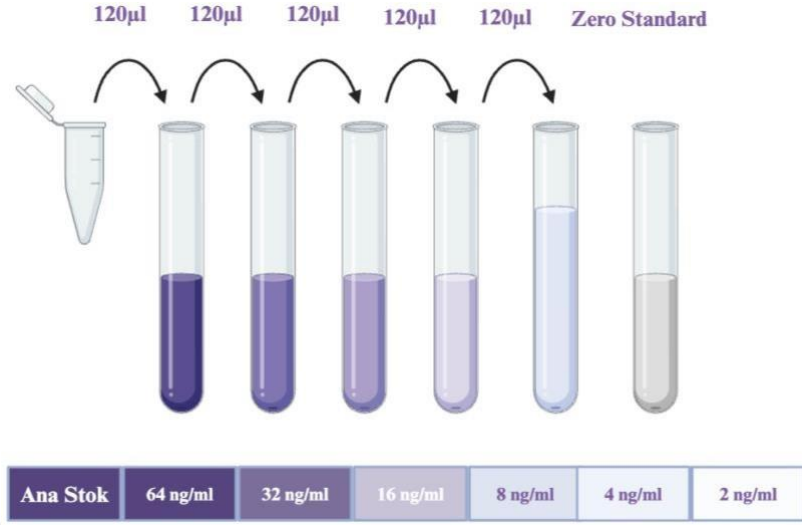
eklendi. Ana stoğa 150 µl örnek seyreltici eklenmesiyle 3200 ng/ml konsantrasyonunda stok solüsyon elde edildi. Ardından 1:2 oranında seri dilüsyonla her tüpten bir sonrakine 150'şer µl aktarılarak 1600 ng/ml (S5), 800 ng/ml (S4), 400 ng/ml (S3), 200 ng/ml (S2), 100 ng/ml (S1) ve 0 ng/ml (S0) standartları Şekil 3'teki gibi hazırlandı.



Şekil 3. Östradiol ELISA standartlarının hazırlanması

**Kaynak:** Created in BioRender. Tarikahya, P. (2024) BioRender.com/k39v858

Progesteron ELISA deneylerinde 6 standart için ise tüplere 150'şer µl örnek seyreltici eklendi. Ana stoğa 150 µl örnek seyreltici eklenmesiyle 64 ng/ml konsantrasyonunda stok solüsyon elde edildi. Ardından 1:2 oranında seri dilüsyonla her tüpten bir sonrakine 150'şer µl aktarılarak 32 ng/ml (S5), 16 ng/ml (S4), 8 ng/ml (S3), 4 ng/ml (S2), 2 ng/ml (S1) ve 0 ng/ml (S0) standartları Şekil 4'teki gibi hazırlandı.



Şekil 4. Progesteron ELISA standartlarının hazırlanması

**Kaynak:** Created in BioRender. Tarikahya, P. (2024) BioRender.com/t73u329

Her iki ELISA deneyi için de örnekler 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Ardından kitlerden temin edilen biyotinlenmiş antijen ve avidin-HRP 300 rpm 1 dakika süreyle santrifüj edildi. Biyotinlenmiş antijenler, biyotinlenmiş antijen seyreltme solüsyonları ile seyreltilerek stok solüsyon hazırlandı. Avidin-HRP’ler ise avidin-HRP seyreltme solüsyonları ile seyreltildi.

İki ELISA deneyi için de blank, standart ve örnekler için kuyucuklar belirlendi. Standart ve örnekler belirlenen kuyucuklara 50’şer µl olacak şekilde eklendi. Ardından blankler hariç her bir kuyucuğa 50 µl biyotinlenmiş antijen solüsyonu eklendi. İki plakada da kuyucukların üstü kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından kuyucuklar yıkama tamponuyla 5’er kere yıkandı ve kurutma kağıdı ile kurutuldu. Daha sonra blankler hariç her bir kuyucuğa 50 µl Avidin-HRP solüsyonu eklendi. İki plakada da kuyucukların üstü kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. Tekrar 5’er kere yıkama yapıldı. Her bir kuyucuğa 50’şer µl substrat A ve substrat B solüsyonları eklenip plakanın üstü kapatılarak 37°C’de 10 dakikalık inkübasyon sonrası durdurma solüsyonları eklendi. ELISA okuyucu (Biotek Epoch 2) ile 450 nm’de optik dansite değerleri ölçüldü.

Östradiol ve progesteron ELISA deneyleri uygulama basamakları şunlardır:

Tüm solüsyon, standartlar ve örnekler hazırlandı.
Örnek, standart ve biyotinli antijen eklendi. 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.
Aspire edilip 5 dakika boyunca yıkandı.
Avidin-HRP eklenip 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.
Aspire edilip 5 dakika boyunca yıkandı.
A substrat solüsyonu ve B substrat solüsyonu eklenip karanlık ortamda 37°C’de 10 dakika inkübe edildi.
Durdurma solüsyonu eklendi.
Optik dansite (OD) değeri 10 dakika içerisinde 450 nm’de okutuldu.

### 3.8. İstatistiksel analiz

Çalışmaya ait veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Version 28.0 kullanılarak analiz edilmiştir. Kategorik veriler "n (%)", sürekli veriler ise "ortalama ± standart sapma" ya da “ortanca (minimum-maksimum)” olarak raporlanmıştır. Verilerin dağılımı Shapiro-Wilk Testi ile analiz edilmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol ölçümleri ile yapılan karşılaştırmalar için “Bağımlı Örneklem T Testi” kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Katılımcıların Özellikleri

Bu çalışmaya Gen-Art Tüp Bebek Merkezi'ne IVF/ICSI tedavisi için başvuran, PKOS teşhisi konmuş kadınlar ve HGrC1 hücre hattı dahil edildi. Çalışmaya 5 PKOS tanısı almış hasta, 5 kontrol ile HGrC1 hücre hattı dahil edildi. Obezite, hiper-tiroidizm ve hipotiroidizm görülen hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Tablo 3'te PKOS grubu katılımcıların özelliklerine ait veriler gösterilmiştir.

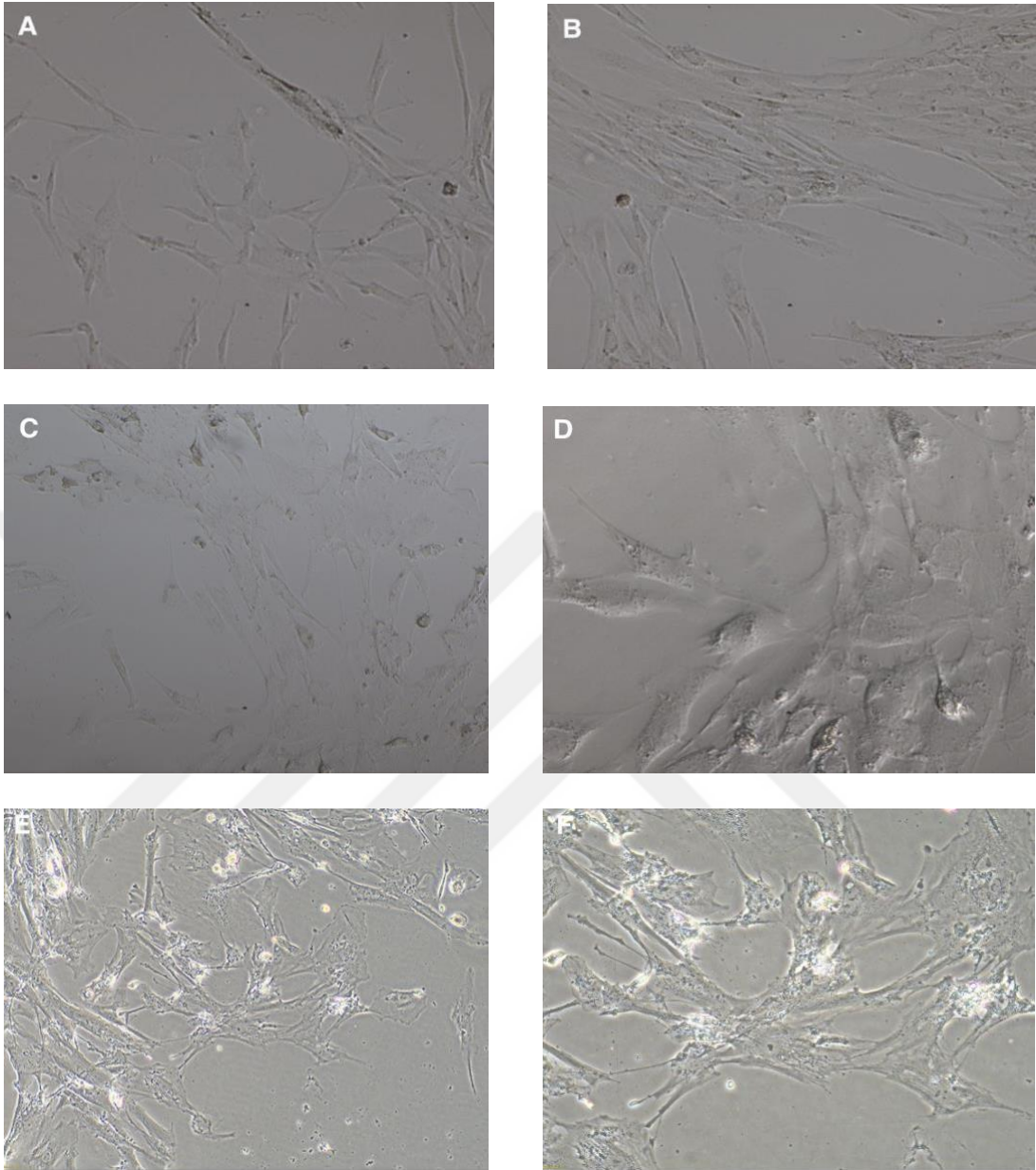
Tablo 3. Katılımcıların demografik ve klinik özellikleri

N=5	
<b>Yaş, yıl</b>	
Ortanca (minimum-maksimum)	32 (26-37)
<b>Vücut Kitle İndeksi, kg/m<sup>2</sup></b>	
Ortanca (minimum-maksimum)	24,77 (22,06-25,71)
<b>Oosit Sayısı, adet</b>	
Ortanca (minimum-maksimum)	10 (8-24)
<b>Sigara Kullanımı, n (%)</b>	
Kullanan	2 (40)
Kullanmayan	3 (60)

#### 4.2. Primer ve HGrC1 Granüloza Hücrelerinin Kültürü

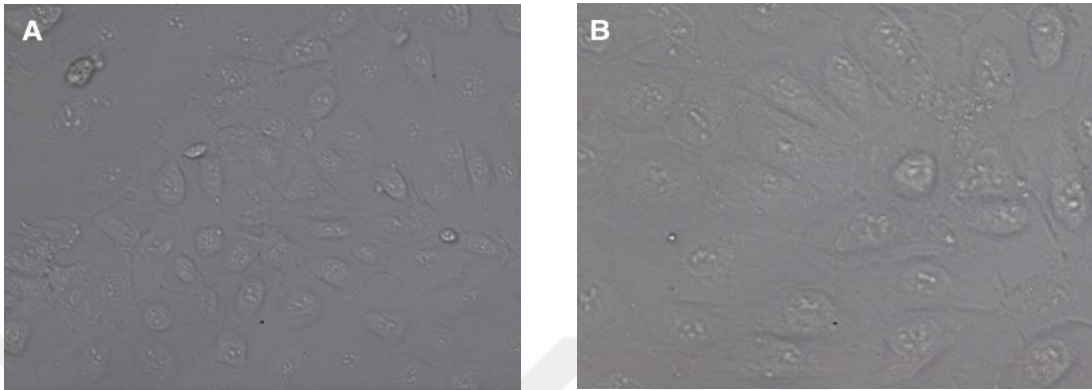
Primer granüloza hücrelerinde OPU sonrası elde edilen oosit sayılarının farklı olması nedeniyle, folikül sıvısı miktarı ve hücre sayıları da farklılık göstermiştir. Her katılımcının atık folikül sıvısından izole edilen hücreler hücre kültürüne alınmıştır. Besiyerlerine Amnioprime eklenen hücrelerin yaklaşık 24 saat, eklenmeyen hücrelerin ise yaklaşık 48 saatte flasklara tamamen tutunduğu gözlemlenmiştir. Hücrelerin uzantıları yardımıyla birbirleriyle temas kurduğu ve uzak kaldıkları bölgelerde az gelişim gösterdikleri gözlemlenmiştir (Şekil 5).





Şekil 5. Granuloza hücrelerinin inverted mikroskop görüntüleri. A, C ve E’de daha küçük büyütmede (20x), B, D ve F’de daha büyük büyütmede (40x) granuloza hücreleri görülmektedir.

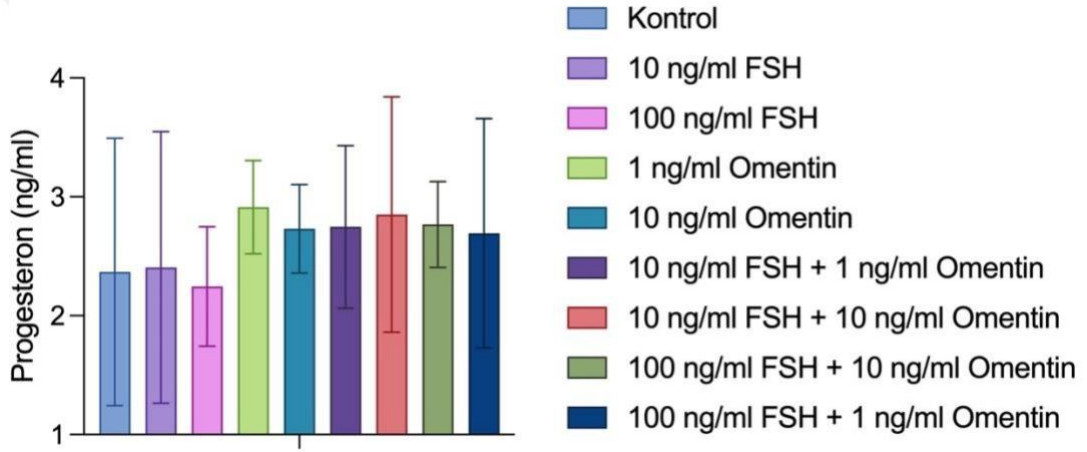
HGrC1 hücrelerinin ise yaklaşık 24-36 saatte flasklara tamamen tutunduğu gözlemlenmiştir (Şekil 6). HGrC1'lerin folikül sıvısından izole edilen granüloza hücrelerine göre daha hızlı tutundukları ve çoğaldıkları görülmüştür.



Şekil 6. HGrC1 hücrelerinin inverted mikroskop görüntüleri. A'da daha küçük (20x), B'de daha büyük büyütmede (40x) granüloza hücreleri görülmektedir.

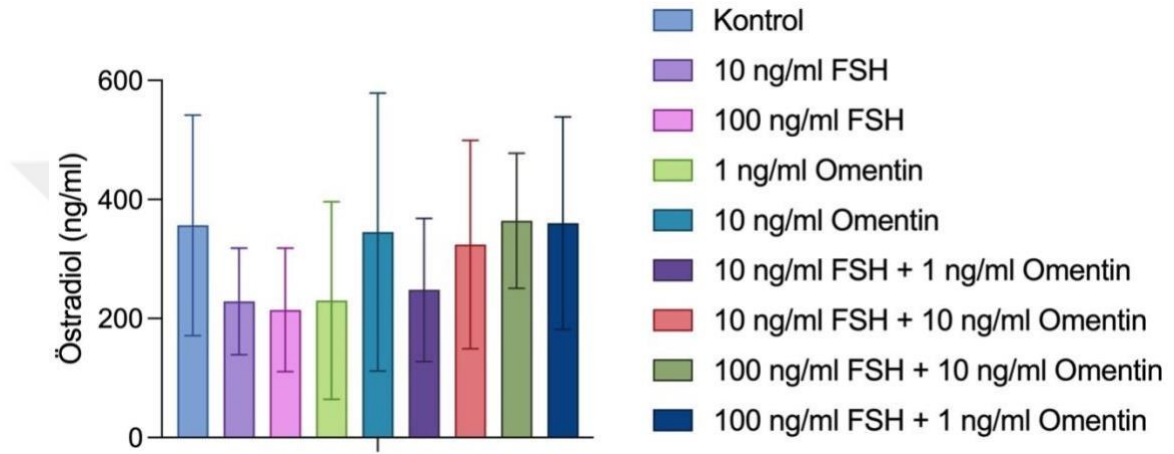
### 4.3. Hücrelerden Salınan Östradiol ve Progesteron Miktarlarının Değerlendirilmesi

Farklı FSH, omentin ve FSH + omentin konsantrasyonları uygulanan hücre süpernatantlarında östradiol ve progesteron miktarları ELISA ile ölçüldü. Sonuçta primer granüloza hücrelerinde 100 ng/ml FSH uygulanan hücrelerde progesteron üretimi anlamlı olmamakla beraber azalmıştır. 10 ng/ml FSH, 1 ng/ml omentin, 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin, 100 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin uygulamalarında progesteron düzeylerinde artış gözlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 7).



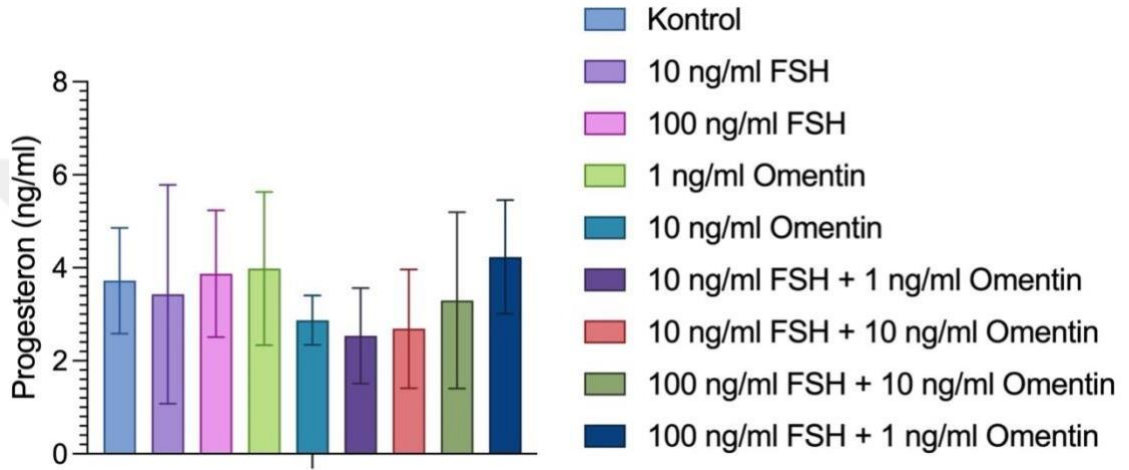
Şekil 7. Omentinin granüloza hücrelerinden progesteron salınması üzerine etkisi

Primer granüloza hücrelerine uygulanan 10 ng/ml FSH, 100 ng/ml FSH, 1 ng/ml omentin, 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin ve 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin dozlarında östradiol seviyelerinde azalma görülmüş olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). 100 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin uygulamalarında ise östradiol değerlerinde artış gözlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 8).



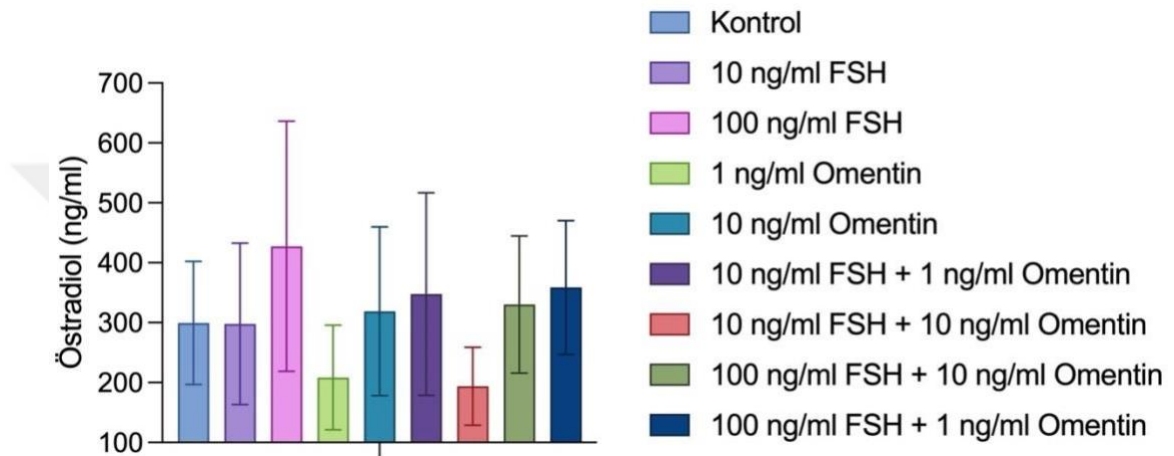
Şekil 8. Omentinin granüloza hücrelerinden östradiol salınması üzerine etkisi

HGrC1 hücrelerinde 10 ng/ml FSH, 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin uygulanan hücrelerin progesteron değerlerinde azalma gözlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ). 100 ng/ml FSH, 1 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin uygulanan hücrelerin progesteron değerlerinde artış görülmüş olup istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ) (Şekil 9).



Şekil 9. Omentinin HGrC1 hücrelerinden progesteron salınması üzerine etkisi

HGrC1 hücrelerinde 10 ng/ml FSH, 1 ng/ml omentin ve 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin uygulanan hücrelerin östradiol düzeylerinde azalma gözlenmiş olup, istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ). 100 ng/ml FSH, 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin, 100 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin ve 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin uygulanan hücrelerin östradiol düzeylerinde de artış görülmüş olup, istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0,05$ ) (Şekil 10).



Şekil 10. Omentinin HGrC1 hücrelerinden östradiol salınması üzerine etkisi

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnfertilite, erkek ve kadın üreme sistemlerini ilgilendiren ve dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen bir sorundur. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2023 yılı verilerine göre üreme çağındaki yaklaşık her altı kişiden birinin infertilite sorunu ile karşılaştığı bilinmektedir (81).

Bilim insanları hem infertilitenin nedenlerini belirlemek hem de doğurganlık oranının artmasını sağlamak için yeni tedavi seçeneklerini araştırmaktadır. Kadın doğurganlığı, granüloza hücresi proliferasyon/apoptoz oranını etkileyen ve dolayısıyla foliküllerin büyümesini, seçimini, ovulasyonunu ve oosit olgunlaşmasını kontrol eden ovaryumdan salgılanan hormonlara bağlıdır (66, 82, 83). Bu nedenle bu mekanizmaların işlevsiz olması veya düzenlenmesi sırasında meydana gelen değişiklikler doğrudan veya dolaylı olarak infertiliteye neden olabilir (67). Doğurganlığı düzenlemek ve üreme bozukluklarını tespit etmek, önlemek ve tedavi etmek için bu süreçleri düzenleyen faktörlerin tanımlanması gerekmektedir.

Yağ dokusu ve diğer dokular tarafından üretilen ve peptit yapıdaki hormonlar olan bazı adipokinlerin granüloza hücrelerinin fonksiyonlarını kontrol ettiği gösterilmiştir (65, 85, 14). Adipokinler üreme ve enerji metabolizması arasında potansiyel bir köprü görevi görür. Bu sebeple PKOS gibi hastalıklarda umut vadeden terapötik bir ajan gibi görülmektedir. Adipokinler noninvaziv bir PKOS belirteci olma potansiyeline sahiptir (85). Yapılan çalışmalarda kadın üreme sisteminde düzenleyici rolü olduğu bilinen bir adipokin olan omentinin serumdaki seviyelerinin PKOS hastalarında azaldığı ve foliküler sıvıda arttığı belirtilmiştir (86). Ancak omentin çalışmalarının çoğu insan serumu veya hayvan granüloza hücreleri ile yapılmıştır. Bu sebeple omentinin PKOS'lu hastaların granüloza hücre kültüründeki etkilerinin araştırılması önem arz etmektedir (80).

Tez çalışması kapsamında *in vitro* ortamda uygulanan omentinin, granüloza hücrelerinden östradiol ve progesteron salınması üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla granüloza hücreleri foliküler sıvıdan izole edildikten sonra kültüre edilerek çoğalmaları sağlanmıştır. Yeterli sayıya ulaşan hücreler toplandıktan sonra farklı dozlarda FSH ve omentin kombinasyonları ile muamele edilerek östradiol ve progesteron seviyelerinin absorbans değerleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür.

PKOS'lu hastaların primer granüloza hücreleriyle yapılan çalışmamızda 100 ng/ml FSH uygulanan hücrelerde progesteron üretimi azalmıştır. Buna karşın 10 ng/ml FSH, 1 ng/ml omentin, 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin, 100 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin uygulamalarında anlamlı olmamakla birlikte progesteron üretimi artmıştır. 2024 yılında kedi granüloza hücreleri ile yapılan bir çalışmada 0,1 ng/ml, 1 ng/ml ve 10 ng/ml konsantrasyonlarındaki omentinin, hücrelerden progesteron salınmasını artırdığı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak 0,1 ng/ml dozu kullanılmamış olup, sonuçlarımız 1 ng/ml ve 10 ng/ml dozları ile uyumludur. Araştırmacılar omentinin hücre proliferasyonu ve apoptoza olan etkisini de araştırmış ve sonuçta foliküler hücrelerde proliferasyonu artırdığı, apoptozu düşürdüğünü göstermişlerdir. Bu da omentinin over hücre fonksiyonlarında fizyolojik bir düzenleyici olabileceğini göstermektedir (66). Aynı araştırmacıların yine 2024 yılında tavşanlar ile yaptığı başka bir çalışmada, 0,1 ng/ml ve 1 ng/ml omentin uygulamalarında kontrole göre progesteron seviyeleri azalmıştır. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak, 1 ng/ml ve 10 ng/ml dozları kullanılmış olup, omentin uygulanması sonucu progesteron seviyelerinde anlamlı olmayan bir artış görülmüştür. Her ne kadar bizim çalışmamızda olduğu gibi kedi granüloza hücrelerine omentin uygulanması sonucu progesteron seviyeleri artmış olsa da, tavşanlarda progesteron seviyelerinin farklı bulunmuş olması, türler arası farklılıkların olabileceğini göstermiştir. Aynı zamanda omentine benzer etkiler gösteren bir adipokin olan resistin ile yapılan çalışmalarda da türler (domuz, sığır, sığan vb.) arası farklılık görülmüştür (87).

Çalışmamızda primer granüloza hücrelerinde 10 ng/ml FSH, 100 ng/ml FSH, 1 ng/ml omentin, 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin ve 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin dozlarında ise östradiol değerleri anlamlı olmamakla beraber azalmıştır.

Ancak 100 FSH + 10 omentin ve 100 FSH + 1 omentin dozlarında anlamlı olmayan bir artış saptanmıştır. Tavşanlar üzerinde yapılan çalışmada omentinin östradiol salınması üzerine etkileri de araştırılmıştır. Çalışmamızla uyumlu olarak bu çalışmada da 1 ng/ml ve 10 ng/ml omentin dozlarında östradiol değerleri azalmıştır (86).

PKOS'lu hastalarda omentin plazma seviyeleri de araştırılmıştır. Menstrual döngüsü düzensiz olan PKOS'lu hastalarda, omentin plazma seviyelerinin düzenli döngüye sahip kişilerden farklı olması, omentinin ovaryal ve menstrual döngüleri düzenleyen hormonları etkilediğini göstermektedir. Dolayısıyla omentin PKOS patolojisinin anlaşılması için önemlidir. 2014 yılında insan granüloza hücreleriyle yapılan başka bir çalışmada, omentin seviyelerinin kontrole göre plazma ve foliküler sıvıda benzer olduğu, ancak PKOS hastalarının foliküler sıvılarında plazmadan daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada araştırmacılar FSH ( $10^{-8}M$ ) ve omentin (250 ng/ml) uygulamalarının granüloza hücrelerinden progesteron ve östradiol salgılanmasını artırdığı göstermiştir (17). Bu çalışmada tek doz FSH ve tek doz omentin kullanılmış olup çalışmamızda farklı dozların östradiol ve progesteron salınması üzerine farklı etkileri olabileceği gösterilmiştir.

Ovulasyon öncesinde nonluteinize olan granüloza hücreleri, ovulasyon ile hücrelerin büyüdüğü ve progesteron salgılanmasının arttığı luteinizasyon sürecine girer. Luteinize granüloza hücrelerinde çeşitli steroidojenik enzimlerin ekspresyonu görülür ve bu sayede bu hücrelerde östradiol ve progesteron üretimi gerçekleşir (88, 89). Nonluteinize granüloza hücrelerinde de bu enzimlerin ekspresyonu görülür. Ancak bu hücreler hormon üretiminde birincil rolde olmayıp destekleyici görev üstlenir (88). Dolayısıyla nonluteinize ve luteinize granüloza hücrelerinin FSH gibi uyaranlara verdikleri tepkiler farklı olabilir. Çalışmamızda nonluteinize HGrC1 hücrelerine uygulanan 100 ng/ml FSH, 1 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH + 1 ng/ml omentin dozları ile progesteron salgılanması kontrol grubuna göre artsa da anlamlı değildir. 10 ng/ml FSH, 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH+10 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH + 10 ng/ml omentin dozlarının ise progesteron üretimini azalttığı görülmüştür. Çalışmamızdan farklı olarak tavşan granüloza hücreleri ile yapılan çalışmada, nonluteinize granüloza ve teka hücrelerini içeren over kültürüne farklı dozlarda omentin uygulanmıştır. Bunun sonucunda progesteron seviyelerinin tüm dozlarda (0,1 ng/ml, 1

ng/ml ve 10 ng/ml) düştüğü saptanmıştır (86). Bizim çalışmamızda ise 1 ng/ml omentin uygulamasında progesteron seviyelerinde artış, 10 ng/ml omentin uygulamasında ise azalma görülmüştür. Fakat bu artış ve azalmalar anlamlı değildir. Kullandığımız HGrC1 hücre hattının insan kaynaklı olması, tavşan kaynaklı primer granüloza hücrelerinde farklı sonuçların görülmesine sebep olmuş olabilir.

HGrC1 hücrelerine uygulanan 10 ng/ml FSH+10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH ve 1 ng/ml omentin ile östradioldeki azalma anlamlı bulunmamıştır. 100 ng/ml FSH, 10 ng/ml omentin, 10 ng/ml FSH+1 ng/ml omentin, 100 ng/ml FSH+10 ng/ml omentin ve 100 ng/ml FSH+1 ng/ml omentin dozlarında ise, östradiol değerlerindeki artış anlamlı değildir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak tavşanlarla yapılan çalışmada, over parçalarına 0,1ng/ml, 1 ng/ml ve 10 ng/ml omentin uygulanmış olup, 1ng/ml ve 10 ng/ml uygulamalarında östradiol seviyeleri artış göstermiştir (86). Östradiol seviyelerinde çıkan farklı sonuçlar progesteronda olduğu gibi türler arası farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

Kadın üreme sisteminde önemli bir hormon olan FSH, granüloza hücrelerindeki hedef reseptörüne bağlanarak gonadal gelişim ve olgunlaşmada anahtar bir rol oynar. Foliküler olgunlaşmada bir bozulma varsa, FSH aktivitesi gerçekleşmeyecektir (90). İnsan granüloza hücreleriyle yapılan bir çalışmada, 10 ng/ml FSH uygulaması ile progesteron seviyesinin azaldığı, ancak 100 ng/ml FSH ile uyarılan hücrelerde progesteron seviyesinin arttığı gösterilmiştir (87). Bizim çalışmamızda ise 10 ng/ml FSH uygulaması progesteron düzeylerini artırırken, 100 ng/ml FSH uygulaması progesteron düzeylerini azaltmıştır. Aynı çalışmada östradiol seviyeleri 10 ng/ml FSH uygulaması ile değişmezken, 100 ng/ml FSH uygulandığında azalmıştır. Çalışmamızda ise iki dozda (10 ng/ml ve 100 ng/ml) da östradiol seviyelerinde azalma gösterilmiştir.

IVM tedavisi gören hastalardan alınan nonluteinize hücrelerdeki hormon salınımlarının IVF hastalarından alınan luteinize granüloza hücreleriyle karşılaştırıldığı bir çalışmada, nonluteinize hücrelerdeki progesteron sentezinin FSH ve hCG uygulanan hücrelere göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (91). Bizim çalışmamızda ise 10 ng/ml FSH uygulamasının progesteron sentezini azalttığı, ancak 100 ng/ml FSH uygulamasının progesteron sentezini anlamlı olmayan şekilde artırdığı gösterilmiştir. IVM hastalarından

elde edilen granüloza hücreleri henüz luteinize değillerdir. Bu hücreler hakkında daha fazla bilgi edinmek, foliküler gelişimin ve oosit olgunlaşmasının son aşamaları hakkındaki bilgimizi artıracaktır. HGrC1 hücrelerine uygulanan 10 ng/ml FSH uygulamasının östradiol miktarını anlamlı olmayan şekilde azalttığı, ancak 100 ng/ml FSH uygulamasının östradiol miktarını artırdığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada östradiol konsantrasyonlarının FSH ve hCG uyarımı ile arttığı bildirilmiştir (91). Nonluteinize olan HGrC1 hücrelerinde daha yüksek dozda FSH uygulanması ile, beklenildiği gibi östradiol ve progesteron seviyeleri artmıştır.

Çalışmamızın amaçlarından biri de granüloza hücrelerinde östradiol ve progesteron salgılanması artırdığı bilinen FSH'nin uyarıcı etkisinin omentin tarafından düzenlenip düzenlenemeyeceğinin gösterilmesiydi. Bu amaçla omentin ve FSH'nin farklı dozlardaki kombinasyonları kullanıldı. İnsan granüloza hücrelerinde omentin ve FSH kombinasyonlarının östradiol ve progesteron salınmasına etkilerinin değerlendirildiği çalışma sayısı sınırlıdır. Omentinin proliferatif, anjiyogenik ve insülin duyarlı olması gibi özellikleri, başka bir adipokin olan resistin ile benzerlik göstermektedir (86, 14). 2019 yılında yapılan bir çalışmada granüloza hücrelerine farklı resistin ve FSH kombinasyonları uygulanmıştır. FSH (100 ng/ml) ve resistin (1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml) beraber uygulandığında resistin, FSH'nin östradiol ve progesteron salgılanması üzerindeki uyarıcı etkisini ortadan kaldırmıştır (87). Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak 100 ng/ml FSH, omentin ile birlikte uygulandığında östradiol ve progesteron seviyeleri artmıştır. Bu sayede FSH'nin uyarıcı etkisinin omentin ile artırabileceği görülmüştür.

Ovaryum tarafından üretilen adipokinler folikülogenezi, ovulasyonu ve steroidogenezi parakrin ve otokrin şekilde düzenleyebilir. Bir adipokin olan omentinin kadın üreme sistemindeki rolü hakkında sınırlı veri bulunmaktadır. Buradan yola çıkılarak yapılan tez çalışmasında farklı dozlarda uygulanan omentinin granüloza hücrelerinde östradiol ve progesteron salınmasını değiştirdiği görülmüştür. Böylece omentinin hem luteinize hem de nonluteinize granüloza hücreleri üzerindeki etkisi hakkında yeni bulgular elde edilmiştir. Buna ek olarak FSH'nin granüloza hücreleri üzerindeki uyarıcı etkisinin omentin tarafından doza bağımlı olarak düzenlenebileceği gösterilmiştir. Literatürde omentinin etkileri hakkında birbirleriyle çelişen bulgular vardır. Bu sebeple omentinin

nonluteinize ve luteinize granüloza hücreleri üzerine etkilerini ve PKOS patofizyolojisindeki rolünü anlamak için hasta sayısı artırılmalı ve bu çalışmalar moleküler yöntemler ile desteklenmelidir. Ayrıca çeşitli hayvan türleri ve insanlar arasındaki sonuçlarda görülen farklılıklar göz ardı edilmemelidir.



## KAYNAKLAR

1. De Ziegler D, Streuli I, Gayet V, Frydman N, Bajouh O, et al. Oocytes from small non-stimulated follicles in polycystic ovary syndrome (PCOS): In vitro maturation (IVM) is not indicated in the new GnRH antagonist era. *Fertil Steril*. 2012 Aug;98(2):290–3.
2. Pectasides D, Pectasides E, Psyrris A. Granulosa cell tumor of the ovary. *Cancer Treatment Reviews*. 2008 Feb;34(1):1-12.
3. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Primavera MR, Cecconi S, et al. Human embryo development and pregnancies in an homologous granulosa cell coculture system. *J Assist Reprod Genet*. 2000 Jan;17(1):1-12.
4. Bulsara J, Patel P, Soni A, Acharya S. A review: Brief insight into polycystic ovarian syndrome. *Endocrine and Metabolic Science*. 2021 Jun;3:100085.
5. Dumont A, Robin G, Dewailly D. Anti-müllerian hormone in the pathophysiology and diagnosis of polycystic ovarian syndrome. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity*. 2018 Dec;25(6):377-84.
6. Siddiqui S, Mateen S, Ahmad R, Moin S. A brief insight into the etiology, genetics, and immunology of polycystic ovarian syndrome (PCOS). *J Assist Reprod Genet*. 2022 Nov;39(11):2439-73.
7. Deans R. Polycystic ovary syndrome in adolescence. *Medical Sciences*. 2019 Oct 2;7(10):101.
8. Witchel SF, Oberfield SE, Peña AS. Polycystic ovary syndrome: pathophysiology, presentation and treatment with emphasis on adolescent girls. *Journal of the Endocrine Society*. 2019 Aug 1;3(8):1545-73.
9. Bednarska S, Siejka A. The pathogenesis and treatment of polycystic ovary syndrome: What's new?. *Adv Clin Exp Med*. 2017 Apr 27;26(2):359-67.
10. Ganie M, Vasudevan V, Wani I, Baba M, Arif T, et al. Epidemiology, pathogenesis, genetics & management of polycystic ovary syndrome in India. *Indian J Med Res*. 2019;150(4):333.
11. Lorenzo P, García-García R, Arias-Álvarez M, Rebollar P. Reproductive and nutritional management on ovarian response and embryo quality on rabbit does. *Reprod Domest Anim*. 2014;49:49–55.
12. Estienne A, Bongrani A, Reverchon M, Ramé C, Ducluzeau P, et al. Involvement of novel adipokines, chemerin, visfatin, resistin and apelin in reproductive functions in normal and pathological conditions in humans and animal models. *IJMS*. 2019 Sep 9;20(18):4431.
13. Warzych E, Lipinska P. Energy metabolism of follicular environment during oocyte growth and maturation. *J Reprod Dev*. 2020;66(1):1–7.
14. Nikanfar S, Oghbaei H, Rastgar Rezaei Y, Zarezadeh R, Jafari-gharabaghloou D, et al. Role of adipokines in the ovarian function: Oogenesis and steroidogenesis. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2021 May; 209:105852.

15. Recinella L, Orlando G, Ferrante C, Chiavaroli A, Brunetti L, et al. Adipokines: new potential therapeutic target for obesity and metabolic, rheumatic, and cardiovascular diseases. *Front Physiol.* 2020 Oct 30;11.
16. Reverchon M, Ramé C, Bertoldo M, Dupont J. Adipokines and the female reproductive tract. *international journal of endocrinology.* 2014;2014:1-10.
17. Cloix L, Reverchon M, Cornuau M, Froment P, Ramé C, et al. Expression and regulation of INTELECTIN1 in human granulosa-lutein cells; role in IGF-1-induced steroidogenesis through NAMPT1. *Biology of Reproduction.* 2014 Aug 1;91(2).
18. Ozan H. *Ozan Anatomi.* 3 ed., Klinisyen Tıp Kitabevleri, Ankara, 2014.
19. Kuruş M. *Histoloji.* 1 ed., Akademisyen Kitabevi, Ankara, 2020.
20. Sadler T.W. *Langman Medikal Embriyoloji.* 13 ed., Palme Yayınevi, Ankara, 2022.
21. Moore KM, Persaud TVN. 6. ed., *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi,* Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002.
22. Eşrefoğlu M. *Özel Histoloji.* 2 ed., İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul, 2016.
23. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi.* 1 ed., Palme Yayınevi, Ankara, 2006.
24. Oktem O, Urman B. Understanding follicle growth in vivo. *Human Reproduction.* 2010 Dec 1;25(12):2944-54.
25. Fortune J, Cushman R, Wahl C, Kito S. The primordial to primary follicle transition. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2000 May;163(1-2):53-60.
26. Wassarman PM. Zona pellucida glycoproteins. *Journal of Biological Chemistry.* 2008 Sep;283(36):24285-9.
27. Litscher ES, Wassarman PM. Zona pellucida proteins, fibrils and matrix. *Annu Rev Biochem.* 2020 Jun 20;89(1):695-715.
28. Rodgers R, Lavranos T, van Wezel I, Irving-Rodgers H. Development of the ovarian follicular epithelium. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 1999 May;151(1-2):171-9.
29. Young JM, McNeilly AS. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction.* 2010 Oct;140(4):489-504.
30. Ross M. H., Pawlina W., *Histoloji, Konu Anlatımı ve Atlas.* 6 ed., Palme Yayınevi, Ankara, 2014.
31. Gougeon, A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr. Rev.* 1996, 17, 121–155.
32. Di Pietro M, Pascuali N, Parborell F, Abramovich D. Ovarian angiogenesis in polycystic ovary syndrome. *Reproduction.* 2018 May;155(5):R199-R209.
33. Esencan E, Beroukhim G, Seifer DB. Age-related changes in folliculogenesis and potential modifiers to improve fertility outcomes-a narrative review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022 Nov 17;20(1)
34. Uyar A, Torrealday S, Seli E. Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality. *Fertility and Sterility.* 2013 Mar;99(4):979-97.
35. Nguyen T, Lee S, Hatzirodos N, Hummitzsch K, Sullivan TR, et al. Spatial differences within the membrana granulosa in the expression of focimatrix and steroidogenic capacity. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2012 Nov;363(1-2):62-73.
36. Findlay JK, Kerr JB, Britt K, Liew SH, Simpson ER, et al. Ovarian physiology: follicle development, oocyte and hormone relationships *Anim. Reprod.* 2009 Mar; 6(1):16-19,

37. Dompe C, Kulus M, Stefańska K, Kranc W, Chermuła B, et al. Human granulosa cells-stemness properties, molecular cross-talk and follicular angiogenesis. *Cells*. 2021 Jun 5;10(6):1396.
38. Galvão AM, Ferreira-Dias G, Skarzynski DJ. Cytokines and angiogenesis in the corpus luteum. *Mediators of inflammation*. 2013;2013:1-11.
39. Kałużna S, Bryl R, Chermuła B, Sibiak R, Stefańska K, et al. Expression of genes involved in the inflammatory response in human granulosa cells in short-term in vitro culture. *Medical Journal of Cell Biology*. 2020 Dec 31;8(4):190-5.
40. Itriyeva K. The normal menstrual cycle. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. 2022 May;52(5):101183.
41. Monis CN, Tetrokalashvili M. Menstrual cycle proliferative and follicular phase. In: *StatPearls*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542229> (2023).
42. Mihm M, Gangooly S, Muttukrishna S. The normal menstrual cycle in women. *Animal Reproduction Science*. 2011 Apr;124(3-4):229-36.
43. Yamaguchi M, Yoshihara K, Suda K, Nakaoka H, Yachida N, et al. Three-dimensional understanding of the morphological complexity of the human uterine endometrium. *iScience*. 2021 Apr;24(4):102258.
44. Adams JM, Taylor AE, Schoenfeld DA, Crowley WF, Hall JE. The midcycle gonadotropin surge in normal women occurs in the face of an unchanging gonadotropin-releasing hormone pulse frequency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1994 Sep;79(3):858-64.
45. Henley DV, Lindzey J, Korach KS. Steroid hormones. In: *Endocrinology: basic and clinical principles*. Humana press, Totowa, NJ, 2005, p49-65.
46. Chou CH, Chen MJ, The effect of steroid hormones on ovarian follicle development in: *Vitamins and Hormones*, Volume 107 Academic Press Inc., 2018, p155-175.
47. Xu X, Huang Z, Yu K, Li J, Fu X, et al. Estrogen biosynthesis and signal transduction in ovarian disease. *Front Endocrinol*. 2022 Mar 1;13.
48. de Ziegler D, Brioschi P, Benchaa C, Campana A, Ditesheim P, et al. Programming ovulation in the menstrual cycle by a simple innovative approach: back to the future of assisted reproduction. *Fertility and Sterility*. 1999 Jul;72(1):77-82.
49. Kumar P, Magon N. Hormones in pregnancy. *Niger Med J*. 2012 Oct;53(4):179-83.
50. Al-Asmakh M, Reproductive functions of progesterone. *Middle East Fertility Society Journal*, 2007;12:147-52.
51. Mittelman-Smith MA, Rudolph LM, Mohr MA, Micevych PE. Rodent models of non-classical progesterone action regulating ovulation. *Front Endocrinol*. 2017 Jul 24;8.
52. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, et al. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Fertility and Sterility*. 2017 Sep;108(3):393-406.
53. Anwar S, Anwar A. Infertility a review on causes, treatment and management. *Women's Health Gynecol*. 2016;2(6):1-5.
54. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, 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 Nov 1;91(11):4237-45.
55. Rasquin LI, Anastasopoulou C, Mayrin JV. Polycystic ovarian disease. In: *StatPearls*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459251> (2022).

56. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF et al. The androgen excess and PCOS society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertility and Sterility*. 2009 Feb;91(2):456-88.
57. Jayaprakasan K, Chan Y, Islam R, Haoula Z, Hopkisson J, et al. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. *Fertility and Sterility*. 2012 Sep;98(3):657-63.
58. Carmina E, Napoli N, Longo RA, Rini GB, Lobo RA. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome (PCOS): lower prevalence in southern Italy than in the USA and the influence of criteria for the diagnosis of PCOS. *eur j endocrinol*. 2006 Jan;154(1):141-5.
59. Ibáñez L, Oberfield SE, Witchel S, Auchus RJ, Chang RJ, et al. An International consortium update: pathophysiology, diagnosis, and treatment of polycystic ovarian syndrome in adolescence. *Horm Res Paediatr*. 2017;88(6):371-95.
60. Clemente-Suárez VJ, Redondo-Flórez L, Beltrán-Velasco AI, Martín-Rodríguez A, Martínez-Guardado I, et al. The role of adipokines in health and disease. *Biomedicines*. 2023 Apr 27;11(5):1290.
61. Campos DB, Palin M, Bordignon V, Murphy BD. The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility. *Int J Obes*. 2008 Feb;32(2):223-31.
62. Azamar-Llamas D, Hernández-Molina G, Ramos-Ávalos B, Furuzawa-Carballeda J. Adipokine contribution to the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of Inflammation*. 2017;2017:1-26.
63. Palin MF, Bordignon VV, Murphy BD. Adiponectin and the control of female reproductive functions. *Vitam Horm*. 2012;90:239-87.
64. Torre SD, Benedusi V, Fontana R, Maggi A. Energy metabolism and fertility-a balance preserved for female health. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Jan;10(1):13-23.
65. Kurowska P, Mlyczyńska E, Dawid M, Sierpowski M, Estienne A, et al. Adipokines change the balance of proliferation/apoptosis in the ovarian cells of human and domestic animals: A comparative review. *Animal Reproduction Science*. 2021 May;228:106737.
66. Sirotkin AV, Fabová Z, Loncová B, Bauerová M, Harrath AH. The adipokines progranulin and omentin can directly regulate feline ovarian granulosa cell functions. *Research in Veterinary Science*. 2024 Aug;175:105321.
67. Silvestris E, de Pergola G, Rosania R, Loverro G. Obesity as disruptor of the female fertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018 Dec;16(1).
68. Hussein AA, Ahmed NA, Sakr HI, Atia T, Ahmed OM. Omentin roles in physiology and pathophysiology: an up-to-date comprehensive review. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2023 Nov 23;1-14.
69. Recinella L, Orlando G, Ferrante C, Chiavaroli A, Brunetti L, et al. Adipokines: new potential therapeutic target for obesity and metabolic, heumatic, and cardiovascular diseases. *Front Physiol*. 2020 Oct 30;11.
70. de Souza Batista CM, Yang R, Lee M, Glynn NM, Yu D, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 2007 Jun 1;56(6):1655-61.
71. Auguet T, Quintero Y, Riesco D, Morancho B, Terra X, et al. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Med Genet*. 2011 Dec;12(1).
72. Yang R, Lee M, Hu H, Pray J, Wu H, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating

- insulin action. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2006 Jun;290(6):E1253-E1261.
73. Moreno-Navarrete JM, Catalán V, Ortega F, Gómez-Ambrosi J, Ricart W, et al. Circulating omentin concentration increases after weight loss. *Nutr Metab*. 2010 Dec;7(1).
  74. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Lewandowski KC, O'Hare P, et al. Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes*. 2008 Apr 1;57(4):801-8.
  75. Mahde A, Shaker M, Al-Mashhadani Z. Study of omentin1 and other adipokines and hormones in PCOS patients. *Oman Med J*. 2009 Apr;24(2):108-18.
  76. Barker G, Lim R, Georgiou HM, Lappas M. Omentin-1 is decreased in maternal plasma, placenta and adipose tissue of women with pre-existing obesity. *PLoS ONE*. 2012 Aug 28;7(8):e42943.
  77. Dupont J, Pollet-Villard X, Reverchon M, Mellouk N, Levy R. Adipokines in human reproduction. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. 2015 Oct 1;24(1):11-24.
  78. Özgen İT, Oruçlu Ş, Selek S, Kutlu E, Guzel G, et al. Omentin-1 level in adolescents with polycystic ovarian syndrome. *Pediatrics International*. 2019 Feb;61(2):147-51.
  79. Zhai Y, Pang Y. Systemic and ovarian inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Reproductive Immunology*. 2022 Jun;151:103628.
  80. Bongrani A, Mellouk N, Rame C, Cornuau M, Guérif F, et al. Ovarian expression of adipokines in polycystic ovary syndrome: a role for chemerin, omentin, and apelin in follicular growth arrest and ovulatory dysfunction?. *IJMS*. 2019 Aug 2;20(15):3778.
  81. Shah PK, Gher JM. Human rights approaches to reducing infertility. *Intl J Gynecology & Obste*. 2023 Jul;162(1):368-74.
  82. Li L, Shi X, Shi Y, Wang Z. The signaling pathways involved in ovarian follicle development. *Front Physiol*. 2021 Sep 20;12.
  83. Peluso JJ. Progesterone signaling and mammalian ovarian follicle growth mediated by progesterone receptor membrane component family members. *Cells*. 2022 May 13;11(10):1632.
  84. Loncová B, Fabová Z, Sirotkin AV. Involvement of obestatin, cyclin-dependent kinase and protein kinase C in control of feline ovarian cell viability and hormones release. *Reproductive Biology*. 2021 Dec;21(4):100560.
  85. Schüller-Toprak S, Ortmann O, Buechler C, Treeck O. The complex roles of adipokines in polycystic ovary syndrome and endometriosis. *Biomedicines*. 2022 Oct 7;10(10):2503.
  86. Sirotkin AV, Fabová Z, Loncová B, Bauerová M, Halim Harrath A. The adipokines progranulin and omentin-novel regulators of basic ovarian cell functions. *Reprod Biol Endocrinol*. 2024 Apr 4;22(1).
  87. Messini CI, Vasilaki A, Korona E, Anifandis G, Georgoulis P, et al. Effect of resistin on estradiol and progesterone secretion from human luteinized granulosa cells in culture. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2019 Sep 3;65(5):350-6.
  88. Yusufoglu S, Benlioglu C, Ghafouri Kalajahi H, Keles I, Ahmetoglu Z, et al. Comparative and descriptive molecular analysis of cumulus and luteinized mural granulosa cells for steroidogenic function in IVF patients. *Proceedings of the 40th Hybrid Annual Meeting of the ESHRE*, p 661, 2024, Amsterdam.

89. Bildik G, Akin N, Seyhan A, Esmaeilian Y, Yakin K, et al. Luteal granulosa cells from natural cycles are more capable of maintaining their viability, steroidogenic activity and LH receptor expression than those of stimulated IVF cycles. *Human Reproduction*. 2019 Feb 1;34(2):345-55.
90. Hashemi, AH, Mozdarani H, and Naghavi A. Comparison of the levels of LH and FSH, TSH, prolactin, progesterone and estradiol hormones between Iranian infertile women with polycystic ovary syndrome and healthy women. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*. 2016, 5(12), 370-375.
91. Lindeberg M, Carlström K, Ritvos O, Hovatta O. Gonadotrophin stimulation of non-luteinized granulosa cells increases steroid production and the expression of enzymes involved in estrogen and progesterone synthesis. *Human Reproduction*. 2007 Feb;22(2):401-6.





**EKLER**

## EK 1. Etik Kurul Karar Formu

YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ  
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İşçi Blokları Mahallesi 1505. Cd. No: 18/A, 06530 Çankaya/Ankara
	TELEFON	(+90 312) 3291010
	FAKS	(+90 312) 3291015
	E-POSTA	goack@yiu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"İnsan Granüloza Hücre Kültüründe Omentinin Östradiol ve Progesteron Salınması Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi"			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Histoloji ve Embriyoloji AD.			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Yüksek İhtisas Üniversitesi			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Doktora tezi	<input type="checkbox"/>		
		Yüksek lisans tezi	<input checked="" type="checkbox"/>		
		Uzmanlık Tezi	<input type="checkbox"/>		
		Bireysel Araştırma	<input type="checkbox"/>		
Diğer Bilimsel Araştırmalar		<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

## EK 1. Etik Kurul Karar Formu (Devam)

YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ  
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	BAŞVURU FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>				
	BAŞVURU DİLEKÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	TÜM ARAŞTIRMACILARIN GÜNCEL ÖZGEÇMİŞLERİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	PROJE METNİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	UNİTE AMİRİ/ANABİLİM DALI BAŞKANI/DEKAN ONAYI VEYA AKADEMİK KURUL KARARI	<input checked="" type="checkbox"/>				
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	İKU TAAHHÜTNAMESİ'NİN OKUNDUĞUNA DAİR BELGE	<input checked="" type="checkbox"/>				
	HELSİNKİ BİLDİRGESİ'NİN OKUNDUĞUNA DAİR BELGE	<input checked="" type="checkbox"/>				
MAKALELER	<input checked="" type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	<b>Karar No: 2023/02/04</b>	<b>Tarih: 31.03.2023</b>				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmann/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmann/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ÇALIŞMA ESASI		HELSİNKİ BİLDİRGESİ, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Zühal AKTUNA				
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Zühal AKTUNA	Tıbbi Farmakoloji	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Feyza Aşenur PAÇ	Pediyatrik Kardiyoloji	Memorial Ankara Hastanesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mevlüde KARADAĞ	Cerrahi Hastalıklar Hemşireliği	Yüksek İhtisas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÇEVİK	Tıbbi Biyoloji	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Leyla ÖZER	Tıbbi Genetik	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ	Histoloji ve Embriyoloji	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

## EK 1. Etik Kurul Karar Formu (Devam)

YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ  
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

Dr. Öğr. Üyesi Alişan BALTACI	Yönetim Bilimi	Yüksek İhtisas Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
----------------------------------	----------------	---	---------------------------------------	----------------------------	----------------------------	---------------------------------------	---------------------------------------	----------------------------	---

## EK 2. Tez Başlığı Değişikliği Etik Kurul Kararı



T.C.  
YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ  
Girişimsel Olmayan Etik Kurul Başkanlığı

Toplantı Tarihi: 22.02.2023  
Toplantı Sayısı: 2023/01  
Karar No: 01/14

Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ'nün kurulumuzdan 31.03.2023 tarihinde Karar No: 2023/02/04 ile onay alan "İnsan Granüloza Hücre Kültüründe Omentinin Östradiol ve Progesteron Salınımı Üzerine Etkileri" adlı çalışmanın başlığının "İnsan Granüloza Hücre Kültüründe Omentinin Östradiol ve Progesteron Salınması Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi" şeklinde değiştirilmesine ilişkin talepleri kurul üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve bu değişikliğin uygun olacağına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.

YÜKSEK İHTİSAS ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU								
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Zühal AKTUNA						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Katılım *	İmza
Prof. Dr. Zühal AKTUNA	Tıbbi Farmakoloji	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	[Redacted]
Prof. Dr. Feyza Ayşenur PAÇ	Pediyatrik Kardiyoloji	Memorial Ankara Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	[Redacted]
Prof. Dr. Mevlüde KARADAĞ	Cerrahi Hastalıklar Hemşireliği	Yüksek İhtisas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	[Redacted]
Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÇEVİK	Tıbbi Biyoloji	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	[Redacted]
Dr. Öğr. Üyesi Leyla ÖZER	Tıbbi Genetik	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	[Redacted]
Dr. Öğr. Üyesi Çağla Zübeyde KÖPRÜ	Histoloji ve Embriyoloji	Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Alişan BALTACI	Yönetim Bilimi	Yüksek İhtisas Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	[Redacted]

## EK 3. Olgu Grubu Rapor Formu

**Olgu Rapor Formu**

Tarih: \_\_/\_\_/\_\_

Adı, Soyadı: \_\_\_\_\_

Giriş Kayıt/Dosya no.: \_\_\_\_\_

Yaş: \_\_\_\_

Boy / Kilo: \_\_\_\_/\_\_\_\_

Tel. no: \_\_\_\_\_

Sigara kullanımı: \_\_\_\_\_

Daha önce geçirdiği ameliyat/hastalıklar:

\_\_\_\_\_

Kliniğe başvuru şikayet(ler)i:

\_\_\_\_\_

Kronik hastalıklar:

\_\_\_\_\_

Kullandığı ilaçlar:

\_\_\_\_\_

Notlar:

\_\_\_\_\_

## EK 4. PKOS Hastaları İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

### BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

**Araştırmanın Adı:** İnsan Granüloza Hücre Kültüründe Omentinin Östradiol ve Progesteron Salınması Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Bu araştırma üremeye yardımcı teknikler kullanılarak, ICSI/IVF (tüp bebek) tedavisi gören hastalardan yumurta toplama işlemi sonrası imha edilen materyal kullanılarak yapılacaktır. Araştırmamız sırasında size aldığımız tedavi dışında herhangi bir ek tedavi uygulanmayacaktır. Maruz kalacağınız herhangi bir öngörülen risk veya rahatsızlık olmayacaktır. Bu çalışmada elde edilen materyalden hormon salınım düzeylerinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Böylelikle bu çalışmanın kısırlık tedavisi için fayda sağlaması beklenmektedir ve ileride benzer bir klinik bulgusu olan kişilerin tedavisinde yol gösterici olacaktır.

Bu araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkına sahipsiniz. Ayrıca sorumlu araştırmacı gerek duyarsa sizi çalışma dışı bırakabilir. Çalışmaya katılmama, çalışmadan çıkma veya çıkarılma durumlarında bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır. Araştırma konusu ile ilgili ve araştırmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler edinildiğinde siz ya da kanuni temsilciniz zamanında bilgilendirileceksiniz.

Kimliğinizi ortaya çıkaracak kayıtlar tamamen gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacak, araştırma sonuçlarının yayınlanması halinde bile kimliğiniz gizli kalacaktır. Bu formu imzalamanız halinde, araştırmaya katılan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoriteleri gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişim sağlayabilir, ancak bu bilgilerin gizli tutulması sağlanacaktır.

#### **Araştırmanın Yapılacağı Yer(ler):**

Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrojen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi  
Gen-Art Tüp Bebek Merkezi

#### **İletişim Kurulacak Kişi(ler):**

Dr.Tolga ECEMİŞ (05058017306)  
Dr.Çağla Zübeyde KÖPRÜ (05303304470)  
Arş.Gör.Pınar TARIKAHYA (05534446033)

Ben, ..... [gönüllünün adı, soyadı (kendi el yazısı ile)]  
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama yapıldı. Katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi ve araştırmadan ayrıldığım zaman mevcut tedavimin olumsuz yönde etkilenmeyeceğini biliyorum.

#### **Gönüllü Parafı:**

## EK 4. PKOS Hastaları İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu (Devam)

**BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU****Bu koşullarda;**

- 1) Söz konusu Klinik Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.
- 2) Gerek duyulursa kişisel bilgilerime mevzuatta belirtilen kişi/kurum kuruluşların erişebilmesine,
- 3) Çalışmada elde edilen bilgilerin (*kimlik bilgilerim gizli kalmak koşulu ile*) yayın için kullanılma, arşivleme ve eğer gerek duyulursa bilimsel katkı amacı ile ülkemiz dışına aktarılmasına olur veriyorum.

**Gönüllünün (Kendi el yazısı ile)****Adı-Soyadı:****İmzası:****Adresi:****Varsa Telefon No, Faks No:****Tarih (gün/ay/yıl): ..../..../....****Araştırma Ekibinde Yer Alan ve Açıklamaları Yapan Araştırmacının****Adı-Soyadı:****İmzası:****Tarih (gün/ay/yıl):.../.../.....**

*NOT: Bu formun bir kopyası gönüllüde kalacak, diğer kopyası ise hasta dosyasına yerleştirilecektir.*

**Gönüllü Parafı:**