



T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DHEA İLE İNDÜKLENEN PKOS FARE MODELİNDE
NARİNGENİN'İN ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE ÜZERİNE
OLAN KORUYUCU ETKİLERİ**

ÖZLEM DELİBAŞ

0000-0002-1764-6807

**DOKTORA TEZİ
TIBBİ HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

SIVAS

ARALIK 2024

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DHEA İLE İNDÜKLENEN PKOS FARE MODELİNDE
NARİNGENİN'İN ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE ÜZERİNE
OLAN KORUYUCU ETKİLERİ

ÖZLEM DELİBAŞ
0000-0002-1764-6807

DOKTORA TEZİ
TIBBİ HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. SERPİL ÜNVER SARAYDIN

SİVAS
ARALIK 2024

“DHEA ile İndüklenen PKOS Fare Modelinde Naringenin’in Endometriyal Reseptivite Üzerine Olan Koruyucu Etkileri ” adlı **Doktora** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji** Ana Bilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan (Danışman)

Üye

Üye

Üye

Üye

ONAY

Bu tez çalışması,.....tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 2023 tarihli ve 2/9 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Bu çalışma (T-2021-932), CÜBAP tarafından desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR



ÖZET

DHEA İLE İNDÜKLENEN PKOS FARE MODELİNDE NARİNGENİN'İN ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE ÜZERİNE OLAN KORUYUCU ETKİLERİ

Özlem DELİBAŞ

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN

2024, xv+107 sayfa

Çalışmada deneysel olarak oluşturulan PKOS fare modelinde Naringenin'in endometriyal reseptivite üzerine olan etkilerinin histopatolojik, morfolometrik ve immünofloresan yöntemlerle incelenmesi amaçlandı.

Çalışmada vücut ağırlığı yaklaşık 15-20 gram arasında değişen 25 günlük *Swiss* albino cinsi 40 adet dişi fare kullanıldı. Fareler rastgele beş gruba ayrıldı. PKOS modeli oluşturmak için farelere dehidroepiandrosteron (DHEA) (6 mg/100g) 0,2 mL susam yağı içinde çözülerek 30 gün boyunca günde bir kez subkutan (sc.) enjekte edilerek uygulandı. Kontrol grubundaki farelere 30 gün boyunca susam yağı enjekte edildi. PKOS oluşan fareler her grupta sekiz fare olacak şekilde PKOS (model grup), naringenin, metformin ve naringenin+metformin uygulanan tedavi gruplarına ayrıldı. PKOS indüksiyonundan sonra naringenin ve metformin yedi gün boyunca tek başına ve kombinasyon halinde uygulandı. Bu süreçte kontrol ve PKOS grubundaki farelere %1 karboksimetil selüloz (CMC) ve salin çözeltisi oral gavaj aracılığıyla yedi gün boyunca uygulandı. Yedinci günün sonunda tüm deney gruplarına intraperitoneal glukoz tolerans testi (İPGTT) yapıldı. Ardından tüm deney gruplarında endometriyal reseptivite modeli oluşturuldu. Fareler dördüncü gün sakrifiye edildi. Alınan uterus dokuları histopatolojik, morfolometrik ve immünofloresan yöntemler kullanılarak değerlendirildi.

PKOS grubunda uterus ağırlığı, luminal epitel yüksekliği, subepitelyal stroma kalınlığı ve endometriyal bez sayısında artış belirlendi. Naringenin tedavisinin epitel yükseliğini, subepitelyal stroma kalınlığını ve uterus ağırlığını azaltmada yeterli olmadığı görüldü. Naringenin +metformin tedavisi histopatolojik hasarı iyileştirmede daha etkili olabilir. Naringenin uterusta kollajen birikimini azaltmada etkilidir, ancak metformin ile kombinasyonunun kollajen birikimini azaltmada daha etkili olduğu görüldü. Musin1 (MUC1) ve Homeobox A10 (HOXA10) iyi bilinen endometriyal reseptivite belirteçleridir. MUC1, integral bir transmembran müsin glikoproteinidir ve endometriyal epitelin apikal yüzeyinde eksprese edilir. Uterus reseptivitesi sırasında ekspresyonun baskılanması embriyo implantasyonu için önemlidir. İmmünofloresan boyama sonuçları PKOS grubunda MUC1 ekspresyonunun arttığını ve naringenin+metformin tedavisinin MUC1'in ekspresyonunu azaltabileceğini gösterdi. HOXA10 embriyo implantasyonu ile ilişkili çok sayıda genin düzenlenmesinde rol oynayan transkripsiyonel bir faktördür. PKOS grubunda stromada HOXA10'un ekspresyonunun azaldığı görüldü. Ancak naringenin+metformin tedavisinden sonra stromada HOXA10'un ekspresyonu artmıştır. Sirtuin1 (SIRT1) bir histon deasetilazdır ve hedef molekülleri deasetile ederek veya gen transkripsiyonunu baskılayarak birçok hücresel yolu etkiler. Endometriyal reseptivite sırasında SIRT1 stromal hücreler tarafından eksprese edildi. Fakat PKOS grubunda SIRT1 ekspresyonu stromada önemli ölçüde azaldı. Naringenin'in tek başına veya metformin ile birlikte uygulanması stromal SIRT1 ekspresyonunun geri kazanımında etkili olmadı.

Bu çalışma naringenin'in tek başına veya metformin ile birlikte PKOS kaynaklı endometriyal reseptivite hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir. Naringenin'in terapötik etkisinin hangi mekanizma ile gerçekleştiğini açıklamak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Naringenin, PKOS, Endometriyal Reseptivite, Uterus

ABSTRACT

PROTECTIVE EFFECTS of NARINGENIN on ENDOMETRIAL RECEPTIVITY in DHEA INDUCED PCOS MOUSE MODEL

Özlem DELİBAŞ

Sivas Cumhuriyet University Health Sciences Institute

Department of Histology and Embryology

Advisor: Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN

2024, xv+107 pages

The aim of this research is to investigate the effects of naringenin on endometrial receptivity by histopathological, morphometric and immunofluorescence methods in an experimentally induced PCOS mouse model.

In the study, 40 female *Swiss* albino mice of 25 days of age with a body weight of approximately 15-20 g were used. The mice were randomly assigned to five groups. To establish the PCOS model, dehydroepiandrosterone (DHEA) (6 mg/100g in mice) were dissolved in 0.2 mL sesame oil and injected subcutaneously (sc.) once daily for 30 consecutive days. The mice in the control group were injected only with sesame oil for 30 days. The mice with PCOS were divided into four groups: PCOS, naringenin, metformin and naringenin+metformin. There were eight mice in each group. After the PCOS induction, naringenin and metformin were administered alone and in combination for 7 days. In this process, 1% carboxymethyl cellulose (CMC) and saline solution were administered by oral gavage in the control and PCOS groups for 7 days. At the end of the 7th day, intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) was performed in all experimental groups. Subsequently, the endometrial receptivity model was established in all experimental groups. The mice were sacrificed on day 4. The uterine tissues were evaluated by histopathological, morphometric and immunofluorescence methods.

Uterine weight, height of the luminal epithelium, thickness of the subepithelial stroma and number of endometrial glands were increased in the

PCOS group. Naringenin therapy was not sufficient to reduce the epithelial height, the subepithelial stroma thickness and the uterine weight. However, the naringenin+metformin therapy may be more effective in improving the histopathological damage. Naringenin is effective in reducing the accumulation of collagen in the uterus, but the combination with metformin were found to be more effective in reducing collagen accumulation. Musin1 (MUC1) and HomeoboxA10 (HOXA10) are well-known endometrial receptivity markers. MUC1 is an integral transmembrane mucin glycoprotein and is expressed on the apical surface of the endometrial epithelium. The suppression of expression during uterine receptivity is important for embryo implantation. In the immunofluorescence staining results showed that MUC1 expression was increased in PCOS group and naringenin+metformin therapy may be reduce the MUC1 expression. HOXA10 is a transcriptional factor involved in the regulation of numerous genes associated with embryo implantation. In PCOS group, HOXA10 expression was decreased in the stroma. However, the expression of HOXA10 in the stroma was increased after therapy with naringenin+metformin. Sirtuin1 (SIRT1) is a histone deacetylase and affects many cellular pathways by deacetylating target molecules or suppressing gene transcription. SIRT1 was expressed in stromal cells during endometrial receptivity. However, SIRT1 expression in the stroma was significantly reduced in the PCOS group. Therapy of the naringenin alone or in combination with metformin was not effective in the restoration of SIRT1 expression.

This study showed that the naringenin alone or combined with metformin may have a protective effect on PCOS induced endometrial receptivity damage. The more comprehensive studies are needed to explain the mechanism by which the therapeutic effect of naringenin is achieved.

Keywords: Naringenin, PCOS, Endometrial receptivity, Uterus

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ONAY	iii
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Uterus	2
2.1.1. Uterus Embriyolojisi	2
2.1.2. Uterus Anatomisi	4
2.1.3. Uterus Histolojisi	5
2.1.4. Uterusta Siklusa Bağlı Fizyolojik Değişimler	8
2.2. İnfertilite	9
2.2.1. Kadın İnfertilitesi	10
2.2.2. Polikistik Over Sendromu (PKOS)	11
2.2.3. Açıklanamayan İnfertilite	18
2.3. Endometriyal Reseptivite	19
2.3.1. Endometriyal Reseptivitenin Belirteçleri	23
2.4. Naringenin	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	32
3.2. Kullanılan Cihazlar	33
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	34
3.4. Vücut Kütlesinin Ölçümü	36
3.5. Ovaryum ve Uterus Kütlesinin Ölçümü	36
3.6. Vajinal Smear Yöntemi	37

3.7.	İntraperitoneal Glukoz Tolerans Testi (İPGTT)	38
3.8.	Endometriyal Reseptivite Modeli	39
3.9.	Doku Preparasyonu	39
3.10.	Işık Mikroskopi	39
3.12.	İmmünofloresan Boyama Protokolü	40
3.13.	İstatistiksel Analiz	42
4.	BULGULAR	42
4.1.	PKOS Bulguları	42
4.1.1.	Östrus Siklusu, Vücut Kütlesi ve Ovaryum Kütlesi	42
4.1.2.	Ovaryum Histopatolojik Bulguları	44
4.1.3.	Açlık Kan Glukozu ve İntraperitoneal Glukoz Tolerans Testi (İPGTT) Bulguları	46
4.2.	Endometriyal Reseptivite Sırasında Uterus Bulguları	48
4.2.1.	Uterus Kütlesi ve Işık Mikroskop Bulguları	48
4.2.2.	Picro Sirius Red ve Masson Trikrom Boyama Bulguları	52
4.3.	İmmünfloresan Bulguları	56
4.3.1.	MUC1 Bulguları	56
4.3.2.	HOXA10 Bulguları	58
4.3.3.	SIRT1 Bulguları	60
5.	TARTIŞMA	62
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	80
7.	KAYNAKLAR	83
8.	EKLER	106
	ÖZGEÇMİŞ	107

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Deneý gruplarının gösterimi.....	36
--	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Uterus dokusunun histolojik görüntüsü.	7
Şekil 2.2. PKOS ovaryum görüntüsü	18
Şekil 2.3. Naringenin'in kimyasal yapısı.....	28
Şekil 2.4. Naringenin'in vücuttaki sindirim, emilim ve atılım yolu	30
Şekil 3.1. Deneysel prosedürün şematik gösterimi.	35
Şekil 3.2. Östrus siklus evreleri ve bu evrelerde mevcut olan hücre tipleri.....	38
Şekil 3.3. Kan glukoz ölçümünün gösterimi.	39
Şekil 4.1. Tüm gruplara ait östrus sikluslarının grafiksel gösterimi	42
Şekil 4.2. Tüm grupların vücut kütlelerinin karşılaştırılması.....	43
Şekil 4.3. Tüm grupların ovaryum kütlelerinin karşılaştırılması	44
Şekil 4.4. Tüm gruplara ait ovaryum kesitlerinin hematoksilin-eozin boyanma görüntüleri.....	45
Şekil 4.5. Gruplar arasında ovaryumunlarda korpus luteum, kistik folikül ve atretik folikül karşılaştırılması.....	46
Şekil 4.6. Gruplar arasında glukoz toleransının karşılaştırılması.....	47
Şekil 4.7. Tüm gruplarda endometriyal reseptivite sırasında uterusun görünümü.....	50
Şekil 4.8. Tüm gruplar arasında uterus kütesinin, bez sayısının, subepitelyal stroma kalınlığının ve luminal epitel yüksekliğinin karşılaştırılması	52
Şekil 4.9. Tüm gruplarda uterusun Picro Sirius Red boyanma görüntüsü	54
Şekil 4.10. Tüm gruplarda uterusun Masson Trikrom boyanma görüntüsü.....	55
Şekil 4.11. Gruplar arasında endometriyal stromada kollajen birikiminin kantitatif ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması.....	56
Şekil 4.12. Tüm gruplarda uterusu MUC1 ekspresyonunun immünfloresan boyama ile gösterilmesi	57
Şekil 4.13. Gruplar arasında MUC1 ekspresyonunun karşılaştırılması	58
Şekil 4.14. Tüm gruplarda uterusu HOXA10 ekspresyonunun immünfloresan boyama ile gösterilmesi	59
Şekil 4.15. Gruplar arasında HOXA10 ekspresyonunun karşılaştırılması.....	60
Şekil 4.16. Tüm gruplarda uterusu SIRT1 ekspresyonunun immünfloresan boyama ile gösterilmesi	61
Şekil 4.17. Gruplar arasında SIRT1 ekspresyonunun karşılaştırılması.....	62

KISALTMALAR DİZİNİ

PKOS	Polikistik Over Sendromu
İPGTT	İntraperitoneal glukoz tolerans testi
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DHEAs	Dehidroepiandrosteron sülfat
CMC	Karboksimetil selüloz
AMPK	AMP ile aktive olan protein kinazı
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
FSH	Folikül uyarıcı hormon
LH	Lüteinize edici hormon
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
NICE	Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü
YÜT	Yardımcı üreme teknolojisi
RIF	Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı
IVF	İn vitro fertilizasyon
HA	Hiperandrojenemi
IR	İnsülin direnci
T2DM	Tip 2 diabetes mellitus
OS	Oksidatif stres
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNS	Reaktif nitrojen türleri
HOXA10	Homeobox genes A 10
MUC1	Musin1
SIRT1	Sirtuin 1
MIF	Müllerian inhibe edici faktör
E2	Estradiol
P4	Progesteron
T	Testosteron
DHT	Dihidrotestosteron
IL-18	İnterlökin-18
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein1
WBC	Beyaz kan hücresi

CCL3	C-C motif ligand 3
ET-1	Endotelin-1
sICAM-1	Çözünür intersellüler adezyon molekülü-1
AMH	Anti-müllerian hormon
ER	Östrojen reseptör
PR	Progesteron reseptör
LIF	Lösemi inhibitör faktör
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
TLR	Toll benzeri reseptör
GP	Glutasyon peroksidaz
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
MDA	Malondialdehit
İPGTT	İntraperitoneal glukoz tolerans testi

1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS) doğurganlık çağındaki kadınların yaklaşık %5-10'unu etkileyen üreme ve endokrin bozukluklar ile seyreden klinik bir sendromdur. PKOS hiperandrojenemi, polikistik ovaryan değişiklikler, ovulasyon disfonksiyonu ve insülin direnci (IR) ile karakterizedir. Bununla birlikte PKOS'un patogenezi şimdiye kadar net bir şekilde aydınlatılamamıştır ve şimdiye kadar hiperandrojenemi, IR, kronik inflamatuvar yanıt ve oksidatif stres ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Bu patofizyolojik değişiklikler kadın infertilitesine neden olabilmektedir ve bu da sosyal gelişim ve aile hayatı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Son yıllarda PKOS'da tedavilerin etkisi ve mekanizmasına odaklanan araştırmalar büyük ilgi görmüştür ancak etkili müdahale stratejisi hala sınırlıdır (Khan vd., 2019).

PKOS hastalarında ovulasyon bozuklukları düzeltilebilse de gebelik oranlarının düşük kaldığı ve spontan gebelik kaybı oranlarının yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu durum PKOS'un uterus fonksiyon bozukluğuna ve böylece infertiliteye neden olabileceğini göstermektedir. PKOS'lu kadınların endometriyumu kapsamlı bir şekilde çalışılmamıştır. Ancak bazı kanıtlar implantasyon başarısızlığına, düşüklere ve hatta endometriyal kansere neden olan anormal gen ekspresyonunu desteklemektedir (Zhao vd., 2022). PKOS olgularında anovulasyon yaşayan kadınlarda yüksek östrojen seviyelerinden dolayı endometriyal hiperplazi ve endometriyal kanser riski artar. Çalışmalar PKOS olan kadınlarda endometriyal kanser riskinin diğer kadınlara göre daha fazla olduğu bildirmektedir (Achache&Revel, 2006; Fearnley vd., 2010). Normal bireylere göre PKOS'lu hastalarda oksidatif stres markırlarının da önemli derecede artmış olduğu gösterilmiştir. Aşırı serbest oksijen radikali üretimi sonucunda PKOS, endometriyozis ve açıklanamayan infertilite problemlerinin de arttığı yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. PKOS ve endometriyal reseptivite arasında oksidatif strese bağlı gelişen doğrudan bir ilişkide mevcuttur (Furat Rencber vd., 2018; Carson & Kallen, 2021; Mohammadi, 2019; Shan vd., 2022).

Doğal olarak bulunan bir flavonoid olan naringenin ağırlıklı olarak turunçgillerde bulunmaktadır. Geniş biyolojik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Birçok prelinik ve klinik çalışma antioksidan, antiöstrojenik, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antihiperlipidemik, antikanserojen ve antifibrotik olarak yararlı rolünü göstermiştir. Daha önceki çalışmalar da naringenin'in infertilite, endometriozis ve gebelikte olumlu sonuçlar verdiğini belirtmiştir (Rashid vd., 2023). İnsülin duyarlılığını artırıcı bir ilaç olan metformin sıklıkla PKOS ile ilişkili infertilite de ilk basamak tedavi olarak kullanılmaktadır. Çalışmalar naringenin'in AMP ile aktive olan protein kinazı (AMPK)'ın ekspresyonunu artırarak metformin benzeri etkileri ile enflamasyon ve hücre proliferasyonunu azaltan etkilerini bildirmiştir (Nyane vd., 2017). Ayrıca polifenollerin steroidlerle olan yapısal benzerliği nedeniyle naringenin'in PKOS'ta yer alan değişmiş steroidojenik enzimler üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Naringenin PKOS yönetimi için olası bir potansiyel etkiye sahip olabilmektedir (Cai vd., 2023; Rashid vd., 2023).

Bu çalışmada DHEA ile indüklenen PKOS fare modelinde oluşan endometriyal reseptivite hasarı üzerine naringenin'in iyileştirici etkilerinin histopatolojik, morfometrik ve immünofloresan yöntemler kullanılarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus

2.1.1. Uterus Embriyolojisi

Gelişimin üçüncü ve sekizinci haftalarında üç germ yaprağı olan ektoderm, mezoderm ve endodermin farklılaşması sonucu doku ve organların geliştiği dönem embriyonik dönem olarak adlandırılmaktadır. Ektodermal germ tabakasından merkezi ve periferik sinir sistemi elemanları, epidermis ve duyu organlarının epiteli gibi yapılar gelişmektedir. Mezodermal germ tabakasından ürogenital sistem organları olan böbrek ve gonadlar vasküler sistem gelişmektedir. Endodermal germ tabakasından ise gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve mesane epiteli gibi yapılar gelişmektedir (Sadler,

2004). Embriyonun cinsiyeti genetik açıdan fertilizasyon sırasında belli olsa da dişi ya da erkek gonadlara farklanması gelişimin 7. haftasına kadar belirgin değildir. Seksüel dimorfizmden Y kromozomu kısa kolu (Yp11) üzerinde bulunan cinsiyet belirleyici bölgedeki SRY geni sorumludur. SRY geni Testis belirleyici faktör (TBF) olarak da adlandırılır. SRY geninin ürünü olan protein cinsiyet organlarının dişi mi erkek mi fenotipik özelliklere sahip olacağını belirleyen bir transkripsiyon faktörüdür. TBF varlığında embriyonun cinsiyeti erkek, TBF yoksa kız tipinde gelişir.

TBF ile gonad farklılaşması testis yönünde olur ve testisin Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron testisin sertoli hücreleri tarafından üretilen müllerian inhibe edici faktör (MIF) ile embriyo erkek fenotipi olacak şekilde farklılaşır. Genital veya gonadal sırt olarak ortaya çıkan gonadların içinde 6. haftaya kadar germ hücreleri bulunmaz (Sadler, 2017; Dudek, 2014). Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada mezotelyal bir kalınlaşma olan primitif böbrek gelişimi ile ortaya çıkar. Genital veya gonadal kabartı, epitel ve altındaki mezenkim tabakasının çoğalması sonucunda oluşur. Parmak şeklinde bir yapıya bürünen gonadal kordonlar mezenkim içine doğru büyürler. Farklanmamış gonad yapısal olarak dışta bir korteks içte ise medulladan oluşmaktadır. Embriyonun genetiğinde XX kromozomu varsa farklanmamış gonadtaki korteks overe differansiye olur ve medullası geriler. Embriyo XY kromozomuna sahip ise medulla testise differansiye olur ve korteksi geriler (Sadler, 2017). Epiblasttan köken alan ve primitif çizgi boyunca göç eden primordiyal germ hücreleri 3. haftada yolk kesesinin allantoise yakın bir bölgesinde endoderm hücrelerinin olduğu bölgeye konumlanır. Son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca hareket ederek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır; genital sırtlara geliş ise 6. haftayı bulur (Sadler, 2004). Farklanmamış evrede embriyonun mezonefrik (Wolffian) ve paramesonefrik (Müllerian) olmak üzere 2 çift genital kanalları vardır. Paramesonefrik kanal karın boşluğuna kranial ucundan açılır. Kaudal yönde ilerlerken mezonefrik kanalı önden çaprazlar sonrasında kaudomediyal yönde büyümeye devam eder. Orta hatta gelince karşı tarafın paramesonefrik kanalı ile temas eder.

Öncesinde birbirleriyle bir septum ile ayrılmış olan bu iki kanal sonrasında birleşir ve uterus kanalını oluştururlar. Kaynaşan paramesonefrik kanalların lateralinden uterusun broad ligamenti meydana gelir. Broad ligamentin üst sınırında uterus tüpleri, arka taraf yüzeyinde ise overler yer almaktadır. Paramesonefrik kanalların kaynaşmasından ayrıca uterusun korpusu ve serviksi de oluşmaktadır. Mezenşim tabakası uterusun miyometriyum ile perimetriyum tabakalarını meydana getirir. Cinsiyet farklanmasında östrojen hormonunun etkisiyle paramesonefrik kanallardan tuba uterinalar, uterus, serviks ve vajenin üst kısmı gelişir. Aynı zamanda dış genital organları olan labium majus, labium minus, klitoris ve vajenin alt kısımları da gelişmektedir (Sadler, 2004; Sadler, 2017; Moore, 2020; Robbins, 2015; Guioli, 2007).

2.1.2. Uterus Anatomisi

Uterus içi boş, kalın duvarlı ve kaslı yapıda bir organdır. Vagina'nın üst tarafında vesika urinaria'nın arkasında ve rektumun ön tarafında yer almaktadır. Uterus üst kısımda ince bağırsak kıvrımları ile komşuluk yapmaktadır. Uterusun pelvis içerisindeki bölümü vaginayla üst bölümü ise tuba uterina ile devam etmektedir (Snell, 2004). Uterus pelvis duvarına ligamentum (lig.) pubocervicale, lig. transversum cervicis ve lig. sacrocervicalis olarak adlandırılan güçlü ligamentler ile tutunmaktadır. Lig. Teres uteri ile lig. latum uteri uterusun duruşunu sağlayan ligamentlerdir (Ian Peate & Nair, 2015). Uterus tepesi aşağıya tabanı yukarıya bakan ters konumlu bir armut görünümündedir. Arkadan ve önden hafif basıktır ve uzun eksenine orta hatta yerleşim göstermektedir. Uterusun öne-aşağıya bakan ve pelvis eksenine uyan bir konkavitesi bulunmaktadır. Doğum yapmış kadınlarda yapmayanlara oranla farklılıklar olmakla beraber ağırlığı 50-80 gr, genişliği yaklaşık 5 cm, uzunluğu 7-9 cm ve duvar kalınlığı 2,5 cm kadardır. Hamilelikte uterus büyüyerek şekil ve duruş olarak değişiklikler göstermektedir. Doğumdan sonra ise neredeyse eski haline geri dönmektedir (Şeftalioğlu, 2003). Uterus fonksiyon, yapı ve anatomik olarak 3 bölüme ayrılır. Bunlar; corpus uteri, fundus uteri ve cervix uteridir. Cervix uteri ve corpus uteri arasında yaklaşık 1 cm uzunluğunda corpus uterinin en dar yeri olan istmus uteri denilen bir bölüm bulunur. Uterusun dış yüzeyinden belirgin olmayan bu bölge iç yüzeyinden

belirgin olup canalis cervicis uteri ile uterus boşluğunun birleşme yerine uyum sağlar (Şeftalioğlu, 2003; Moore, 2007; Sancak & Cumhuri, 2008).

Corpus uteri, tuba uterinaların uterusu açıldığı yerin altındaki 5-6 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığında olan bölümdür. Tuba uterinaların uterus ile birleştiği yere cornu uteri denilmektedir. Cornu uterilerin üst kısmındaki corpus uteri kısmı fundus uteridir. Fundus uterinin dış yüzü tamamiyle peritonla kaplanmıştır ve ince bağırsağın kıvrımlarıyla komşuluk yapmaktadır. Corpus uteri aşağıya doğru daralarak alt kısımdaki cervix uteriyle birleşmektedir (Ozan, 2005). Corpus uterinin ince bağırsak ile komşu olan üst yüzüne facies intestinalis, mesane ile komşu olan alt yüzüne ise facies vesicalis denilmektedir. Fundus uteri, tuba uterinaların uterusu açıldığı kısımların üzerindeki kalın ve geniş olan bölümdür. Fundus uteri konveks şekilde olup periton ile örtülüdür. İnce bağırsak kıvrımları ve colon sigmoideum ile komşudur. Fundus uteri ile corpus uterinin birleştiği yerde ve yanlardaki çıkıntılar cornu uteri dextrum ve cornu uteri sinistrum olarak isimlendirilmektedir. Tuba uterinalar uterusu bu kısımlardan bağlanmaktadır (Moore, 2007). Cervix uteri, uterusun 1/3 alt parçası olup, vagina ile istmus uteri arasında kalan, uterusdan daha dar olan kısımdır. Yaklaşık olarak 2,5 cm boyunda olan cervix uterinin, içerisinde canalis cervicis uteri denilen bir kanal yer almaktadır (Yıldırım, 2003; Han&Sadiq, 2023).

2.1.3. Uterus Histolojisi

Uterus histolojik olarak içerden dışarıya doğru üç tabakadan oluşur. Bunlar sırasıyla;

- Endometriyum (tunika mukoza)
- Miyometriyum (tunika muskularis)
- Perimetriyum (tunika seroza) ‘dur (Ovalle, 2009; Ross&Pawlina, 2011).

Endometriyum, zigot ya da embriyonun yerleşip geliştiği uterusun en iç tabakasıdır. Endometriyum tek katlı prizmatik epitel ve bunun altında yer alan propriadan oluşmaktadır. Burada salgı yapan mikrovilluslu hücreler ve sıyalı

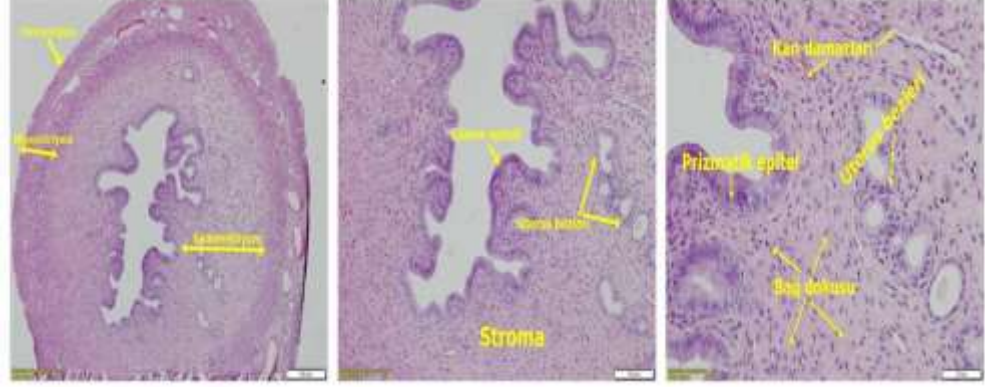
hücreler olmak üzere iki tip hücre bulunmaktadır. Bu tabaka yüzey epiteli, lamina propria ve endometriyal mukozadan oluşmaktadır. Yüzey epiteli, lamina propriaya doğru invaginasyonlar yaparak dallı basit tübüler tipteki uterus bezlerini oluşturmaktadır. Bezlerin şekilleri ve büyüklükleri menstrual döngünün evrelerine göre değişiklik göstermektedir. Uterus bezlerini oluşturan epitelde silyalı hücreler çok az sayıdadır ve uterus bezlerinin epiteli yüzey epiteline benzemektedir (Junqueira vd., 2009; Kierszenbaum& Demir, 2006).

Lamina propria bol hücre içermektedir. Fibroblastlardan zengin ve bol miktarda esas madde içeren sıkı düzensiz bağ dokusundan oluşmaktadır. Bağ doku tip III kollajen liflerini ve retiküler lif ağlarından oluşmaktadır. Elastik lifler ise sadece arteriollerin etrafında bulunur. Bu liflerin arasında çok sayıda iğ şeklindeki bağ doku hücreleri yer almaktadır (lenfositler, granüler lökositler ve makrofajlar). Gebelik boyunca değişikliğe uğrayan hücrelere “desidual hücreler” denilmektedir. Bu hücrelerin bir ya da iki çekirdekli olup sitoplazmalarında glikojen, lipid tanecikleri ve vakuoller yer alır (Junqueira vd., 2009; Ross&Pawlina, 2011).

Endometriyum stratum bazale ve stratum fonksiyonale olmak üzere iki katmandan oluşur. Stratum bazale, endometriyumun miyometriyuma komşu 1/3’lik derin kısmıdır. Sıkı fibröz bağ dokusu yapısındadır. Uterus bezlerinin son kısımlarını ve lamina propriayı içermektedir. Stratum bazale menstruasyon sırasında dökülmeden korunur ve daha sonra endometriyumun yenilenmesinden sorumludur. Bu kısım arkuat arterlerden beslenir. Stratum fonksiyonale, endometriyumun 2/3’lik üst kısmıdır. Burada uterus bezlerinin gövde ve boyun kısımları yer almaktadır, lamina propria ve yüzey epiteli bulunmaktadır. Menstruasyon döngüsü bu tabakada gerçekleşir ve menstruasyon sırasında dökülür. Bu tabakanın yenilenmesi stratum bazale tarafından gerçekleştirilir (Kierszenbaum & Demir, 2006; Ross & Pawlina, 2011).

Endometriyum epiteli puberta döneminde tek katlı alçak kübiktir ve ince bir stroma içermektedir. Epitelin stromaya yaptığı invaginasyonlar ile az sayıda tübüler bezler içerir (Stevens & Lowe, 2005). Puberta döneminde epitel

hücreleri ve stromal hücreler ve kan damarları hızla çoğalmaktadır. Menapoz döneminde ise endometriyum ve miyometriyum atrofiye olur ve endometriyum bezleri düzleşerek kaybolur ve doku daha fibrotik bir hal almaktadır (Şeftalioğlu, 2003) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Uterus dokusunun histolojik görüntüsü. Hematoksilen-eozin boyama. 10X, 20X ve 40X'lik büyütmeleler.

Miyometriyum, uterusun en kalın tabakasıdır ve ortalama 12-15 mm kalınlığındadır. Bu tabakada bulunan düz kas demetleri 4 kat halindedir. İçten dışa doğru sıraladığımızda en içte stratum subvasculare bulunur ve oblik ve longitudinal kas demetlerinden oluşmaktadır. Dışta ise stratum vasculare yer alır aralarında çok sayıda kan damarları bulunan longitudinal seyirli düz kas demetlerinden oluşur. Stratum vasculare'nin dışında stratum supravasculare yer alır ve en dış tabaka ise yine longitudinal düz kas demetlerinden oluşan stratum subserosum'dur. En dışta yer alan longitudinal kas lifleri tuba uterina'ların dış yüzü ile devam etmektedir (Junqueira vd., 2009).

Perimetriyum, organı en dıştan saran bağ dokusu ve peritonun viseral yaprağıdır. Bu tabaka ince gevşek bir bağ dokusuyla desteklenen tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Uterusun farklı bölümlerine göre perimetriyum, seroza (bağ dokusu ve mezotelyum) veya adventisya (bağ dokusu) olarak adlandırılır. Uterusun ön yüzü tunika adventisya ile arka yüzü örten perimetriyum peritonla devam eder (Junqueira vd., 2009; Ross & Pawlina, 2011).

2.1.4. Uterusta Siklusa Bağlı Fizyolojik Değişimler

Puberteye girişle hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) aracılığıyla ön hipofiz bezi uyarılır ve gonadotropinlerin (FSH, LH) salınımı başlar. Salgılanan gonadotropinler 1. mayoz bölünmenin diploten evresinde (duraklama) olan primer/preantral folikülleri uyarır ve endometriyumun da senkronize olduğu bir döngü başlar (Mara vd., 2012; Cha vd., 2012). Puberteden itibaren menopoza kadar 28 günde bir tekrar eden döngü ‘‘menstrual döngü’’ olarak adlandırılmaktadır ve 4 ile 5 gün sürmektedir. Ardından proliferasyon evresi ve sekretuar (luteal) evre gelmektedir (Mara vd., 2012; Junqueira vd., 2009).

Folikül uyarıcı hormon (FSH) etkisiyle primer foliküller gelişerek östrojen salgılar ve plazmadaki östrojen miktarı artar. Östrojen seviyelerinin artmasıyla endometriyum proliferatif faza girer. Proliferatif faz, luteinize edici hormon (LH) seviyelerindeki artış sonucu gerçekleşen ovulasyona kadar devam eder. Bu faz 14 gün sürmektedir. Ovulasyondan sonra geriye kalan folikül korpus luteum denilen yapıya dönüşür ve progesteron salgılamaya başlar. Progesteronun seviyelerinin yükselmesiyle sekretuar faza girilir (Mara vd., 2012; Cha vd., 2012; Maybin vd., 2015).

Proliferasyon (foliküler) evresi: Menstrual siklus sırasında dökülen endometriyumun fonksiyonel tabakası proliferatif faz sırasında yenilenmektedir. Bu yenilenme östrojenin endometriyumdaki mitotik aktivitesi ile sağlanmaktadır. Endometriyumun epitel hücrelerinde, bezlerinde, kapillerlerinde ve stromasında proliferasyon gerçekleşmektedir. Bu evrede uterus bezleri dar lümenli düz tübüller şeklindedir, tek katlı silindirik epitelden oluşur ve sekresyon için hazırlanarak endoplazmik retikulum sistemaları ile Golgi kompleksi boyutlarını arttırlar. Endometriyum kalınlığı proliferasyon evresinde 3-4 mm'ye kadar ulaşır ve 14. gün olan ovulasyonda endometriyum tamamen yenilenmektedir.

Sekresyon (luteal) evresi: Ovulasyonu takiben 2-3 gün içerisinde başlayıp 28 gün süren evredir. Korpus luteumdan salgılanan progesteron ve östrojenin etkisiyle gelişen endometriyal bezlerin sekresyon için uyarılması

sekretuar faz olarak adlandırılmaktadır. Üretilen glikoprotein yapısındaki salgı ürünleri sekresyon yapacak bezlerin lümenlerinin genişlemesine neden olmaktadır. Bu evrede bezler kıvrımlı bir hal alır. Sekresyon evresinde salgıların artması sonucu oluşan ödem nedeniyle endometriyum kalınlığı 5-6 mm'ye kadar ulaşmaktadır ve hücre bölünmesi sınırlı hale gelmektedir. Eğer bu evrede döllenme gerçekleşirse östrojen ve progesteronun etkisiyle stromal hücreler desidual hücrelere dönüşür. Glikojen içeriği fazla olan desidual hücreler embriyo gelişimi için gerekli ortamı sağlamaktadır.

Menstruasyon (kanama) evresi: Bu evre 4-5 gün sürmektedir. Gebelik gerçekleşmediği zaman korpus luteum aktif olarak 10 gün kadar hormon salgılar ve sonra görevi azalmaktadır. Östrojen ve progesteron seviyelerindeki ani düşme ile endometriyumda nekroz başlar. Bu evrede fonksiyonel tabaka iskemik bir hal almaktadır. Lokal olarak salgılanan sitokinler, prostaglandinler ve nitrik oksit nedeniyle kan damarı duvarları ve bazal membranlar parçalanır. Endometriyum stromasındaki ödem azalır ve endometriyum büzülür ve lamina propriada bulunan kollajenler parçalanır. Endometriyal arterlerin yırtılmasıyla bezlerin lümenleri kan ile dolar böylece sekresyon durur ve kanama sebebiyle lümenal epitel bozularak dökülür. Bu dökülme stratum bazaleye kadar devam etmektedir ve fonksiyonel tabakanın tamamı dökülür (Junqueira vd., 2009; Kierszenbaum & Demir, 2006; Stevens & Lowe, 2005).

2.2. İnfertilite

Kadınlarda doğurganlığın yirmili ve otuzlu yaşlarda en yüksek seviyede olduğu söylenirken, erkeklerde doğurganlık kırklı yaşlara kadar yüksek kalmaktadır. Sağlıklı çiftlerde gebe kalma ortalama 8 aylık düzenli ilişkiden sonra gerçekleşir. İnfertilite, bir yıllık düzenli korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebe kalamama olarak tanımlanmaktadır. Küresel olarak doğurganlık oranı başta çevresel değişiklikler olmak üzere birçok farklı faktöre bağlı olarak azalmaktadır (Starc vd., 2019).

İnfertilite sorunu üreme tıbbı için her zaman öncelikli bir zorluk olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre infertilite spesifik bir sorundur ve yaygınlığı nedeniyle sosyal bir hastalık olarak kabul edilmelidir. Bununla

birlikte konuyla ilgili makalelerde tek tip ve net bir tanım sunmamaktadır. Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (NICE 2013), infertilitenin bilinen bir üreme patolojisinin bulunmadığını, iki yıl boyunca düzenli korunmasız cinsel ilişki sonrasında gebe kalmaması olarak tanımlanmasını önermiştir. Amerikan Üreme Tıbbı Derneği infertiliteyi 12 ay veya daha uzun süre düzenli korunmasız cinsel ilişkiden sonra başarılı bir gebelik elde edilememesi olarak tanımlamaktadır (Szamatowicz & Szamatowicz, 2020).

İnfertilitenin sebepleri kadın veya erkekde hatta bazen her ikisinde de bulunabilir. Kadın üreme fonksiyonu üreme organlarının normal fonksiyonunu etkileyen doğuştan gelen veya sonradan oluşan durumlar (genital etioloji), hastalıklar (ekstragenital etioloji) veya psikolojik faktörler nedeniyle bozulabilir. Erkek infertilitesi için üç olası neden mevcuttur; engelleyici olmayan etioloji (sorunun sperm üretimi olduğu durumlar), engelleyici etioloji (sorunun sperm genetal kanaldan taşınması olan durumlar), koital infertilite ise ereksiyon ve ejakülasyonu engelleyen bozukluklardan kaynaklanır. Genellikle, çiftin kısırlığı için erkek ve kadın faktörlerinin ortak nedenleri vardır. Vakaların %10-15'inde infertilite etiyojisi idiyopatik infertilite olarak kalır (Starc vd., 2019).

2.2.1. Kadın İnfertilitesi

Kadın infertilitesi dünya çapında üreme çağındaki tüm kadınların %10'undan fazlasını etkileyen küresel bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Yardımcı üreme teknolojisi (YÜT) birçok infertil kadının gebe kalmasına ve doğum yapmasına yardımcı olsa da birçok infertil kadın oosit olgunlaşmasının durması ve erken embriyo durması gibi farklı fenotipler nedeniyle tekrarlayan YÜT başarısızlığı yaşamaktadır (Harrison vd., 2022).

İnfertilite vakalarının %35-40'ından kadın kaynaklı faktörlerin sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Kadın infertilitesi endokrin bozukluklar, endometriozis, fallop tüpü hasarı, enfeksiyon veya çevresel faktörlere bağlı olabilir. Bununla birlikte kadın infertilitesi yaygın olarak ovulasyon bozuklukları ile ilişkilidir. Bunlar çoğunlukla günümüzde üreme çağındaki kadınlarda en yaygın endokrin bozukluklardan biri olarak görülen polikistik

over sendromun (PKOS)'dan kaynaklanmaktadır. PKOS'lu kadınlarda anovulasyonun patomekanizması çok karmaşıktır. Gonadotropinlerin salınımındaki anormallikler antral folikül gelişiminin engellenmesine yol açmaktadır. PKOS'lu ovulasyon olmayan kadınlarda sık görülen endokrin anormallikleri arasında ovaryan granüloza hücrelerinin uygun şekilde çoğalması için gerekli olan serum FSH düzeylerinin normal veya hafif azalmasıyla birlikte yüksek serum androjen ve LH düzeyleri yer almaktadır. Bu yüzden ovulasyon bozukluklarının patomekanizmasında LH'nin rolü önemlidir. Ovulatuvar faktörler kadınlarda en sık görülen infertilite nedenlerindedir (Sun vd., 2020; Hakimi&Cameron, 2017; Shang vd., 2021).

Uterin-servikal faktörler, kadın infertilitesinin en az görülen nedenlerindedir. Uterusdaki leiomyomlar, konjenital malformasyonlar, submüköz myomlar ve intrauterin adezyonlar fertilitiyi olumsuz şekilde etkilemektedir. Tüberküloza bağlı kronik endometrit gibi durumlar da implantasyonu olumsuz etkileyerek infertiliteye neden olmaktadır (Speroff vd., 2007).

Tubal-pelvik faktörler kadın infertilitesinin ikinci sık nedenleri arasındadır. Özellikle klamidya enfeksiyonları başta olmak üzere, tüberküloz veya pelvik inflamatuvar hastalık gibi iltihabi hastalıklar hidrosalpinkse, tubal tıkanıklıklara ve tubalarda fonksiyon bozukluklarına neden olarak infertiliteye sebep olmaktadır. Ayrıca pelvik faktör olarak bilinen endometriozisde, tubal adezyonlar yüzünden fallop tüplerinin fonksiyonları bozulmaktadır. Endometriozis aynı zamanda tubal tıkanıklıklara, over rezervinin azalmasına ve ovumun endometriyuma tutunamamasına neden olmaktadır.

2.2.2. Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Polikistik over sendromu kadınlarda özellikle de üreme çağındaki kadınlarda sık görülen bir endokrin bozukluktur. PKOS'un dünya çapındaki prevalansının %5-10 olduğu tahmin edilmektedir. PKOS infertilite, akne, amenore veya oligomenore, hirsutizm, insülin direnci, obezite, hiperandrojenizm ve ultrasonografi ile polikistik overler ile teşhis edilmektedir. PKOS'un infertilite ile ilişkisi çok fazla araştırılmıştır ve kadın infertilitesinin

%40'ından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca endometriyal karsinomun önde gelen nedenlerinden biridir. PKOS üreme anormalliklerinin yanı sıra karaciğer yağlanması, glukoz intoleransı, dislipidemi, diabetes mellitus tip II (T2DM) ve hipertansiyon gibi çok çeşitli metabolik bozukluklarla da güçlü bir şekilde ilişkilidir (Khan vd., 2019).

PKOS tipik olarak adolesan popülasyonda menstrual fonksiyon bozukluğu ve hiperandrojenizm kombinasyonu ile kendini gösterir. İnsülinin salgılanması ve etkisi, androjenin sentezi ve etkisi, göreceli gonadotropin oranları, ovulatuvar fonksiyon ve pro- ve anti-oksidan sistemlerin dengesindeki bozukluklarla ilişkilidir. PKOS yaşam boyu süren bir hastalıktır ve bu sendromun metabolik ve üreme ile ilgili sonuçları yaşamın her döneminde iyi bir şekilde belgelenmiştir. PKOS'lu kadınlar sıklıkla obezdir bu da insülin direncini arttırır. Bu kadınların ileriki yaşamlarında bozulmuş glukoz toleransı, T2DM, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon ve nihayetinde metabolik sendrom geliştirme riski daha yüksektir (Teede vd., 2010).

Fizyolojik rahatsızlıkların yanı sıra çalışmalar PKOS'lu kadınların sıklıkla olumsuz beden imajı algısı, düşük benlik saygısı, depresyon ve yaşam kalitesinde azalma belirtileri gösterdiğini ortaya koymuştur (Deeks vd., 2011).

Yapılan çalışmalar PKOS gelişimine genetik yatkınlığın önemini bildirmiştir. Ancak PKOS için belirlenmiş bir genetik belirteç üzerinde fikir birliğine varılamamıştır (Lowe&Reddy, 2015). Genetik ve epigenetik modellerin protein profilleri üzerindeki etkilerinin araştırılması, biyobelirteçlerin keşfedilmesine ve PKOS'un moleküler patofizyolojisinin çözülmesine katkıda bulunmuştur. Böylece çok yönlü bir yaklaşımın kullanılması ve en son teknolojilerden yararlanılması, bol ve kapsamlı veriler elde edilmesini sağlamış ve bu da PKOS etiyolojisine ilişkin mevcut anlayışı genişletmiş ve şekillendirmiştir. Bu durumun ve geniş kapsamlı sonuçlarının anlaşılması hem araştırmacılara hem de klinisyenlere bu sendromun çeşitli yönleri arasındaki ilişkiyi anlama ve bu hormonal dengesizliği başarılı bir şekilde tedavi etme ve fertilitiyi yeniden kazandırma konusunda yeni yollar sağlayacaktır.

Ovulasyon bozuklukları/anovulasyon PKOS ile ilişkili infertilitenin önemli bir nedenidir. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte günümüzde kontrollü ovaryan hiperstimülasyon ile yüksek kaliteli oositler elde edebilmekteyiz. Ayrıca in vitro fertilizasyon (IVF) ile döllenmiş yumurtaların kalitesi garanti edilmektedir. Ancak yapılan çalışmalar ideal bir blastosist in vitro olarak nakledildiğinde PKOS'lu kadınlarda canlı doğum başarı oranının normal kontrollere kıyasla daha düşük olduğunu göstermiştir (Steiner vd., 2020).

Hipotalamo-Hipofizer Disfonksiyon

PKOS'lu hastalarda LH seviyelerinin artmasıyla serum gonadotropin seviyeleride artmaktadır. Bu artışın sebebi hipotalamik bir defekte bağlıdır. PKOS hastalarında LH/FSH oranlarının oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Yüksek LH seviyelerinin sebep olduğu ovaryan androjenlerdeki artış LH'nin etkisiyle teka hücrelerinden androjenlerin aşırı sentezlenmesiyle açıklanmaktadır. FSH etkisiyle androjenik prekürsörler granüloza hücrelerinde P450 aromataz enzimi ile östrojene dönüştürülür. Normal seviyelerdeki FSH etkisiyle birlikte aşırı LH varlığı teka hücrelerinde aşırı androjen sentezine neden olmaktadır. Hiperandrojenemi (HA) PKOS'un tipik bir özelliğidir. PKOS'lu kadınlarda klinik olarak total serum testosteron, androstenedion, dehidroepiandrosteron ve dehidroepiandrosteron sülfat seviyelerine bakılır. PKOS'lu kadınların %80'inde serum androjen seviyeleri yüksektir (Azziz vd., 2009).

PKOS'lu hastaların büyük çoğunluğunda infertilite görülmektedir. PKOS'da primer defektin anovulasyon olduğu ve artan LH seviyelerinin oosit üzerine olumsuz etkilerinden dolayı spontan düşük oranının arttığı bildirilmiştir (Jiang& Li, 2022; Zhao vd., 2022). Anovulatuvar PKOS'ta E2 seviyesinin yüksek olması hipofizin duyarlılığını ve GnRH reseptörlerinin sayısını artırarak LH'nin salınımının artmasına neden olmaktadır. PKOS hastalarının çoğunda semptomların peripubertal dönemde başlaması hipotalamo-hipofizer eksende GnRH salınım frekansının artmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

İnsülin direnci ve hiperinsülinemi

PKOS patolojisinde insülin direnci ve hiperinsülinemi önemli rol oynamaktadır. İnsülin, LH sekresyonunun potansiyel bir düzenleyicisidir ve LH-beta geninin transkripsiyonunu arttırmaktadır. Yapılan çalışmalar anormal gonadotropin salınımından insülin direnci veya hiperinsülineminin sorumlu olabileceğini bildirmektedir (Dorn vd., 2004; . Lawson vd., 2008). İnsülinin fazlalığı LH ile sinerjetik hareket ederek ovaryumun teka hücrelerinden androjen üretimini uyarır ve androjen üretimiyle karaciğerden SHBG üretimi baskılanır. Bu faktörlerin her ikisinde hiperandrojenizm gelişimini desteklemektedir (Nestler vd., 1991; Nestler vd., 1998).

Pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin vücuttaki insülin reseptörlerine bağlanır ve hücrelerin glukoz ihtiyacı karşılanır. İnsülin direnci geliştiğinde hücreler glukozu hücre içine alamaz ve sonuç olarak pankreas daha fazla insülin salgılar ve sonuç olarak hiperinsülinemi oluşur. İnsülinin metabolik aktivitesine duyarlılığın azalması insülin direnci (IR) olarak tanımlanır. İnsülin direnci metabolik faaliyetler için aşırı insüline ihtiyaç duyulmasıyla açıklanırken metabolik faaliyetlerin yanı sıra mitojenik ve üreme faaliyetleri için de insüline ihtiyaç duyulmaktadır (Saltiel& Kahn, 2001). Hızlı ve etkin glukoz analizi sayesinde araştırmacılar insülin direncini analiz edebilmektedir. Bu amaçla homeostatik model değerlendirmesi açlık glukoz ve insülin seviyeleri ölçümü klinik araştırmalarda ve PKOS'daki metabolik incelemelerde kullanılmıştır (Ciaraldi vd., 2009; Xu&Qiao, 2022).

PKOS'da karın bölgesindeki obezite insülin direncinin bir sonucudur. Ancak metabolik olarak aktif karın içi yağ dokularında bir artışa neden olup olmadığı belirsizdir. Yapılan çalışmalar obezitenin PKOS'lu bireylerde insülin direncinin ana risk faktörü olduğu sonucuna varmıştır. PKOS'lu kadınların büyük bir kısmının bozulmuş glukoz toleransı ve Tip 2 diabetes mellitus (T2DM)'dan muzdarip olduğu tespit edilmiştir. Glukoz toleransı bozukluğu ve T2DM'nin istatistiksel olarak yüksek prevalans oranı sağlıklı yaşam için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Çeşitli çalışmaların bulgularına göre obez ve aşırı kilolu olan tüm PKOS kadınların glukoz metabolizmasındaki bozukluklar

açısından daha büyük risk altında olduğu ve uygun metabolik profillemeye ile glukozlarını düzenli olarak kontrol ettirmeleri gerektiği sonucuna varılmıştır (Hao vd., 2016; Xu&Qiao, 2022).

PKOS ve oksidatif stres ilişkisi

Oksidatif stres PKOS, IR, obezite, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla ilgili çeşitli patolojik bozukluklarda tanınmıştır. Oksidatif stres biyolojik sistemlerde serbest radikallerin ve antioksidanların üretimi arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkar. Bu orantsızlık negatif bir denge kaymasıyla sonuçlanır. Serbest radikaller vücuttaki mikro ve makromoleküllerle oksidasyon yoluyla etkileşime girerler ve böylece hücre içinde ve dışında zararlı değişiklikler meydana gelir. (Dubey vd., 2021). Oksidatif stres sonucunda DNA ve protein hasarı meydana gelir. Normal reaktif oksijen türleri (ROS)'in oosit olgunlaşması ve folikülogenez ile birlikte fetal ve plasental gelişimi içeren embriyonik süreçlere katıldığı bilinmektedir. Aşırı oksidatif stresin ise fetal büyüme kısıtlamasına, düşüklere veya fetal ölümlere neden olduğu bildirilmiştir (Mohammadi, 2019; Shan vd., 2022). Oksidatif stres ile ilişkili hastalık durumlarında hiperglisemi ve artan serbest yağ asitleri ROS oluşumunu indükler. PKOS'da oksidatif stresi arttıran faktörler obezite, IR ve hiperglisemidir. Ancak IR olmayan obez olmayan PKOS kadınlarında da oksidan durumunun arttığı bildirilmiştir. Bu durum diğer faktörlerin bu kadınlarda ROS üretimini indüklemeye katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

PKOS ve düşük dereceli kronik inflamasyon

İnsülin direnci, oksidatif stres ve inflamasyon sıklıkla PKOS ile ilişkilendirilmekte ve metabolik sendrom gelişimi için risk faktörleri olarak tanımlanmaktadır (Duleba & Dokras 2012). Bir çok inflamatuvar mediatör ve kemokinlerde kadın üreme organlarının işlevinde önemli rol oynamaktadır (Montanino Oliva vd., 2018; Ruan & Dai, 2009). Oksidatif stres belirteçleri genellikle artmış inflamasyon ile ilişkilidir. Yüksek CRP seviyesi PKOS'lu bireylerde gözlenen belirgin inflamatuvar belirteçlerden biridir ve bu olgu diğer metabolik sendromları olan hastalarda da sıklıkla bulunur (Kelly vd., 2001).

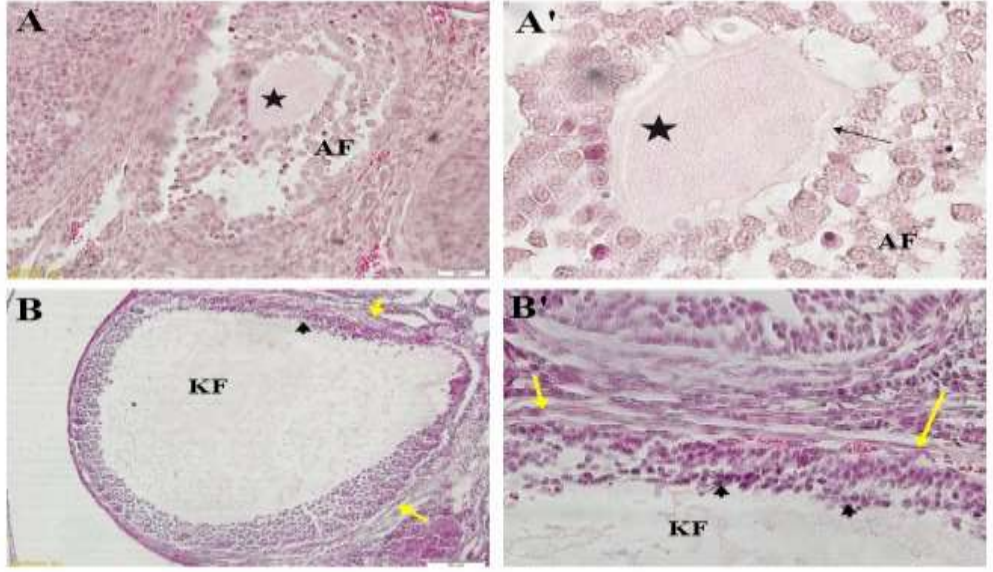
PKOS'lu hastalarda interlökin (IL)-18 ve monosit kemoatraktan protein1 (MCP-1) artmıştır. PKOS'lu hastalar birçok çalışmada artmış akyuvar sayısı (WBC) düzeyleri göstermiştir (Dubey vd., 2021). C-C motif ligand 3 (CCL3) gibi kemokinlerin katılımıyla gerçekleşen lökositlerin toplanması ve aktivasyonu da PKOS'lu bireylerde metabolik sendroma yol açabilir (de Jager vd., 2008). PKOS ve inflamasyon arasında düşük dereceli kronik inflamasyon ilişkisi olabilir. Endotelial inflamasyonun yanı sıra endotelin-1 (ET-1), çözünür intersellüler adezyon molekülü-1 (sICAM-1) ve çözünür vasküler hücre adezyon molekülü 1 (sVCAM-1) gibi endotelial fonksiyon belirteçlerinin PKOS'lu kadınlarda yüksek olduğu bildirilmiştir (Orio vd., 2004; Tarkun vd., 2004).

PKOS'ta ovaryum ve uterus histolojisi

Deneyisel olarak oluşturulan PKOS modellerinde ovaryumların morfolojik değişiklikleri dikkat çekmektedir. PKOS modeli oluşturulan kemirgenlere bakıldığında ovaryumların yüzey alanının ve hacminin iki kat arttığı bildirilmiştir. Ovaryumlar morfolojik olarak sıkı bilye paketiyle dolu küçük beyaz bir balona benzetilmektedir. PKOS'lu ovaryumların yüzeyinin düz olduğu ve ovulasyon gerçekleşmediğinden dolayı yüzey skarlaşmasının olmadığı belirtilmiştir. PKOS durumunda ovaryumlarda primordiyal folikül sayısında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Büyümekte olan foliküllerde ve atretik folikül sayılarında iki kat artış olduğu belirlenmiştir (Ross & Paulina, 2011). Polikistik over morfolojisi şu özellikleri içermektedir: tunika albuginea kalınlaşması, over stromal hiperplazisi, stromal hücre luteinizasyonu ve büyük kistik antral foliküller. Kortikal stroma kalınlığı üçte bir oranında subkortikal stroma ise beş kat artmıştır. Ayrıntılı ultrason değerlendirmesinde PKOS'lu kadınların kontrollere kıyasla yumurtalık hacmi, stromal hacim ve stromal tepe kan akış hızının önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. PKOS hastalarında artmış ovaryan vaskülarizasyon ve kan akışı kaydedilmiştir. Folikül birikimi, korpus luteum yokluğu ve ovaryum hacmindeki artış, PKOS'lu ovaryumlarının dikkat çekici belirtilerinden bazılarıdır. (Kinneer vd., 2020) (Şekil 2.2 A-B').

Ovaryumda bulunan foliküllerin büyük çoğunluğu atrezi adı verilen dejeneratif bir sürece uğramaktadır. Olgun foliküller de dahil olmak üzere foliküler gelişimin herhangi bir aşamasındaki her folikül atreziye uğrayabilmektedir. Atreziye uğrayan foliküllerdeki yapısal değişikliklere bakıldığında; granüloza hücrelerinin apoptoza uğrayarak birbirinden ayrıldığı, oositin otolizi ve zona pellusidanın dejenere olduğu gözlenir. Ardından makrofajlar dejenere olmuş folikülü istila eder ve hücre kalıntıları fagosite ederler. Fibroblastlar atreziye uğramış foliküle gelerek granüloza hücrelerinin yerini almaktadır. (Şekil2.2.A-A'). Ovaryumlarda ovulasyonu gerçekleşmeyen sekonder foliküllerden kistik foliküller meydana gelmektedir. Kistik foliküller ince bir duvar yapısına sahiptir (Şekil2.2.B-B'), soluk asidofilik boyanma özelliği gösteren kalıntılar ya da kanla dolu kistik yapılar şeklinde tanımlanmaktadır. Bu yapılar hücre döküntüleri, dejenere olmuş oositler ve köpüksü görünümde, vakuollü veya pigment yüklü makrofajlar içermektedirler. Kistik foliküller 1-4 katlı kübik yapıda granüloza hücresi ile çevriliyken, boyutu daha büyük olan kistler ise fibröz bir kapsül üzerinde tek bir hücre tabakası ile çevrilidir (Mescher, 2013; Dixon vd., 2014; Şimşek, 2016).

Sıçanlarda dehidroepiandrosteron (DHEA) ile indüklenen bir PKOS modelinde değişen hücre organizasyonu, kolajen birikimi ve su emilimi nedeniyle genel uterus kalınlığı arttığı bildirilmiştir (Bracho vd., 2019). Ayrıca hamsterlarda letrozol ile indüklenen bir PKOS modelinde kistik dilatasyonlu genişlemiş endometriyal bezlerle birlikte endometriyal hiperplazi gösterilmiştir (Hansda & Haldar 2021). Bir diğer çalışmada ise DHEA farelerinde implantasyonla ilgili genlerin değişmiş ekspresyonu ile uterus reseptivitesi ve desidualizasyon bozulduğu gösterilmiştir (Li vd., 2016). DHEA ile indüklenen bir PKOS murin modelinde uterusun hiperplastik ve daha kalın olduğu, lüminal epitel kalınlığının arttığı ve daha düşük hücresellik gösteren alttaki stromaya invajine olduğu, glandular ve luminal epitel hiperplazisi, çoklu hücre katmanlarının oluşumu, artmış kollajen birikimi, endometriyal stromada daha yüksek vaskülarite ve inflamatuvar hücrelerin (eozinofiller, lenfositler ve makrofajlar) artmış olduğu bildirilmiştir (Palmerini vd., 2023).



Şekil 2.2. PKOS ovaryum görüntüsü. A-A', dejenere olmuş oosit (siyah yıldız) ve bozulmuş zona pellucida (siyah ok) yapısı ile bir atretik folikül. B-B', granüloza hücre katmanındaki azalma (siyah ok başı) ve teka tabakasındaki incelme (sarı ok) ile bir kistik folikül histolojisinin gösterimi. AF, atretik folikül. KF, kistik folikül. Hematoksilen-eozin boyama. A) 40X A') 100X, B) 40X ve B') 100X'lik büyütmeleler.

2.2.3. Açıklanamayan İnfertilite

İnfertilite 12 aylık düzenli korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebelik elde edilememesi olarak tanımlanır. İnfertil çiftlerin yaklaşık %85'inin tanımlanabilir bir nedeni vardır. İnfertilitenin en yaygın nedenleri ovulatuvar disfonksiyon, erkek kaynaklı infertilite ve tubal hastalıklardır. İnfertil çiftlerin geri kalan %15'inde "açıklanamayan infertilite" vardır. Açıklanamayan infertilite tanısı infertilite için tedavi arayan çiftlerin önemli bir alt grubunu kapsamaktadır. Ovulatuvar fonksiyon, tubal açıklık ve semen analizinin değerlendirilmesinden sonra infertilite için tedavi arayan çiftlerin %10-%30'unda herhangi bir etiyoloji tespit edilememektedir (Gunn & Bates, 2016).

Sigara ve obezite gibi yaşam tarzı ve çevresel faktörler doğurganlığı olumsuz etkileyebilir. Ovulasyon bozuklukları infertilite tanılarının yaklaşık %25'ini oluşturur; anovulasyonu olan kadınların %70'inde polikistik over sendromu vardır. İnfertilite, infertilite ile ilişkili altta yatan kronik bir hastalığın

belirteci de olabilir. Klomifen sitrat, letrozol gibi aromataz inhibitörleri ve gonadotropinler, yumurtlamayı indüklemek veya IVF döngüleri sırasında ovaryum stimülasyonu için kullanılır. Gonadotropinlerin yan etkileri arasında çoğul gebelik (spesifik tedaviye bağlı olarak siklusların %36'sına kadar) ve asit, elektrolit dengesizliği ve hiperkoagulabileden kaynaklanan ovaryan hiperstimülasyon sendromu (siklusların %1-%5'i) yer almaktadır (Carson&Kallen, 2021).

Açıklanamayan infertilitenin belki de en iyi subfertilite olarak tanımlanabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu isimlendirme bazı çiftlerin müdahale olmaksızın gebe kalması açısından önemlidir (Steures vd., 2006; Carson&Kallen, 2021). Açıklanamayan infertilitesi olan 253 hasta üzerinde yapılan randomize bir çalışmada beklenti yönetimi grubunda %27 oranında devam eden gebelik gözlenmiştir. Diğerleri IVF bekleyen bir grup hastada %13 spontan gebelik oranı gözlemlenmiştir. Ancak bu grup 2 yıl veya daha uzun süreli açıklanamayan subfertilitesi olan hastalardan oluşmaktadır ve daha kötü prognostik bir alt grubu temsil ediyor olabilir. Başka bir grupta IVF bekleyen tedavi edilmemiş bir hasta grubunda 12 ay boyunca kümülatif gebelik oranı yalnızca %5,9 olmuştur. Bu değişkenliğe rağmen çiftlerin bir kısmı hiçbir müdahale olmadan gebelik elde edebilmektedir (Carson & Kallen, 2021).

2.3. Endometriyal Reseptivite

Embriyo implantasyonu hem embriyo hem de maternal endometriyumu içeren karmaşık bir süreçtir ve ilk adımları orta luteal faz sırasında yaklaşık dört ila altı günlük bir aralıkta gerçekleşir. Endometriyumun normal implantasyona izin verme yeteneğine reseptivite denir ve optimal reseptivite sağlıklı bir gebelik için temel oluşturan normal implantasyon süreçlerine yol açar. Robert Edwards bir yazısında endometriyumun yardımcı üreme teknolojisinde ilerlemenin önündeki son engel olduğunu belirtmiştir (Edwards, 2006). Embriyolar birçok doku bölgesine kolayca implante olurken endometriyum bu kısıtlı reseptivite penceresi dışında embriyoların implante olmasını engelleyebilme kabiliyetiyle benzersiz bir yapıya sahiptir (Lessey& Young, 2019a). Çoğu kadın luteal fazın ortalarında yalnızca steroid hormonları

E2 ve P4'nin ardışık etkileri ile yönlendirilen normal reseptiviteye ulaşır. Endometriyum ovulasyondan önceki iki hafta boyunca E2'ye maruz bırakılarak hazırlanır ve bunu takiben korpus luteumdan P4 üretimi ve sistemik salınımı ile desidualizasyon süreci başlar. İnsanda ve farelerde endometriyal reseptivitenin preresepitif faz, reseptif faz ve nonreseptif faz olmak üzere üç fazı vardır. İnsanlarda ovulasyondan sonra yedinci güne kadar uterus preresepitif fazdadır. yedi ile onuncu günler arasında reseptif durumdadır. Onuncu günden sonra blastosist bulunsa bile artık bir cevap oluşmaz uterus nonreseptif durumdadır. Farelerde ve ratlarda yapılan çalışmalarda ise dördüncü ve beşinci günler reseptif fazdır. Beşinci gün öğleden sonra uterus artık nonreseptiftir (Cha vd., 2012; Zhang vd., 2013).

Endometriyal reseptiviteyi değerlendirmek için altın standart yöntem histolojik değerlendirmedir. Endometriyal biyopsiler bu amaçla tipik olarak 28 günlük menstrual döngüsünün 19 ile 21. günleri arasında gerçekleşen implantasyon penceresi sırasında alınır. Histolojik değerlendirme implantasyon penceresi sırasında glandular ve stromal gelişim, vaskülarizasyon ve immün hücre infiltrasyonu dahil olmak üzere morfolojik değişiklikleri değerlendirmek için endometriyal dokunun analizini içerir. Rahatsızlık ve kanama ile ilişkili olabilen invaziv bir prosedür olmasına rağmen histolojik değerlendirme için endometriyal biyopsi endometriyal reseptiviteyi değerlendirmek için hala en güvenilir yöntem olarak kabul edilmektedir (Munro, 2019; Bajpai vd., 2023)

Reseptif bir endometriyumun oluşması östrojen ve progesteron hormonlarına ardışık olarak maruz kalındığında gerçekleşir (Lessey& Young, 2019a). Östrojen mitotik aktiviteyi artırır, endometriyumun fonksiyonel tabakasının implantasyona hazırlanması için kalınlaşmasını sağlar. Ras-mitogen-activated protein kinase (Ras/MAPK), Wnt/beta katenin ve phosphoinositide-3-kinase/Akt (PI3K/Akt) sinyal yolları önemlidir ve östrojen ile ilişkilidir. Östrojen preovuluar faz sırasında endometriyal tabakanın proliferasyonunu sağlar ve progesteron reseptör ekspresyonunda bir artışa neden olur (Moustafa& Young, 2020). Östrojen proliferasyon için gerekli olsa da aşırı östrojen aktivitesi endometriyal reseptiviteyi olumsuz

etkileyebilir (Lee vd., 2010). Östrojen reseptörü alfa (ER alfa) proliferatif faz sırasında östrojene yanıt olarak ekspresyonu artar. ER alfanın sekretuar fazda progesteron tarafından ekspresyonunun azalması başarılı embriyo implantasyonu için gereklidir. Ovulasyondan sonra progesteron reseptif bir endometriyum oluşturmak ve erken gebeliğin sürdürülmesi için gerekli olan önemli hücresel değişiklikleri indükler. Progesteronun ayrıca erken gebelikte immüntoleransı indüklediği düşünülmektedir. Normal ovuluar menstrual döngülerde implantasyon birkaç gün içinde gerçekleşebilir. Senkronize embriyo ve reseptif endometriyum arasındaki karşılıklı iletişim östrojen ve progesteron tarafından kolaylaştırılır ve embriyonun implantasyon sürecine izin verir. İmplantasyon bir embriyonun uterus duvarına tutunarak önce epitele ardından da plasentayı oluşturmak üzere annenin dolaşım sistemine nüfuz ettiği süreç olarak tanımlanır (Blanco-Breindel vd., 2023).

Endometriyal reseptivite blastosistin trofektoderminin endometriyal epitel hücrelerine bağlanabildiği ve daha sonra endometriyal stroma ve damar sistemini istila etmeye devam ettiği endometriyal maturasyon dönemidir (Lessey& Young, 2019b). Endometriyal reseptivitenin elde edilmesi "ya hep ya hiç" şeklinde ikili bir olay olmadığı gibi pencere benzetmesi de endometriyal ilişkili subfertilite ile ilişkili klinik gözlemleri açıklamak için yeterli değildir. Aksine anormal reseptivitenin dereceleri ve türleri tam implantasyon başarısızlığından (infertilite) ciddi derecede eksik implantasyona (düşük) ve hafif anormal implantasyon ve invazyona (örn. preeklampsi) kadar bir dizi üreme sorununa yol açar. Aslında reseptiviteyi bozan faktörlerin hepsi bilinmeyebilir. Ancak endokrin nedenler, inflamatuvar olaylar, ince endometriyum, fibroidler, polipler, septalar ve bağışıklık sistemi aracılı bozuklukları içermektedir (Lessey& Young, 2019b).

PKOS'lu kadınlarda olumsuz gebelik sonuçları çoğunlukla düşükler, zayıf embriyonik gelişim ve azalmış embriyonik implantasyon oranları olarak ortaya çıkmaktadır. PKOS'lu hastalarda bildirilen düşük oranları diğer subfertil popülasyonlarla karşılaştırıldığında %15-25 aralığındadır. IVF tedavisi alan hastalarda ovulasyon, metabolizma ve hormonal dengesizlik farmakolojik

olarak düzeltilebilir. Ancak transfer edilen embriyoların yüksek kalitede olması başarılı gebelik oranlarını artırmayabilir. PKOS'lu hastalarda implantasyon başarısızlığı ve spontan düşük oranı daha yüksektir. Bu durum jinekologları özellikle de üreme endokrinologlarını yıllarca şaşkırtmış ve bu sorunları iyileştirmenin oldukça karmaşık olduğu görülmüştür. Bu durum endometriyal reseptivitenin PKOS'lu kadınlarda gebeliğin oluşması ve gelişmesinde önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. Embriyonik implantasyon karmaşık bir süreçtir. Yeni oluşan embriyoyu kabul etmek ve tutmak için endometriyumun hazırlanması kritik bir adımdır. Bir çok doku embriyonik implantasyonu kabul edebilirken endometriyum implantasyon penceresi olarak adlandırılan kısa bir reseptif dönem dışında embriyoların implante olmasını engelleme kabiliyeti açısından benzersizdir (Zhao vd., 2022).

Endometriyal reseptivite progesteron direnci ve östrojen baskınlığı yoluyla steroid hormonlarının dengesizliği ile bozulabilir. Hem doğal hem de yapay döngülerde progesteron direnci proinflamatuar bir durumdan kaynaklanabilir. Endometriyumda inflamasyona neden olan durumlar arasında endometriozis, endometrit, adenomyozis ve hidrosalpingler bulunur. Etiyolojiden bağımsız olarak progesteron direncine bağlı östrojen-progesteron dengesizliği azalmış desidualizasyona ve östrojen baskınlığına yol açar. Uygun desidualizasyon desidualizasyonun embriyoya besin sağladığı, gelişmekte olan embriyoyu maternal immün yanıtıdan koruduğu ve trofoblastın invazyonunu düzenlediği için implantasyonda kilit bir faktördür (Blanco-Breindel vd., 2023). Östrojen dominansı hücre proliferasyonu, inflamasyon ve anjiyogenezde artışa yol açarak nonreseptif endometriyal durumu daha da kötüleştirir. Aşırı östrojen ve progesteron direnci ile tanımlanan bir durum olan endometriozis çalışmalarında endometriyumda ortaya çıkan inflamasyonun progesteron-östrojen aktivitesi dinamiğini değiştiren p450 aromatazın aşırı ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aromatazın aşırı ekspresyonu kötü IVF sonuçları ile ilişkilendirilmiştir (Brosens vd., 2004). Endometriyal reseptivite çok aktif bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir. Endometriyal reseptiviteye katkıda bulunan faktörlerin tümü bilinmemektedir ve araştırılmaya devam etmektedir.

2.3.1. Endometriyal Reseptivitenin Belirteçleri

Başarılı implantasyon reseptif bir endometriyum ve implantasyon yeterliliği kazanmış bir blastosist arasında senkronizasyon gerektirir. Bu iki olay maternal hormonlar özellikle de ovaryan östrojen ve progesteron tarafından hassas bir şekilde düzenlenir.

Moleküler ve genetik veriler sitokinler, büyüme faktörleri, homeobox transkripsiyon faktörleri, lipid mediatörler ve morfojen genler gibi lokal olarak üretilen sinyal molekülleri ile birlikte ovaryan hormonların karmaşık implantasyon sürecini belirlemek için otokrin, parakrin ve jukstakrin etkileşimler yoluyla işlev gördüğünü göstermektedir. Bununla birlikte erken gebelik döneminde embriyo-uterus etkileşimlerini yöneten moleküler sinyal yolları derinlemesine araştırılmaya devam etmektedir.

İmplantasyonun endometriyal yönünü değerlendirmek için günümüzde homeobox genes A (HOXA), Mucin (MUC)'ler, pinopodlar, lösemi inhibitör faktör (LIF), $\alpha\beta3$ - integrin ve hücreler arası bağlantılar gibi bazı göstergelerin endometriyal reseptivite ile yakından ilişkili olduğu bulunmuştur ve endometriyal reseptivitenin belirteçleri olarak kabul edilmiştir.

Morfolojik belirteçler

Endometriyumun menstrual döngü boyunca östrojen ve progesteronun etkisi altında mitotik aktivite, glandüler sekresyon ve stromal ödem gibi bazı morfolojik değişikliklere uğradığı uzun zaman önce keşfedilmiştir. Bu endometriyal morfolojik değişiklikler ile endometriyal reseptivite arasındaki kesin korelasyon henüz tam olarak belirlenmemiştir. Taramalı elektron mikroskobu ile menstrual siklusun 19-21. günleri arasında endometriyal reseptiviteye ulaşıldığında mevcut olduğu tespit edilen pinopod olarak tanımlanan epitelyal yüzeydeki spesifik globular çıkıntıları tanımlanır. Pinopodlar uterus lümenine doğru uzanır. Endometriyal maturasyonun fonksiyonel belirteçleri olarak kabul edilirler. Ancak bazı araştırma verileri endometriyal epitel yüzeylerinde ekspresyonları olmaksızın başarılı gebeliklerde bildirmektedir. Oluşumları östrojen (ER) ve progesteron reseptör

(PR) ekspresyonundaki dalgalanmalara bağlı gibi görünmektedir (Neykova vd., 2022).

Pinopodlar progesterona bağlı görünmektedir. Progesteron seviyesindeki orta luteal fazdaki artış ile menstrual döngü boyunca pinopodların ilk ortaya çıkışı arasında ilişki kaydedilmiştir. Dahası ekspresyonu blastosist implantasyonundan endometriyal reseptiviteye kadar gerekli olan bir Homeobox geni olan HOXA10 pinopod gelişiminde önemli bir role sahiptir. HOXA10 ifadesinin bloke edilmesi pinopod sayısını önemli ölçüde azaltır. HOXA10 hem endometriyal stromal hücre proliferasyonunu hem de epitelyal hücre morfogenezini düzenleyerek endometriyumda ikili bir rol sergilemektedir (Achache & Revel, 2006). Pinopodların rolü tam olarak bilinmemekle birlikte embriyo-endometriyal etkileşimlerde tercih edilen bölgeler oldukları görülmektedir. Blastosist tutunmasının endometriyal pinopodların üstünde gerçekleştiği gösterilmiştir. Blastosist adezyonu için gerekli reseptörler pinopod yüzeyinde yer almaktadır. Endometriyal pinopodların gelişimi lösemi inhibitör faktör (LIF) ve reseptörü, progesteron ve integrin α V β 3'ün orta luteal fazda artan ekspresyonu ile ilişkilidir. Mid-sekretuar faz sırasında pinopodların tespiti implantasyon oranlarını optimize etmek için endometriyal reseptivitenin değerlendirilmesinde son derece yararlı olabilir.

Biyokimyasal Belirteçleri

Yıllar boyunca çeşitli yöntemler kullanılarak endometriyal reseptivitenin birçok potansiyel biyobelirteci araştırılmıştır. Bunları incelemek için en son geliştirilen yöntemler yalnızca vücut sıvısı örnekleri gerektirmektedir ve lipidomik, proteomik ve metabolomik yöntemleri içermektedir (Altmäe vd., 2014). Proteomikler ve proteomik teknolojiler önemli yolların bir parçası olan çeşitli protein biyobelirteçlerinin araştırılmasında proliferatif ve sekretuar endometriyal faz arasındaki ekspresyon farkını incelememizi sağlayan yöntemlerdir. Endometriyal reseptivitenin biyokimyasal belirteçleri arasında endometriyal adezyon molekülleri (integrin), endometriyal anti-adezyon molekülleri (müsin1),

endometriyal sitokinler, endometriyal büyüme faktörleri ve endometriyal immün belirteçler bulunmaktadır.

Pinopod oluşumu maksimum seviyeye ulaştığında heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörünün lüminal epitel hücrelerinde ekspresyonunun arttığı ve pinopodlar ile birlikte implantasyona önemli katkısının olduğu düşünülür. Leukemia inhibitory factor (LIF), integrinler, L-selektin, HOXA 10, Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF), MUC1, glikodelin A (GlyA), glutaredoksin (Glx) gibi pek çok biyobelirteç pinopodlarla ilişkilidir (Quinn vd., 2020).

Hücre adezyon molekülleri yapı ve fonksiyonlarına göre integrinler, kaderinler, selektinler, immünoglobulin (Ig) süper ailesi olarak sınıflandırılmaktadır.

Hücre membranında yaygın olarak bulunan bir tür adezyon molekülü olan integrin α ve β alt birimlerinden oluşan bir heterodimerdir. İntegrinler uterus hem epitel hücrelerinde hem de stromal hücrelerde bulunur. İntegrin-ligand etkileşimleri trofoblastların invazyonu, adezyonu ve migrasyonunu artırır. Bunlar arasında $\alpha\beta3$ -integrin ile endometrial reseptivite arasındaki ilişki en belirgin olanıdır (Mokhtar vd., 2018).

Kaderinler kalsiyum bağımlı transmembran proteinleridir. Hücre-hücre adezyon mekanizmalarından sorumludur. Kaderinler buldukları dokuya göre E-kaderin, epitel hücrelerinde bulunan epitelyal kaderin; N-kaderin, nöronal kaderin, sinir sisteminde bulunan kaderin; P-kaderin, plasental kaderin olarak adlandırılırlar. Embriyonik gelişim sırasında spesifik adezyon moleküllerinin üretilmesini sağlar, hücre göçü ve doku diferansiyasyonunda rol oynamaktadır.

Selektinlerde kaderinler gibi kalsiyum bağımlı hücre adezyon molekülleridir. Hücre yüzeyinde bulunan transmembran yapıya sahip bir glikoproteindir. Bulduğu hücreye göre lökosit (L-Selektin), trombosit (P-Selektin) ve endotelial (E-Selektin) olarak isimlendirilmektedir. İmplantasyon sırasında embriyonun trofoblastlardan salgılanan L-Selektin ile endometriyumdan salgılanan L-selektin ligantları arasında bir köprü

oluşturularak endometriyuma bağlanması sağlanır. L-selektinler endometriyal reseptivite sırasında önemli bir biyobelirteçtir (Achache&Revel, 2006).

Lösemi inhibitör faktör (LIF) endometriyal bezler tarafından salgılanan bir tür sitokindir ve IL-6 ailesine dahildir. LIF sağlıklı embriyo gelişimi için zorunludur ve implantasyon penceresi sırasında embriyo implantasyonunda oldukça önemli bir rol oynar (Adu-Gyamfi vd., 2021).

Endometriyal epitel hücreleri arasındaki hücreler arası bağlantılar endometriyumun bütünlüğünü korumak ve dış patojenik faktörlerin istilasını önlemek için tam bir epitelyal bariyer oluşturmakla kalmaz aynı zamanda endometriyal reseptivitenin oluşturulmasında da önemli bir rol oynar. Hücreler arası bağlantıların anormal lokalizasyonu veya ekspresyonu endometriyal desidualizasyonun başarısız olmasına ve anormal embriyo implantasyonuna yol açabilir.

Müsin ailesinin önemli bir üyesi olan MUC1 yüksek oranda glikozillenmiş bir makromoleküldür. Hücre yüzeyinde yüksek seviyelerde eksprese edildiğinde MUC1 sterik bir engelleme etkisiyle hücresel yapışmaya müdahale edebilir. Bu nedenle MUC1 bir anti-adezyon molekülü olarak hareket ederek blastosistin endometriyuma yapışmasını önleyebilir. İn vitro fonksiyonel analizler MUC1'in fare endometriyal hücresinin blastosiste tutunması ve insan endometriyal hücrelerinin trofoblast hücrelerine tutunması üzerinde olumsuz bir etkisi olduğunu göstermiştir. MUC-1'in engelleyici etkisinin blastosistin implantasyon için en uygun bölgeye yönlendirilmesinde önemli olabileceği öne sürülmüştür. Bulgular memelilerde endometriyal reseptivitenin kazanılması ve ardından embriyo implantasyonu için MUC1'in endometriyumdan uzaklaştırılmasının önemini vurgulamaktadır. (Song vd., 2012; Kubota vd., 2021).

HOX gen ailesi üyesi olan HOXA geni uterusun epitelyal ve stromal hücrelerinde eksprese edilir. HOXA10 embriyogenez sırasında uterusun gelişimi ve şekillenmesi için çok önemli olan bir transkripsiyon faktörüdür. Seks steroidleri ve embriyolar HOXA10'un ekspresyonunu yönlendirir ve artan

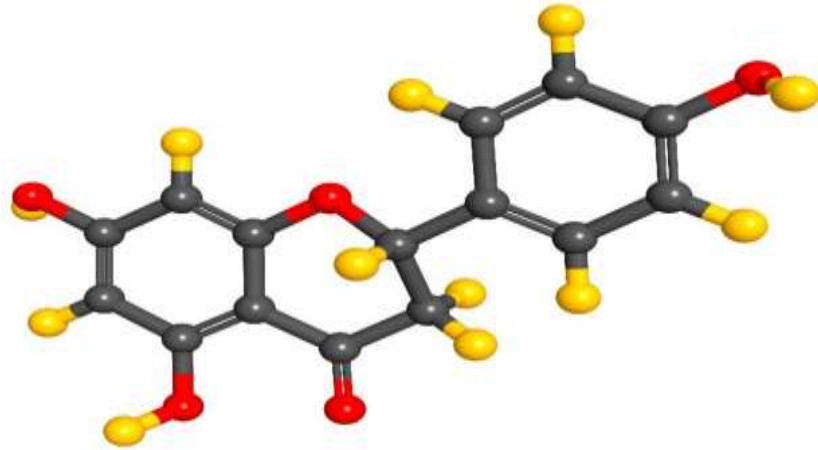
progesteron seviyelerine yanıt olarak implantasyon sırasında ekspresyonu artar (Cheng vd., 2022). HOXA10 ve HOXA11 eksikliği olan sıçanlarda embriyo implantasyon bozuklukları görülmüştür. Benzer şekilde araştırmalar infertilite hastalarının bir kısmında HOXA10 mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin azaldığını göstermiştir. PKOS, endometriyozis, hidrosalinks gibi implantasyon bozuklukları ile ilgili durumlarda da HOXA10 ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir. HOXA10'un yüksek ekspresyonu pinopodların gelişimi ve artışı ile ilişkilendirilmiştir. HOXA genleri endometriyumdaki β 3-integrin alt birimlerinde düzenler. $\alpha\beta$ 3 integrin pinopodlar üzerinde bulunur. Embriyo ile endometriyum arasındaki çapraz iletişime katılır. Pinopodlar ayrıca uterus boşluğuna LIF içeren salgı vezikülleri salabilir ve bu da $\alpha\beta$ 3-integrin ekspresyonunu arttırarak trofoblastın endometriuma adezyonunu arttırabilir (Akbas&Taylor, 2004; Matsuzaki vd., 2009).

Sirtuinler (SIRTs) son yirmi yılda memelilerde tanımlanan ve araştırılan nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) bağımlı histon deasetilaz ailesidir. Yıllar içinde sirtuinlerin histon deasetilasyonu, protein asilasyonu ve deasetilasyon dahil olmak üzere birçok hücrel fonksiyonda kilit rol oynadığı gösterilmiştir. Yedi enzimden oluşan sirtuin ailesi uzun yaşam, mitokondriyal fonksiyon, DNA hasarı onarımı ve metabolizma dahil olmak üzere çeşitli antioksidan ve oksidatif stresle ilişkili süreç ve fonksiyonlarla da bağlantılı olduğunu gösterilmiştir. Buna ek olarak deasetilaz aktivitelerinin anahtar bir redoks sinyal molekülü olan NAD^+ 'ya bağlı olması sirtuinlerin hücrel antioksidan ve redoks sinyal (ARS) yollarını düzenlemede ayrılmaz oyuncular olabileceği fikrini desteklemektedir. Oksidatif stresin başlıca aktörlerinden bazıları reaktif türler olup bunlar arasında en yaygın olarak reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) yer almaktadır. Birçok hastalık ve bozukluk hücrelerdeki oksidan/antioksidan dengesizliği ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmalar sirtuinlerin antioksidanları ve redoks sinyal yollarını düzenlemedeki rolünü göstermiştir. Mevcut çalışmalar sirtuinlerin önemli biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde ve dolayısıyla çeşitli hastalıkların patogeneğinde kritik öneme sahip olabilecek redoks sistemlerinin homeostazında önemli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle sirtuinler redoksle

düzenlenen hastalık durumlarının yönetiminde hedef olarak hizmet edebilir (Singh vd., 2018; Palmerini vd., 2023). Hücrel oksidatif stresin normal SIRT1 işleyişinde disregülasyona neden olabileceği görülmüştür (Oberdoerffer vd., 2008).

2.4. Naringenin

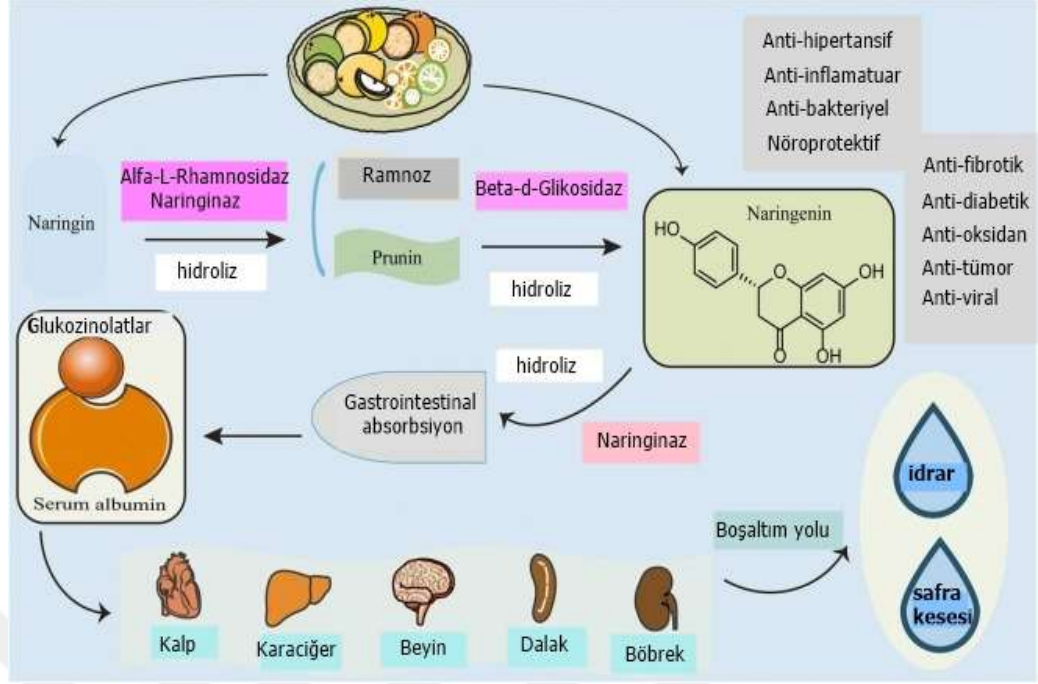
Naringenin (4',5,7-trihydroxyflavonone) başlıca turunçgillerde (greyfurt ve portakal) ve domatesde bulunmaktadır. Aromatik bir aminoasit olan fenilalanin'den sentezlenir ve farklı konjuge formları (özellikle aglikon, neohesperidoz ve glikosil) bulunmaktadır (Şekil 2.3). Bu formların her biri absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve eliminasyon gibi farmakokinetik özellikleri bakımından farklılık gösterir. Naringenin'in en zengin kaynağı greyfurtur ve "naringin" adı verilen inaktif bir glikon formunda bulunur. Hem naringin hem de naringenin güçlü antioksidanlardır. Ancak naringin naringenin ile karşılaştırıldığında daha az etkilidir. Naringin suda orta derecede çözünür (Alam vd., 2014). Kimyasal olarak naringin sindiriminden hemen sonra bağırsak bakteriyel naringinaz enzimi tarafından hidrolize edilir ve iki ara ürün olan rhamnose ve naringenin (4',5,7-trihydroxyflavonone - en aktif aglikon formu) oluşur (Shakeel vd., 2017).



Şekil 2.3. Naringenin'in kimyasal yapısı. Gri küreler: karbon atomları; sarı küreler: hidrojen atomları; kırmızı küreler: oksijen atomları (Bhia vd., 2021).

Naringenin'in intestinal sistem tarafından kolaylıkla emildiği bildirilmiştir. Bu yüzden dolaşımında hızla biyolojik olarak kullanılabilir hale gelir. Naringenin hızlı emiliminden dolayı naringenin farmakolojik olarak etkili formudur (Mir&Tiku, 2015). Farmakolojik çalışmaların birçoğu Naringenin'in çeşitli metabolik koşullar sırasında oluşan serbest radikalleri temizleyerek oksidatif stresi baskılama fonksiyonuna değinmiştir (Zaidun vd., 2018). Naringin veya greylift suyunun oral alımından sonra kanda ve idrarda önemli miktarda naringenin bulunmuştur (Alam vd., 2014). Naringenin'in insanlarda başlıca etki mekanizması sitokrom P450 izoformları olan CYP1A2 (Fuhr vd., 1993) ve CYP3A4'ün (Fuhr&Kummert, 1995) inhibisyonudur. Naringenin tüm opioid reseptör tipleri üzerinde başarılı bir şekilde antagonistik aktiviteler göstermiştir (Katavic vd., 2007). İnsanlarda olumlu sağlık etkileri vardır. Naringenin'in hepatoprotektif (Renugadevi & Prabu, 2010), anti-mutajenik (Francis vd., 1989), anti-kanserojen (Ekambaram vd., 2008), antioksidan (Santos vd., 1999), anti-diyabetik (Rayidi &Pari, 2011) ve antiaterojenik (Goldwasser vd., 2010) aktivitelere sahip olduğunu bildiren çok sayıda araştırma mevcuttur. İnflamasyon ve oksidatif hasarlara karşı rolü onu çeşitli oksidatif stresle ilişkili bozuklukların tedavisi için potansiyel bir aday haline getirmektedir (Şekil 2.4).

Normal hücrelerde herhangi bir eksojen uyaran veya endojen bir anomalinin neden olduğu DNA mutasyonları hücrelerin kontrolsüz bölünmesine neden olarak tümör gelişimine ve ilerlemesine yol açabilir. Kemoterapötik ajanlar hücre apoptozuna yardımcı olarak kanser önleyici aktivite göstermektedir (Varghese vd., 2019). Ancak kemoterapinin canlı sistem üzerindeki yıkıcı etkileri çok fazladır; mide mukozası, kıl folikülü ve kemik iliği hücreleri dahil olmak üzere her sağlıklı hücre ve öncelikle hızla bölünen hücreler bu süreçten zararlı bir şekilde etkilenir ve bu da normal işlevlerini kısıtlar (Friesen vd., 1996). Naringenin'in anti-kanser potansiyeli tartışılmıştır. Stefani ve ark. tarafından yürütülen kontrollü vaka çalışmasında flavonoid gibi maddelerin uygulamasından sonra özofagus, gırtlak, ağız boşluğu ve farenks ile ilişkili kanser riskinde azalma bildirmiştir (De Stefani vd., 1999).



Şekil 2.4. Naringenin'in vücuttaki sindirim, emilim ve atılım yolu. Naringenin naringinaz ve α -L-rhamnosidaz tarafından hidrolize edilerek prunin ve ramnoz elde edilir. Prunin'in β -d-glukosidaz tarafından naringenin'e parçalanmasından sonra naringinaz naringenin'i hidrolize eder ve sindirim sistemi tarafından absorbe edilir. Daha sonra hızla glukozid veya tiyoglukozidle birleştirir. Ardından serum albüminine bağlanır ve böbrek, dalak, kalp, karaciğer ve beyin gibi hayati organlara dağıtılır. Metabolitleri safra ve üriner sistem yoluyla atılır (Cai vd., 2023).

İnsan enzimleri prokarsinojenlerin aktif kanserojenlere dönüşmesine önemli bir katkı sağlar. Bu dönüşüm büyük ölçüde sitokrom P450 aracılığıyla gerçekleştirilir. Naringenin bu dönüşümü antagonize eder ve bundan dolayı karsinogenezi ve hücrelerin zarar görmesini önler (Tiwari & Mishra, 2017). Naringenin'in aromataz (CYP19) enziminin aktivitesini baskılayarak östrojen biyosentezinde azalmaya yol açtığı bilinmektedir. Östrojene bağlı meme kanserinde naringenin östrojen biyosentezinde rol alan östrojen sentetaz enzimi üzerinde inhibe edici etkiler sergilemiştir ve böylelikle östrojenlerin kanseri teşvik edici uyarıcı etkilerini azaltmıştır (Zhao vd., 2019).

Yapılan çalışmalar, naringenin uygulamasının streptozosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyelerinde düşüşe neden

olduğunu bildirilmiştir (Kumar&Pandey, 2013; Sánchez-Salgado vd., 2007). Naringenin'in fruktoz verilen insüline dirençli sıçanlarda insülin duyarlılığı geliştirdiğini (Kannappan & Anuradha, 2010) ve LDL reseptörlerinden yoksun olan yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde ise insülin direncini azalttığı bildirilmektedir (Mulvihill vd., 2009). Tip 2 diyabetlilerde naringenin etki mekanizmasının metformin ile karşılaştırılabileceği söylenmiştir (Purushotham vd., 2009). Diyabetik ve obez kişilerin yağ dokuları çok sayıda Toll benzeri reseptör (TLR, Toll Like Receptor) ailesi üyelerini eksprese eder (Creely vd., 2007). TLR2 ve TLR4 reseptörlerinin serbest yağ asitleri tarafından aktive edilmesi insülin direnci olarak sonuçlanır (Shi vd., 2006). Naringenin peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-gama (PPAR γ)'nın aktivasyonu yoluyla adipositlerde TLR2 ekspresyonunu baskılamaktadır (Yoshida vd., 2013; Yoshida vd., 2014).

Naringenin PKOS semptomlarıyla mücadelede faydalı olabilecek ilginç bir madde olabilir. Naringenin doğal olarak bulunan bir flavonoiddir. Biyolojik olarak çok aktif bir moleküldür. Hücre döngüsünü durdurur ve farklı histolojik tiplerdeki insan tümör hücre dizilerinde apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Mide kanseri hücrelerinin ve hepatosellüler karsinom hücrelerinin yayılma ve metastatik potansiyelini baskılamıştır. Naringenin ayrıca glutatyon peroksidaz, SOD ve CAT gibi çeşitli antioksidan enzimlerin hücre içi seviyelerinde artışa neden olmuştur. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada naringenin'in kilo alımını önleyerek PKOS semptomlarını kontrol etmede etkili olabileceği ve serum glikoz seviyelerinde bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Hong vd., 2019; Joshi vd., 2018).

Yakın tarihli araştırmalar PKOS'lu kadınlarda naringenin'in testosteron ve östradiol seviyelerini azaltabildiğini bildirmiştir. Naringenin PKOS'un özelliklerinden biri olan oksidatif stresi azalttığı ve reaktif oksijen türlerini uzaklaştıran enzim konsantrasyonlarını arttırdığı gösterilmiştir. Naringenin'in sitoprotektif ve anti-enflamatuar etkileri bir in vitro deneyde cycloheximide ile kombinasyon halinde TNF- α tarafından indüklenen hasara karşı naringenin aracılığıyla hücrelerin korunduğu belirtilmiştir (Hong vd., 2019; Kicinska vd.,

2020). Naringenin'in tanımlanan özellikleri onu PKOS tedavisinin bir unsuru olarak düşünmeyi haklı çıkarmaktadır.

Daha önce yapılan PKOS çalışmalarında oksidatif stres hasarında malondialdehit (MDA) seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Deneysel PKOS modeli oluşturularak resveratrol ve metforminin ovaryum üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada PKOS gruplarında MDA seviyesinin arttığı, Resveratrol ve Resveratrol+Metformin verilen gruplarda serum MDA seviyesinin anlamlı oranda düştüğü sadece metformin verilen grupta ise MDA seviyesinde anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (Furat Rencber vd., 2018). Bu durum tedavide metforminin tek başına yetersiz olabileceğini düşündürmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yetiştirilen vücut ağırlığı yaklaşık 15-20 gram arasında değişen 25 günlük *Swiss* albino cinsi 40 adet dişi fare kullanıldı. Fareler oda ısısında, 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık periyotların sağlandığı ortamda bulundu ve deney süresince standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslendiler. Çalışma için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 18.05.2021 tarih ve 65202830-050.04.04-551 sayılı onay belgesi (EK) alındı. Rutin histolojik doku takip aşamaları ve immünofloresan boyamalar Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Ayrıca Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi (CÜTFAM) laboratuvarında yer alan cihazlarda kullanıldı.

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Etil Alkol (Merck, Germany)
- Ksilol (Merck, Germany)
- Paraformaldehit (Sigma. USA)
- Sodyum dihidrojen fosfat (Merck, Germany)

- Di sodyum hidrojen fosfat (Merck, Germany)
- Hematoksilen (Biooptica, Italy)
- Eozin-Y (Biooptica, Italy)
- Masson Trichrome Stain Kit (BesLab, BS-336))
- Picro Sirius Red Stain Kit (Abcam, ab150681)
- Phosphate Buffer Saline (PBS) (Sigma, USA)
- Tween-20 (Merck, Germany)
- Fluoroshield™ with DAPI histology mounting medium (abcam, ab104139)
- Entellan (Merck, Germany)
- MUC1 (S. Cruz Bio., sc-53381)
- HOXA10 (E-11) (S. Cruz Bio., sc-271428)
- SIRT1 (S. Cruz Bio., sc-74465)
- Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Flour 488) (ab150113 Abcam)
- Antibody Diluent Reagent (Invitrogen, USA)
- SuperBlock (Sky Tech Lab, USA)
- EDTA Buffer
- Citrat Buffer
- Dehidroepiandrosteron (DHEA) (Boston Usa Chemistry, BDM-806985)
- Metformin (Boston Usa Chemistry, BEE-080733)
- Naringenin (Boston Usa Chemistry, BNM-859367)
- Susam yağı (Zadevital, Türkiye)
- Carboxymethylcellulose (CMC)

3.2. Kullanılan Cihazlar

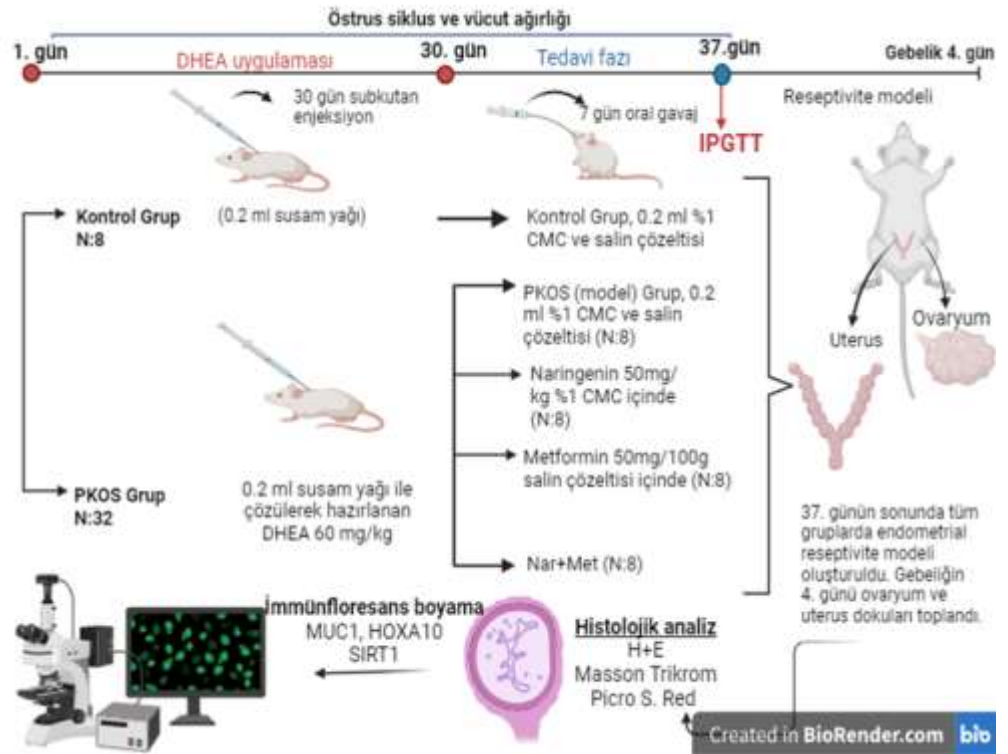
- Hassas tartı (Denver Instrument Company, USA)

- Manyetik karıştırıcı (BIBBY Stuart, UK)
- Vorteks (Clifton Cyclone, UK)
- Santrifüj (Msc Micro Centaur, UK)
- PH metre (Metle Toledo MP 2200, UK)
- Mikrodalga fırını (Arçelik MD 554 Intellwave, Türkiye)
- Mikropipetler -10 µl, 20 µl, 200 µl ve 1000 µl- (Gilson, USA)
- Ben Mari (Leica, Germany)
- Doku Takip Cihazı (Leica, Germany)
- Floresan Mikroskop (Olympus BX51, Japan)
- Mikrotom (Leica, Germany)

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Grup1: Kontrol grup, Grup2: PKOS grup, Grup3: Metformin grup, Grup4: Naringenin grup ve Grup5: Naringenin+Metformin grubu olmak üzere her grupta sekiz fare olacak şekilde beş gruba ayrıldı. Prepuberal 25 günlük dişi farelere dehidroepiandrosteron (DHEA) (6 mg/100g) 0,2 mL susam yağı içinde çözülerek 30 gün boyunca günde bir kez subkutan (sc.) enjekte edilerek PKOS modeli oluşturuldu (Delibaş, 2017; Xie vd., 2019). PKOS modeli oluşturma sürecinde kontrol grubumuzdaki farelere 30 gün boyunca DHEA maddesini çözmekte kullandığımız susam yağı sc. enjekte edildi. Grup 2, PKOS durumu tedavi edilmeyen model grubudur ve tedavi fazı süresince yedi gün boyunca metformin ve naringenin maddesini çözmekte kullandığımız %1 karboksimetil selüloz (CMC) ve salin çözeltisi 0,2 mL olacak şekilde oral gavaj aracılığıyla verildi. Grup 1'de bulunan farelere 30 gün susam yağı enjekte edildikten sonra yedi gün boyunca 0,2 mL %1 CMC ve salin çözeltisi oral gavaj aracılığıyla verildi ve yedinci günün sonunda endometriyal reseptivite modeli oluşturuldu.

Grup 2, 3, 4 ve 5'te bulunan farelere 30 gün boyunca DHEA uygulanarak PKOS modeli oluşturuldu. Ardından Grup 2'de bulunan hayvanlara yedi gün boyunca 0,2 mL %1 CMC ve salin çözeltisi oral şekilde verildi. PKOS model grubumuz olan Grup 2'deki farelerde yedinci günün sonunda endometriyal reseptivite modeli oluşturuldu. Grup 3'te bulunan fareler metformin tedavi grubu olup 50mg/100g metformin 0,2 mL salin çözeltisinde çözülerek oral gavaj aracılığıyla verildi (Huang vd., 2015; Fu vd., 2020). Grup 4 naringenin tedavi grubu olup 0,2 mL olacak şekilde 50mg/kg naringenin maddesi %1 CMC çözeltisinde çözülerek oral gavaj aracılığıyla verildi (Hong vd., 2019). Grup5 naringenin+metformin tedavi grubudur 0,2 mL olacak şekilde %1 CMC'de hazırlanan 50 mg/kg naringenin çözeltisi ve salin çözeltisinde hazırlanan 50mg/100g metformin çözeltisi oral gavaj yoluyla verildi. Grup 3, 4 ve 5'te bulunan farelerin yedi günlük tedavi sürelerinin bitiminden sonra endometriyal reseptivite modeli oluşturuldu (Şekil 3.1). Deneysel gruplarımız Tablo 3.1'de özetlenmektedir.



Şekil 3.1. Deneysel prosedürün şematik gösterimi (Biorender'da oluşturuldu).

Tablo 3.1. Deney gruplarının gösterimi

Gruplar	PKOS indüksiyon fazı (30 gün)	Tedavi fazı (7 gün)
Grup1 (N=8)	0,2 mL susam yağının sc. enjeksiyonu	0,2 mL %1 CMC ve salin çözeltisi oral gavaj aracılığıyla
Grup2 (N=8)	0,2 mL susam yağı içinde 60 mg/kg DHEA'nın sc. enjeksiyonu	0,2 mL %1 CMC ve salin çözeltisi oral gavaj aracılığıyla
Grup3 (N=8)	0,2 mL susam yağı içinde 60 mg/kg DHEA'nın sc. enjeksiyonu	0,2 mL Metformin (50mg/100g) salin çözeltisi ile çözülerek oral gavaj aracılığıyla
Grup4 (N=8)	0,2 mL susam yağı içinde 60 mg/kg DHEA'nın sc. enjeksiyonu	0,2 mL 50mg/ kg Naringenin %1 CMC ile çözülerek oral gavaj aracılığıyla
Grup5 (N=8)	0,2 mL susam yağı içinde 60 mg/kg DHEA'nın sc. enjeksiyonu.	0,2 mL 50mg/ kg Naringenin çözeltisi + 50 mg/ 100g Metformin çözeltisi oral gavaj aracılığıyla

3.4. Vücut Kütlesinin Ölçümü

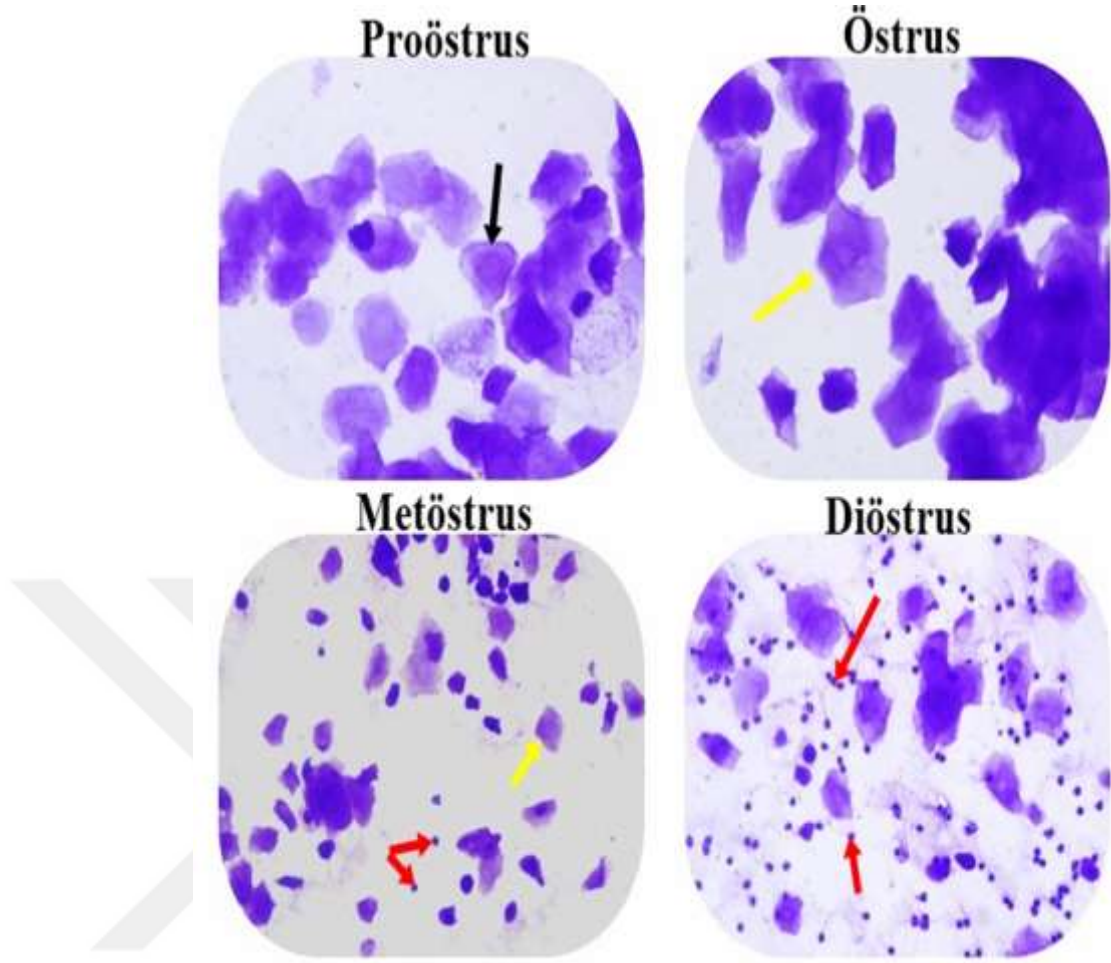
Tüm gruplarda farelerin ağırlıkları deney başlamadan önce ve deney sonunda tartıldı.

3.5. Ovaryum ve Uterus Kütlesinin Ölçümü

Tüm gruplarda fareler sakrifiye edildikten sonra alınan ovaryum ve uterus dokuları etraflarındaki yağ ve bağ dokuları temizlendikten sonra ağırlıkları ölçüldü.

3.6. Vajinal Smear Yöntemi

Deneyin 10. gününden başlayarak hergün saat 10:00-12:00 saatleri arasında vajinal yayma metoduyla farelerin östrus siklusu izlendi. Bir pipet aracılığıyla 0,5 mL serum fizyolojik farenin vajinasına püskürtülerek vajinal yıkama işlemi yapıldı ve pipet ucu çıkarılmadan birkaç kez vajinaya püskürtülen serum fizyolojik çekildi. Daha sonra bir lam üzerine yayılarak bir ile iki saat oda ısısında kurutularak fikse edildi. Boyama işlemi için beş dakika metilen mavisi uygulandı. Boyayı uzaklaştırmak için distile suda yıkandı ve kurutuldu. Epitel hücresi, kornifiye hücreler ve lökosit varlığına bakılarak östrus evreleri belirlendi. Proöstrus evresinde yuvarlak morfolojide, küçük ve nükleusa sahip epitel hücreleri yer almaktadır. Östrus evresi nükleusu olmayan keratinize kornifiye epitel hücrelerinin varlığıyla karakterizedir. Metöstrus evresi nükleusu olmayan keratinize kornifiye epitel hücreleri ve lökositlerin kombinasyonu şeklindedir. Diöstrus evresi nükleusu olmayan keratinize kornifiye epitel hücreleri ve çok sayıda lökositin bulunması ile karakterizedir (Delibaş, 2017) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Östrus siklus evreleri ve bu evrelerde mevcut olan hücre tipleri. Epitel hücresi (siyah ok), kornifiye hücreler (sarı ok) ve lökosit (kırmızı ok). Metilen mavisi boyama, 40x.

3.7. İntraperitoneal Glukoz Tolerans Testi (İPGTT)

Deneyin 37. gününde tüm gruplarda farelere 6 saatlik açlıktan sonra (08:00-14:00) intraperitoneal glukoz tolerans testi uygulandı (Ji vd., 2021). Farelerin glukoz yüklemesinden önce kan glukoz seviyeleri kuyruk veninden alınan kan ile bir glukometre aracılığıyla ölçüldü. Ardından %50 d-Glukoz, farelere 2g/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak enjekte edildi ve 0., 15., 60. ve 120. dakikalarda kan glukoz seviyeleri ölçüldü (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kan glukoz ölçümünün gösterimi.

3.8. Endometriyal Reseptivite Modeli

Fareler iki dişiye bir erkek olacak şekilde bir gece çiftleşmeye bırakıldı. Ertesi gün vajinal plak yapısı görülen fareler gebeliğin birinci günü kabul edilip, gebeliğin dördüncü günü farelerde reseptif dönem olarak belirtilmektedir (Dey vd., 2004; Wang & Dey, 2006). Gebeliğin dördüncü gününde tüm gruplardaki farelere 200 mg/kg pentotal sodyum (tiyopental sodyum) intraperitoneal yoldan enjekte edilerek ötenazi ile öldürülüp uterus ve ovaryum dokuları toplandı.

3.9. Doku Preparasyonu

Tüm gruplarından toplanan uterus ve ovaryum dokuları ışık mikroskopik inceleme için taze hazırlanmış %4'lük paraformaldehid çözeltisinde 6 saat +4°C'de fikse edildikten sonra dehidratasyon ve şeffaflandırma basamaklarını takiben parafin içinde bloklandı.

3.10. Işık Mikroskopi

Işık mikroskopik incelemeler için parafine gömülen dokulardan mikrotom ile 4-5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Gruplar arasındaki histopatolojik farklılıkları göstermek amacıyla hematoksilin-eozin boyaması

ve dokudaki kollajeni değerlendirmek için masson trikrom ve picro sirius red boyamaları yapıldı.

3.11. Histomorfometrik analiz

Tüm grupların uterus ve ovaryum parafin doku bloklarından seri kesitler alındı. Ovaryumlardan alınan beş seri kesit üzerinde 10x büyütmede kistik folikül, atretik folikül ve korpus luteum yapıları sayıldı. Uterustan yedi seri kesit alındı ve her görüntüde beş farklı alanda ölçüm yapıldı. Luminal epitel yüksekliği 40x büyütmede, subepitelyal stroma kalınlığı ve endometriyal bez sayısı 10x büyütmede ImageJ yazılımı kullanılarak analiz edildi.

Kullanıma hazır olan masson trikrom ve picro sirius red boya kitleri üretici firmanın tarif ettiği gibi uygulandı. Mikroskop ile uygun görüntülerin mikroğrafları alındı. Kollajen lif yoğunluğu masson trikrom boyama görüntüleri üzerinde analiz edildi (Song vd., 2023). Endometriyal kollajen ImageJ yazılımı kullanılarak ölçüldü. Her gruptan aynı büyütmede beş uterus görüntüsü seçildi bölgesel yoğunluk ölçümü her görüntüde stromada eşit büyüklükteki beş farklı alanda yapıldı ve istatistiksel değerlendirmede bu beş ölçümün ortalaması esas alındı. Ölçüm özelliklerinden %alan okumaları değerlendirildi ve istatistiksel analizde kullanıldı.

3.12. İmmünofloresan Boyama Protokolü

Parafine gömülü uterus dokularından alınan 3-4 µm'lik seri kesitler bir gece etüvde bekletildikten sonra aşağıda belirtilen işlem basamakları uygulandı.

1. 10 dk. ksilolde deparafinizasyon
2. % 100 'lük etil alkol 2 dk.
3. % 100'lük etil alkol 2 dk.
4. % 96'lik etil alkol 2 dk.
5. % 80'lik etil alkol 2 dk.
6. % 70'lik etil alkol 2 dk.
7. Distile su 5 dk.

8. Mikrodalga fırında 2 defa 10'ar dakika sırasıyla maksimum güçte ve 600W'da MUC1 antikorları için sitrat tamponu (pH:6.0) içerisinde epitoplarn açığa çıkarılması gerçekleştirildi. HOXA10 ve SIRT1 antikorları için Edta tamponu (pH:8.0) kullanıldı.

9. Pappen ile örneklerin etrafı çizildi.

10. Yıkama çözeltisi (PBS-Tween 20) 2 kez 3'er dakika yıkandı.

11. Kesitler hidrojen peroksit (H₂O₂, Thermo scientific, USA) çözeltisiyle oda ısısında 30 dakika nemli karanlık ortamda endojen peroksidaz bloklama.

12. Yıkama çözeltisinde (PBS-Tween 20) 2 kez 3'er dakika yıkandı.

13. Serum Bloklama: Kesitlerin immunoglobulinin nonspesifik taşınmasını engellemek için SuperBlock bloklama çözeltisinde oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

14. Kesitler primer antikorlarla +4 °C'de nemli karanlık ortamda gece boyu inkübe edildi. Bu çalışmada kullanılan MUC1, HOXA10 ve SIRT1 primer antikorlar 1/50 oranında seyreltildi. Primer antikorlar antibody diluent reagent (Invitrogen, USA) çözeltisiyle seyreltildiler.

15. Yıkama çözeltisinde (PBS-Tween 20) 4 kez 3'er dakika yıkandı.

16. Sekonder antikor (Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Flour 488)) oda ısısında 1 saat nemli ortamda inkübe edildi.

17. Yıkama çözeltisinde (PBS-Tween 20) 4 kez 3'er dakika yıkandı.

18. DAPI'li (Fluoroshield™ with DAPI, ab104139) kapatma medyumuyla kapatma yapıldı ve floresan ataçmanlı mikroskop (Olympus BX51, Japan) altında incelendi ve görüntüler kaydedildi.

İmmunofloresan boyama ile boyanan antikorların gruplar arasında yoğunluk farkını kantitatif olarak ölçmek için ImageJ yazılımı kullanıldı. Her bir protein için relatif floresan daha önce tarif edildiği gibi ölçüldü (Kinjo vd., 2014; Bagavandoss & Grimshaw, 2012; Venegas vd., 2019). Kısaca yeşil kanalda işaretlenen her protein için ortalama piksel yoğunluğu ölçüldü. Seçilen

alan (ilgilenilen bölge, ROI), her kesitten rastgele seçilen en az beş bölgeden (kare pikseller eşit olacak şekilde) ölçüldü.

3.13. İstatistiksel Analiz

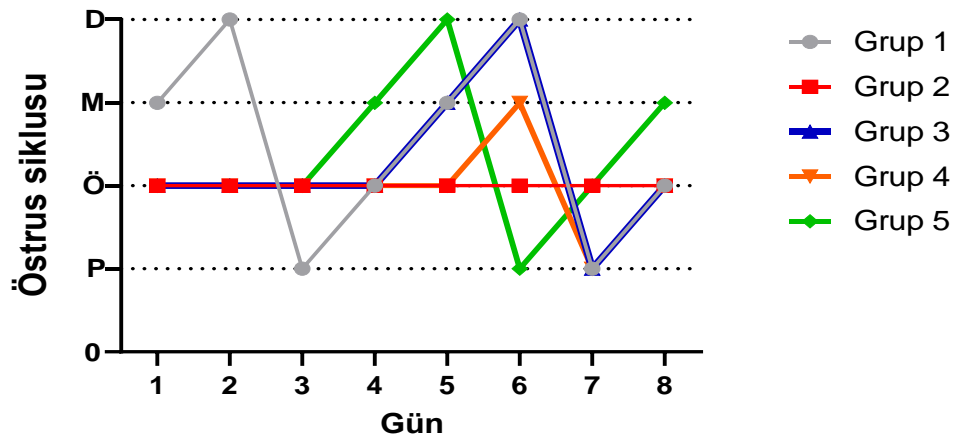
Çalışmamızda gruplar arasındaki farklılıkları karşılaştırmak için GraphPad Prism 8 yazılımı kullanıldı. Normal dağılım gösteren en az üç veya daha fazla grup arasındaki karşılaştırmalarda kullanılan One Way Anova varyans analizi yapıldı (Kim, 2017). Çoklu karşılaştırma için Tukey testi seçildi. $P < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. PKOS Bulguları

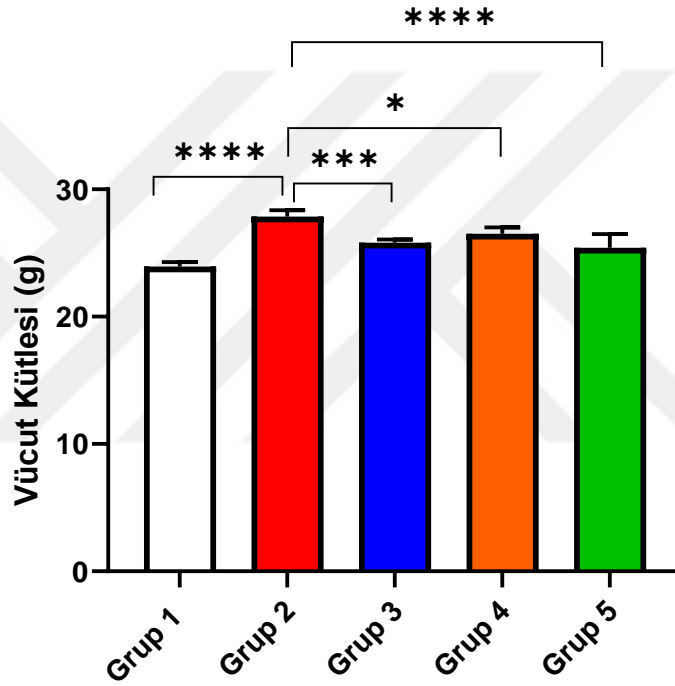
4.1.1. Östrus Siklusu, Vücut Kütlesi ve Ovaryum Kütlesi

Tüm gruplarda farelerin östrus siklusları takip edildi. Grup 1’de yer alan fareler düzenli bir östrus siklusu gösterdi. Grup 2’de bulunan farelerde siklus düzensizliği vardı. Bu grupta yer alan farelerin uzun süre östrus aşamasında kaldığı görüldü. Ayrıca proöstrus ve diöstrus aşamalarının kaybolduğu izlendi. Deney grupları olan Grup 3, 4 ve 5’de bulunan farelerin proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus aşamalarını içeren normal östrus siklusu göstermeye başladığı izlendi (Şekil 4.1).

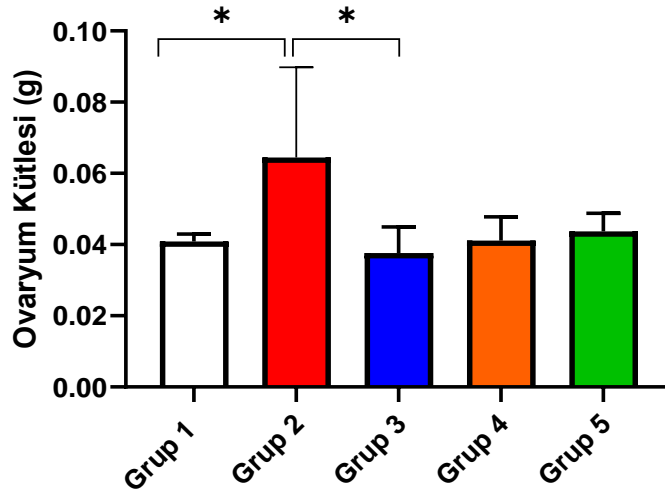


Şekil 4.1. Tüm gruplara ait östrus sikluslarının grafiksel gösterimi. P; proöstrus, Ö; östrus, M; metöstrus, D; diöstrus.

Deney sonunda tüm gruplarda farelerin ağırlıkları ölçüldü. Kontrol grup olan Grup1 ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda anlamlı bir artış olduğu belirlendi. Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 3, 4 ve 5’de anlamlı bir azalma olduğu belirlendi (Şekil 4.2). Fareler sakrifiye edildikten sonra toplanan ovaryumların ağırlıkları ölçüldü. Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2’de anlamlı bir artış belirlendi. Tedavi grupları olan Grup 3, 4 ve 5’te bir azalma olduğu görüldü. Bu azalmanın sadece Grup 3’te anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.2. Tüm grupların vücut kütlelerinin karşılaştırılması. * $p < 0,01$, ** $p < 0,007$, *** $p < 0,0008$, **** $p < 0,0001$.

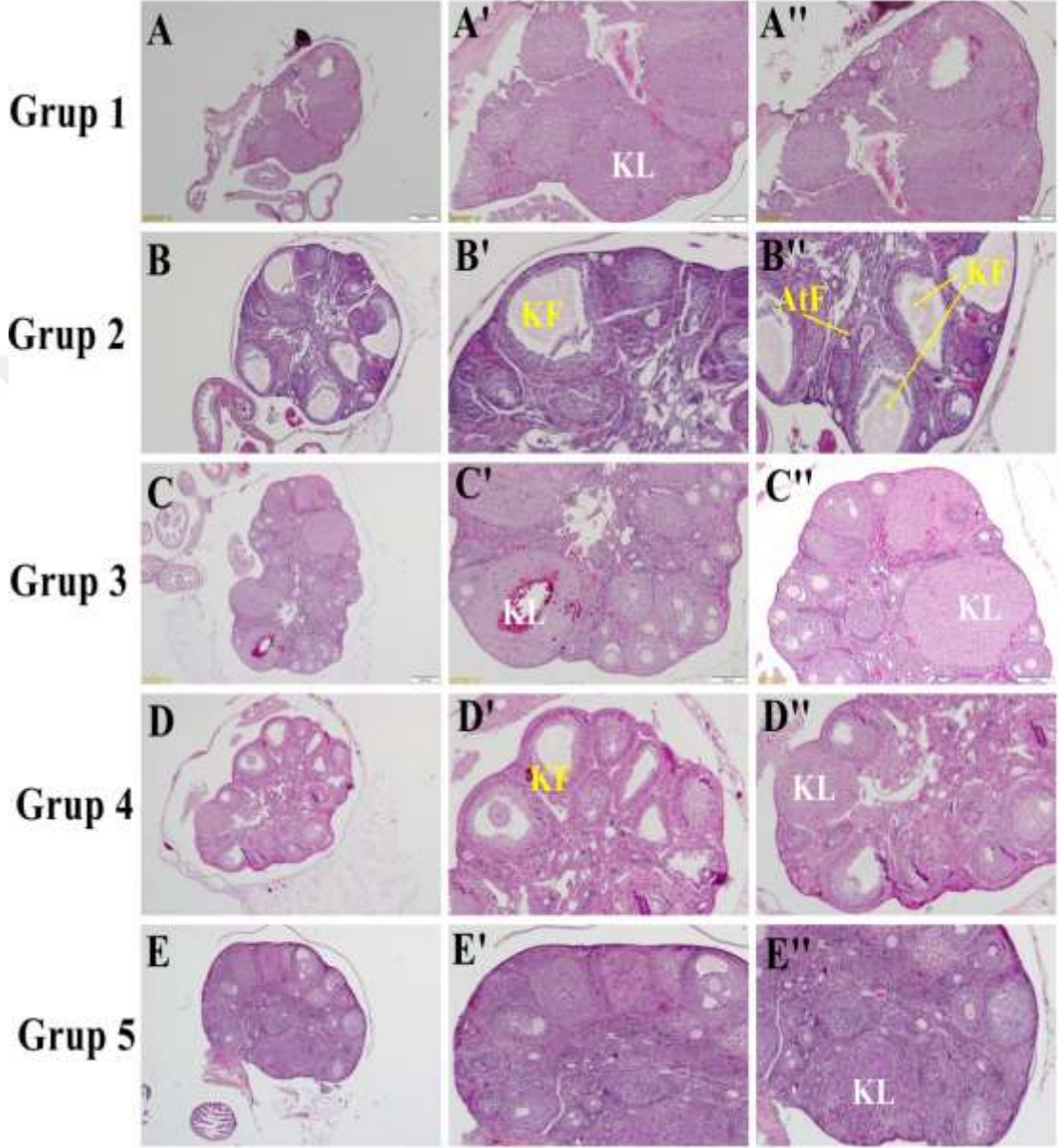


Şekil 4.3. Tüm grupların ovaryum kütlelerinin karşılaştırılması. * $p < 0,01$.

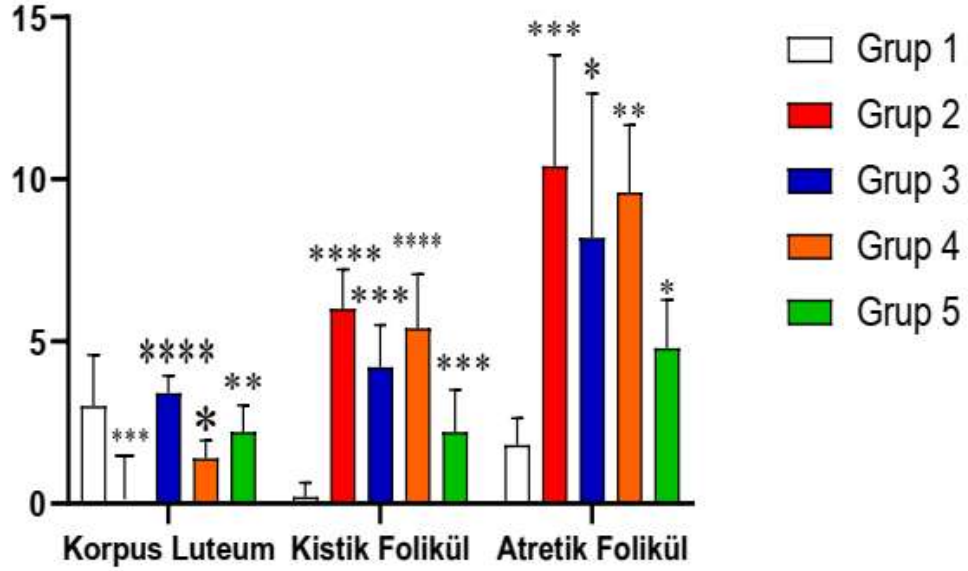
4.1.2. Ovaryum Histopatolojik Bulguları

Tüm gruplarda ovaryumlar histopatolojik olarak değerlendirildi. Grup 1’de ovaryumlar normal histolojik görünümdeydi. Korteks ve medulla normal yapıya sahipti. Kortekste çeşitli gelişim aşamalarında foliküller yer alıyordu. Ayrıca ovulasyon sonrası oluşan korpus luteum yapısı da bulunmaktaydı (Şekil 4.4 A-A’’). Grup 2’de ovaryum korteksinde granüloza hücre tabakasının ve teka tabakasının incelmesi kistik foliküllerin yer aldığı görüldü. Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2’de kistik folikül ve atretik folikül sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlendi (Şekil 4.5). Kortekste foliküller arasında yer alan stromal alanlarda ve medullada kanlanmanın arttığı görüldü. Ayrıca Grup 2’de korpus luteum yapısı izlenmedi. Bu durum ovulasyonun gerçekleşmediğini göstermekteydi (Şekil 4.4 B-B’’). Grup 3’te kistik ve atretik folikül sayısında anlamlı bir azalma vardı (Şekil 4.5) Grup 2 ile karşılaştırıldığında korpus luteum yapısında anlamlı bir artış belirlendi (Şekil 4.4 C-C’’). Grup 4 ait ovaryum kesitlerine bakıldığında Grup 3’e kıyasla korpus luteum yapısı daha az izlendi (Şekil 4.4 D-D’’). Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 4’te kistik ve atretik folikül sayısı anlamlı bir şekilde artmıştı (Şekil 4.5). Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 5’te kistik ve atretik folikül sayısında anlamlı bir azalma vardı (Şekil 4.4 E-E’’). Grup 5, Grup 4 ile

karşılaştırıldığında kistik folikül yapılarında anlamlı bir azalmanın olduğu ve Grup 2 ile karşılaştırıldığında korpus luteum sayısında anlamlı bir artış belirlendi (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Tüm gruplara ait ovaryum kesitlerinin hematoksilen-eozin boyanma görüntüleri. Korpus luteum; (KL), kistik folikül; (KF), atretik folikül; (AtF). A, B, C, D ve E görüntüleri 10X'lik, diğer görüntüler ise 20X büyütme lerdir.



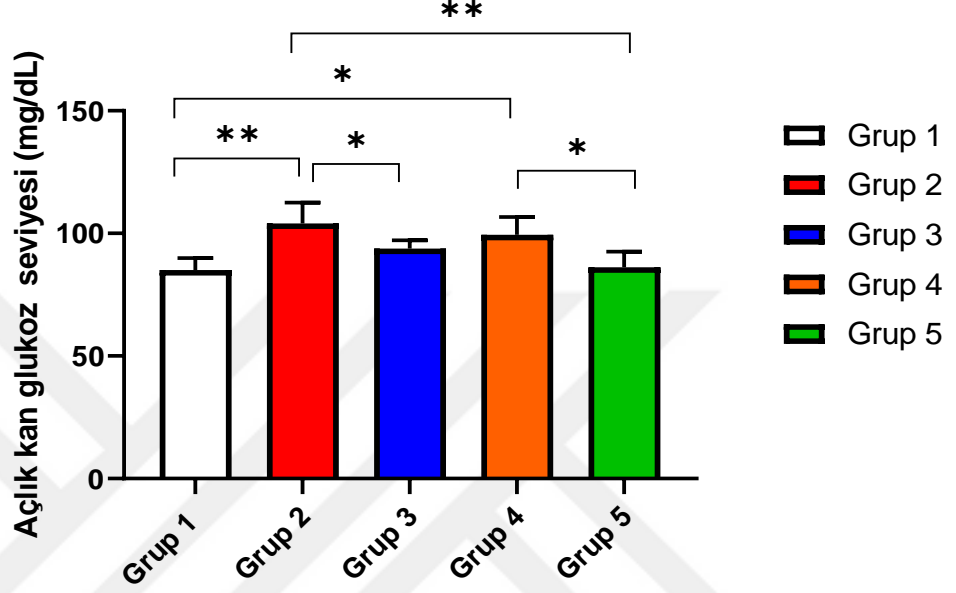
Şekil 4.5. Gruplar arasında ovaryumunlarda korpus luteum, kistik folikül ve atretik folikül karşılaştırılması. * $p < 0,01$, ** $p < 0,005$, *** $p < 0,0005$, **** $p < 0,0001$.

4.1.3. Açlık Kan Glukozu ve İntraperitoneal Glukoz Tolerans Testi (İPGTT) Bulguları

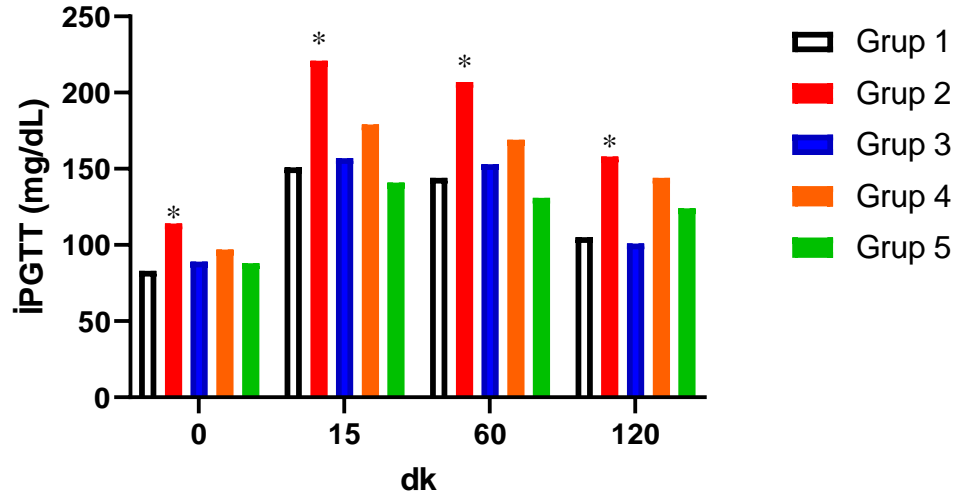
Gruplar arasında 6 saat açlıktan sonra yapılan kan glukoz ölçümünde Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2 'de istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi. Bu durum PKOS model grubu olan Grup 2 'de glukoz seviyesinin yüksek olması ile glukoz toleransının bozulduğunu göstermektedir. Grup 4 'te de anlamlı bir artış bulundu. Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 3 'de anlamlı bir azalma vardı. Grup 2 ve 4 ile karşılaştırıldığında Grup 5 'de istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttu (Şekil 4.6 A). İntraperitoneal glukoz uygulamasından sonra 0., 15., 60. ve 120. dakikalarda yapılan ölçümlerde Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2 'de anlamlı bir artış belirlendi. Grup 2 ile

karşılaştırıldığında Grup 3'teki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.6 B).

A



B



Şekil 4.6. Gruplar arasında glukoz toleransının karşılaştırılması.
*p<0,01, **p<0,002.

4.2. Endometriyal Reseptivite Sırasında Uterus Bulguları

4.2.1. Uterus Kütlesi ve Işık Mikroskop Bulguları

Tüm gruplara ait uterus dokularının ağırlıkları ölçüldü. Grup 1 ile kıyaslanınca Grup 2 ve Grup 4'te anlamlı bir artış olduğu belirlendi. Grup 2 ile karşılaştırıldığında tedavi grupları olan Grup 3 ve Grup 5'te anlamlı bir azalma vardı. Tedavi grupları arasındaki karşılaştırmada ise Grup 3 ile karşılaştırıldığında Grup 4'te anlamlı bir artış olduğu ve Grup 4 ile karşılaştırıldığında Grup 5'teki azalmanın anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 4.8 A).

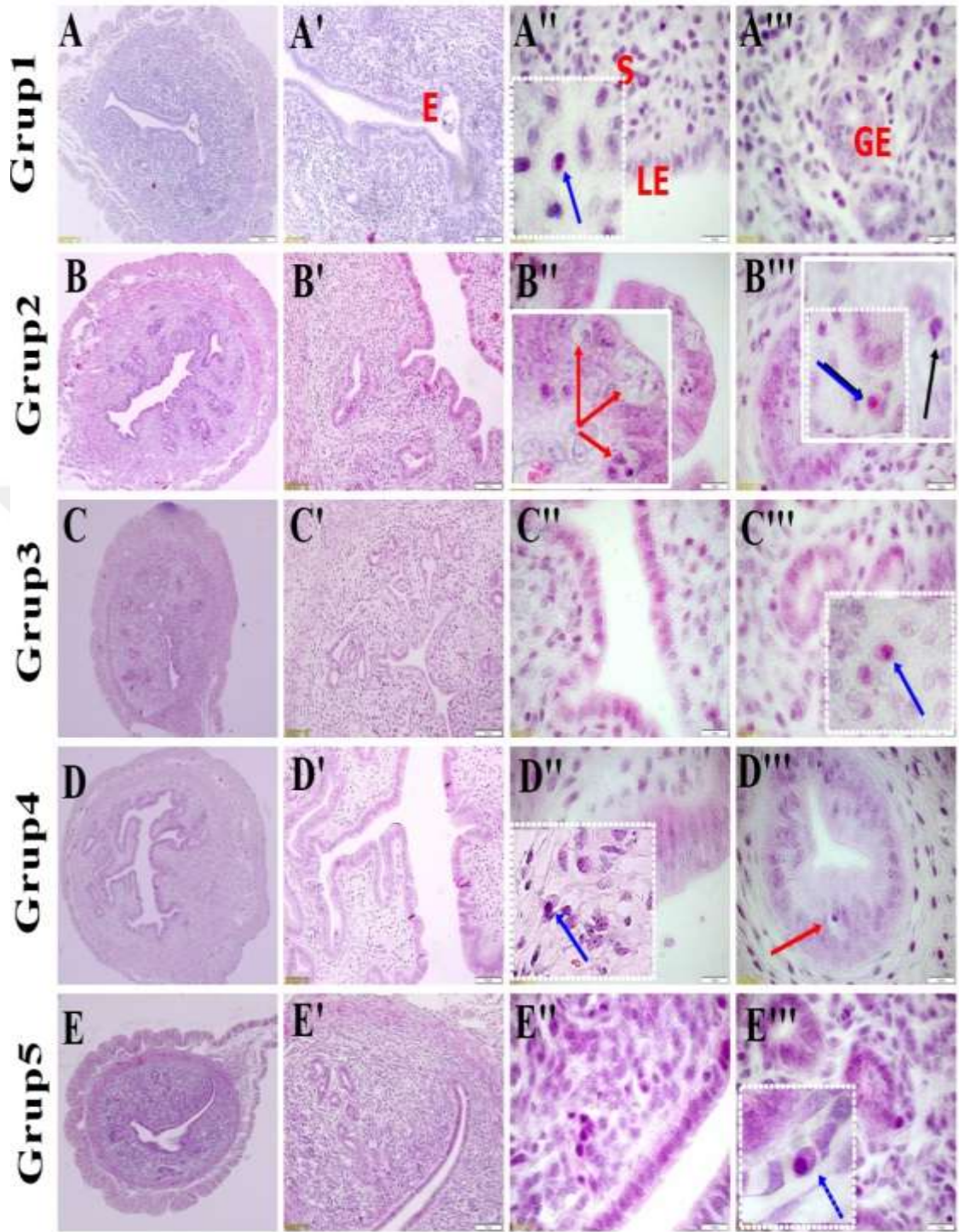
Uterustan alınan seri kesitler ile gruplar arasındaki histopatolojik ve morfometrik farklılıklar değerlendirildi. Kontrol grubu olan Grup 1'de uterusun endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum tabakaları normal histolojik yapıya sahipti. Stromada yer alan uterus bezlerinin yapıları normal görünümdeydi (Şekil 4.7 A-A''). PKOS grubu olan Grup 2'de epitelde ve stromada apoptotik ve vakuolize hücrelerin fazlalığı dikkat çekiyordu. Endometriyal stromada immün hücre infiltrasyonu mevcuttu. Stromal alanda plazma hücrelerinde bir artış olduğu ve plazma hücrelerinin sitoplazmasının asidofilik boyandığı görüldü. Bazı alanlarda ödem mevcuttu. Hem lüminal hem de bez epitelinin çok katlı veya yalancı çok katlı bir hal aldığı görüldü. Endometriyumda yer alan bazı bezlerin lümenleri genişlemişti (Şekil 4.7 B-B''). Grup 3'te lüminal ve bez epitelinin görünümü Grup 1' daha yakındı. Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 3'te genişlemiş lümenlere sahip bez yapıları daha az görüldü (Şekil 4.7 C-C''). Grup 4'te hem lüminal hem de bez epitelinin Grup 2'ye benzer olduğu görüldü. Endometriyumda genişlemiş lümene sahip bezler yer almaktaydı. (Şekil 4.7 D-D''). Grup 5, Grup 1 ile benzer görünümdeydi (Şekil 4.7 E-E''). Grup 3 ve 5'te epitel ile stromada izlenen apoptotik ve vakuolize olmuş hücrelerin varlığında bir azalma vardı. Ayrıca immün hücre infiltrasyonunda da azalma olduğu görüldü.

Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2 ve Grup 4'te epitel yüksekliğinin anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 3 ve 5'te epitel yüksekliği azalmıştı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı.

Tedavi grupları arasındaki kıyaslamada Grup 4 ile karşılaştırıldığında Grup 3 ve 5'teki azalmalar anlamlı bulundu (Şekil 4.8 D).

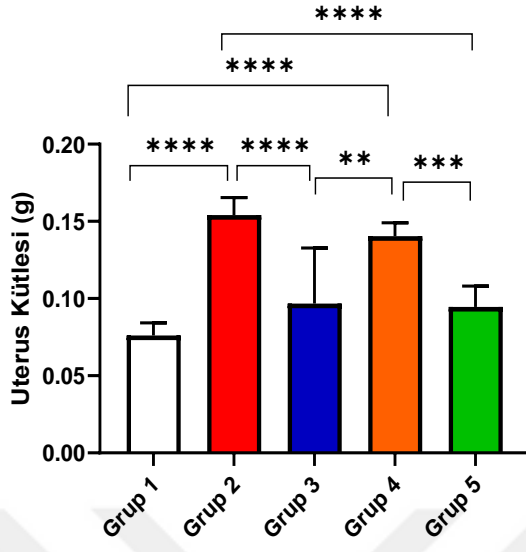
Subepitelyal stroma kalınlığına bakıldığında Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2, 3 ve 4'te anlamlı bir artış olduğu belirlendi. Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 5'te subepitelyal stroma kalınlığındaki azalma anlamlı bulundu. Grup 4 ile karşılaştırıldığında Grup 5'teki azalmada anlamlıydı (Şekil 4.8 C).

Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2'de endometriyal bez sayısında anlamlı bir artış vardı. Grup 2 ile karşılaştırıldığında tedavi grupları olan Grup 3, 4 ve 5'te bez sayısında azalma olduğu belirlendi ve bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.8 B).

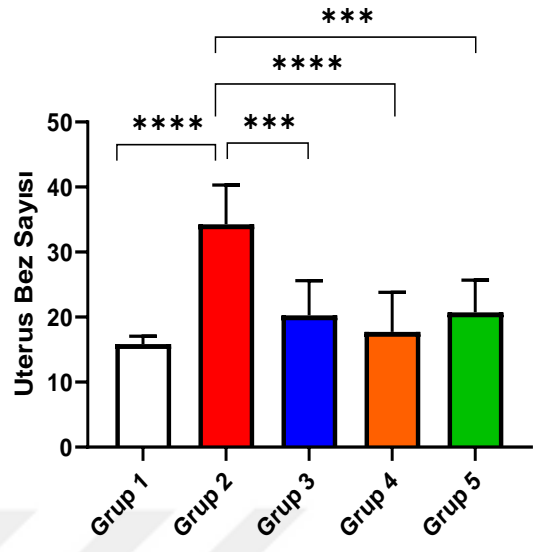


Şekil 4.7. Tüm gruplarda endometriyal reseptivite sırasında uterusun görünümü. Hematoksilen-eozin boyaması. İmmün sisteme ait hücreler; eozinofil (siyah ok) ve plazma hücresi (mavi ok). Apoptotik ve vakuolize hücreler (kırmızı ok). LE, luminal epitel; GE, glandular epitel; S, stroma; E, embriyo.

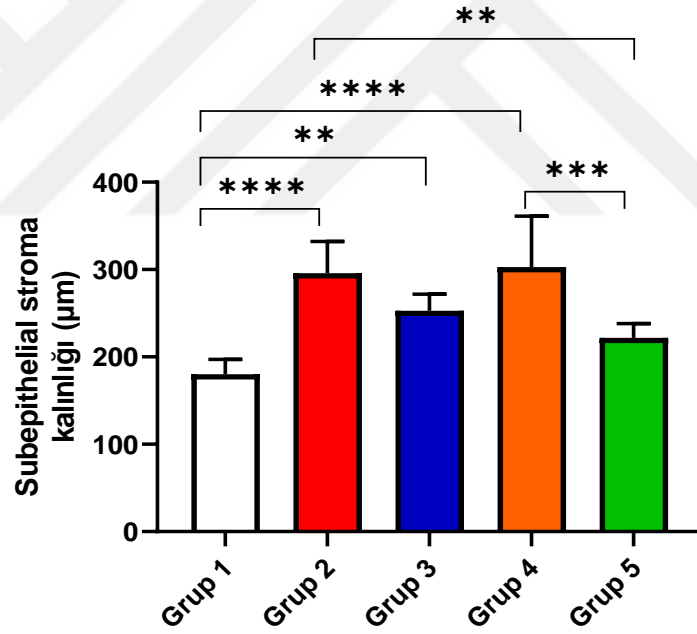
A



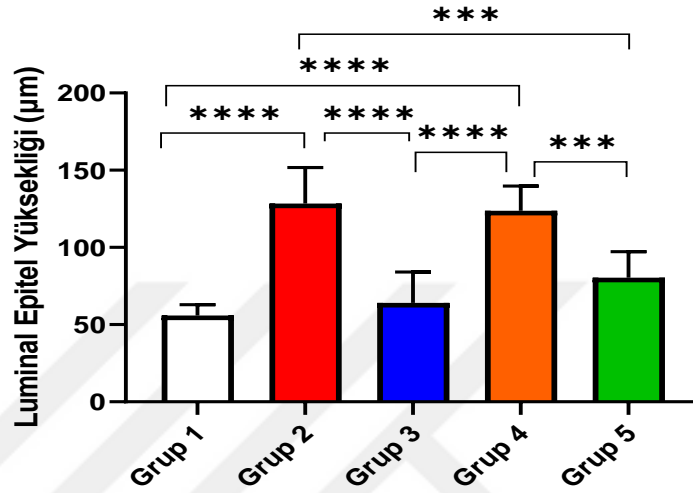
B



C



D



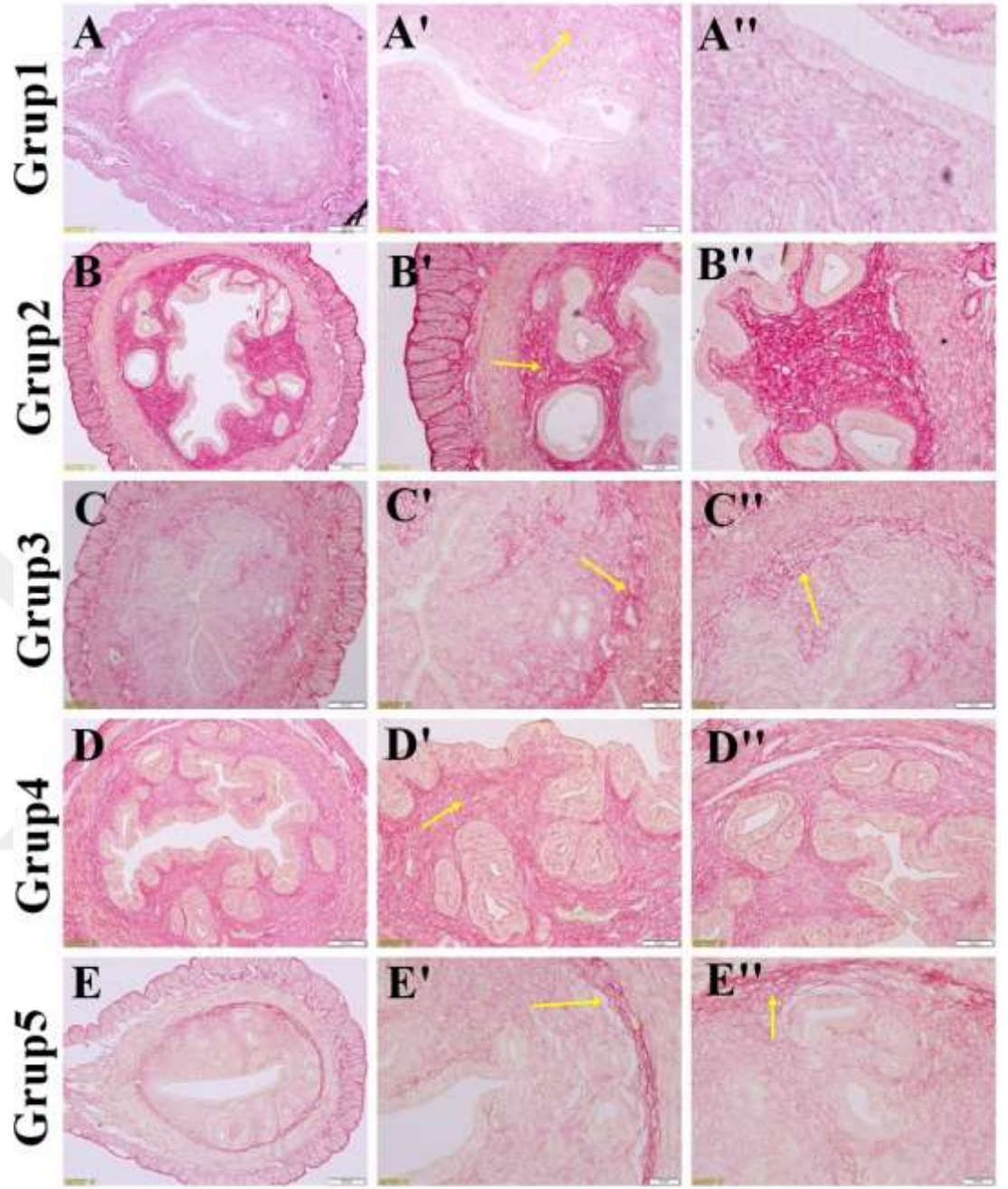
Şekil 4.8. Tüm gruplar arasında uterus kütesinin, bez sayısının, subepitelyal stroma kalınlığının ve luminal epitel yüksekliğinin karşılaştırılması. * $p < 0,02$, ** $p < 0,003$, *** $p < 0,0006$, **** $p < 0,0001$.

4.2.2. Picro Sirius Red ve Masson Trikrom Boyama Bulguları

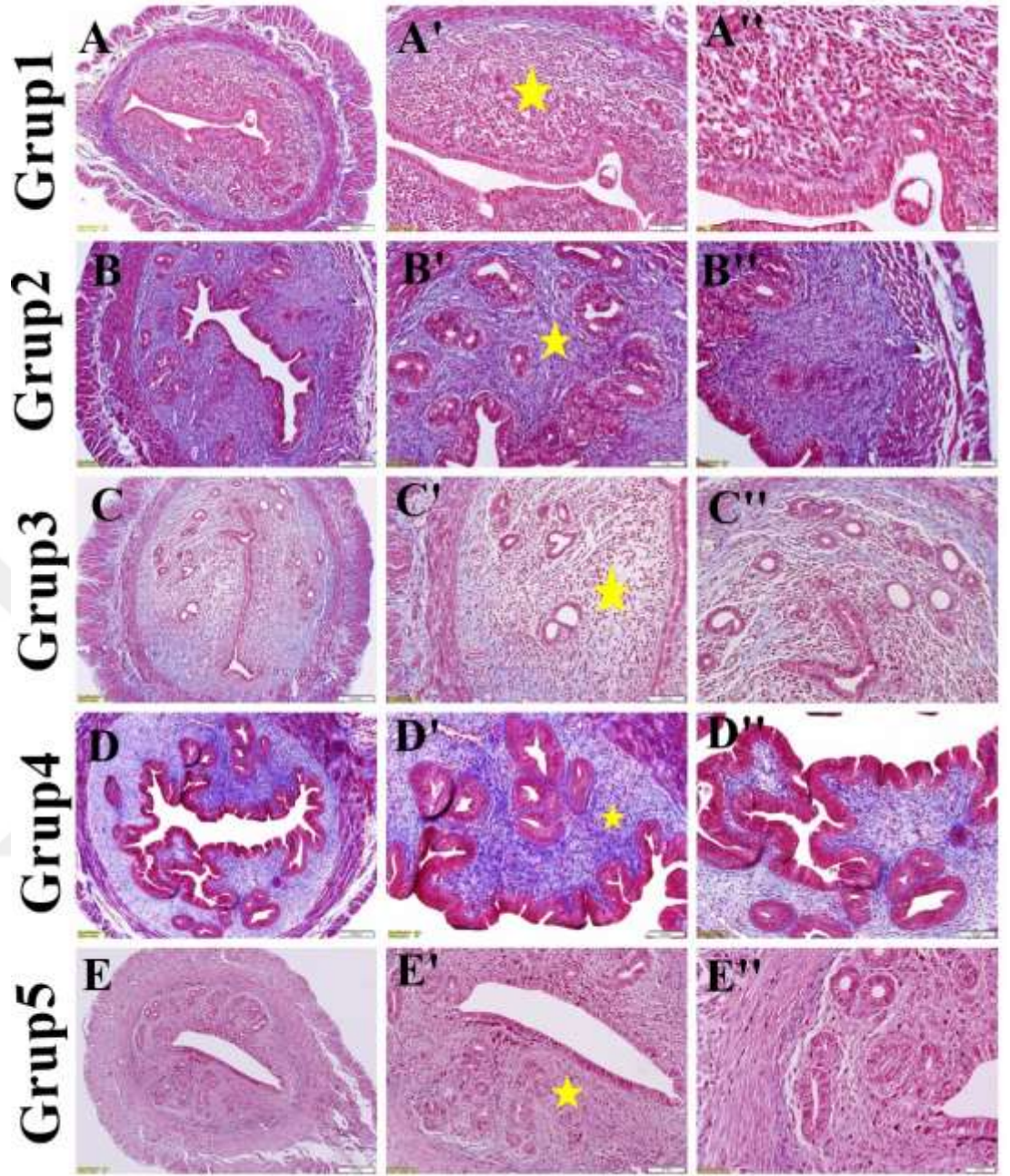
Tüm gruplardan alınan uterus kesitlerine kollajen gösteriminde kullanılan özel boyamalar yapıldı ve kollajen birikimindeki farklılıklar karşılaştırıldı. Grup 1'e bakıldığında endometriyumun miyometriyuma yakın bazal kısmında kollajenin daha yoğun olduğu görüldü (Şekil 4.9 A-A'' ve Şekil 4.10 A-A''). Grup 2'de uterusu genel olarak kollajen yoğunluğunda bir artış olduğu görüldü. Özellikle endometriyal stromada ve miyometriyumda kas demetleri arasındaki bağ dokusunda kollajen birikiminde bir artış vardı (Şekil 4.9 B-B'' ve Şekil 4.10 B-B''). Yapılan kantitatif ölçüm sonucunda da Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2'deki bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 4.11). Grup 3'te kollajen birikiminde azalma izlendi (Şekil 4.9 C-C'' ve Şekil 4.10 C-C''). Endometriyal stromadaki kollajen yoğunluğu Grup 2 ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde azalmıştı (Şekil 4.11). Grup 4'te uterusu Grup 1 ile karşılaştırıldığında kollajen birikiminde anlamlı bir artış

vardı (Şekil 4.9 D-D'' ve Şekil 4.10 D-D''). Fakat Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 4'te anlamlı bir azalma olduğu belirlendi. Grup 5'e bakıldığında kollajen birikimi Grup 1'e benzer görünümdeydi (Şekil 4.9 E-E'' ve Şekil 4.10 E-E'') ve Grup 2 ve 3 ile kıyaslanınca kollajen yoğunluğunun anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi. Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, Grup 3 ile yapılan kıyaslamada Grup 4'te kollajen birikiminde anlamlı bir artış vardı ve Grup 5'te de anlamlı bir azalmanın olduğu görüldü. Grup 4 ile yapılan karşılaştırmada da Grup 5'te anlamlı bir azalma mevcuttu (Şekil 4.11).

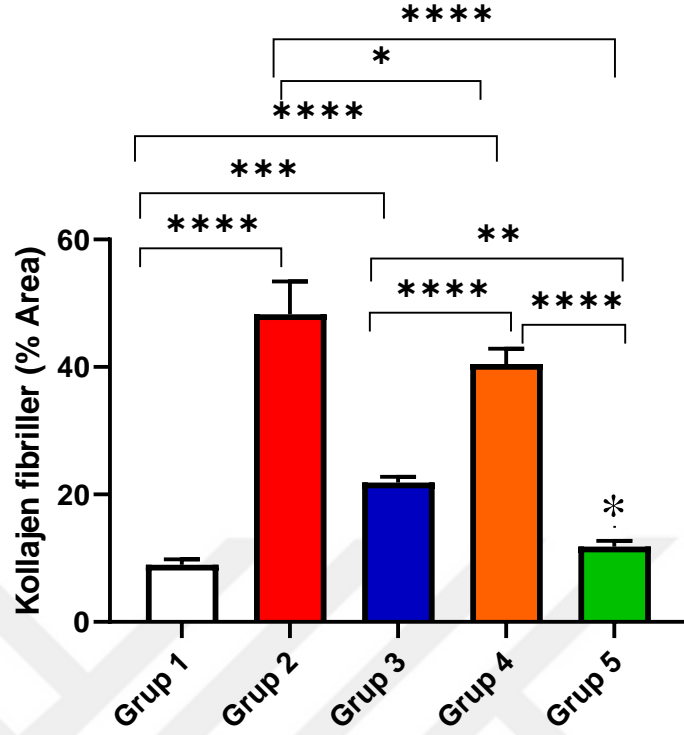




Şekil 4.9. Tüm gruplarda uterusun Picro Sirius Red boyanma görüntüsü. Sarı oklar, kollajen alanları işaret etmektedir.



Şekil 4.10. Tüm gruplarda uterusun Masson Trikrom boyanma görüntüsü. Sarı yıldızlar, uterus stromasını işaret etmektedir. Mavi boyanan alanlar stromada yer alan kollajen liflerin bulunduğu alanlardır.



Şekil 4.11. Gruplar arasında endometriyal stromada kollajen birikiminin kantitatif ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması. * $p<0,02$, ** $p<0,006$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$.

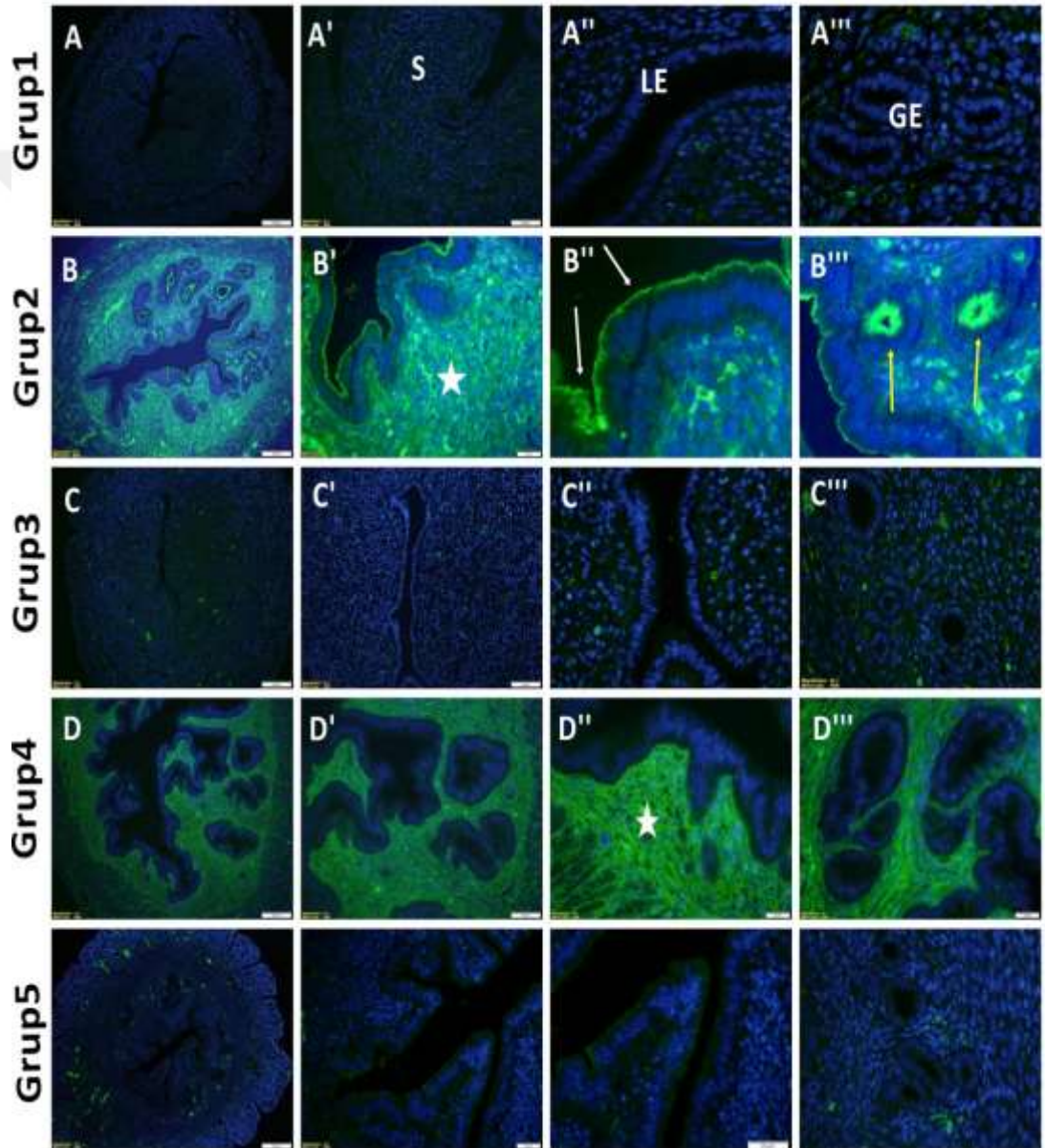
4.3. İmmünfloresan Bulguları

Tüm gruplardan alınan uterus kesitlerine MUC1, HOXA10 ve SIRT1 proteinlerinin ekspresyonlarını karşılaştırmak için immünfloresan boyama yapıldı.

4.3.1. MUC1 Bulguları

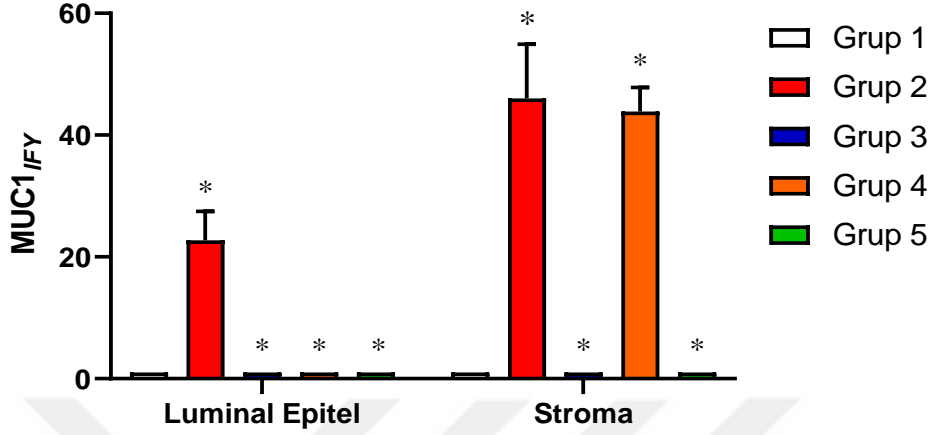
Tüm gruplarda MUC1 protein ekspresyonu immünfloresan boyama ile değerlendirildi. Grup 1'e bakıldığında MUC1 ekspresyonu izlenmedi (Şekil 4.12 A-A''). Grup 2'de özellikle lüminal epitelin apikal yüzeyinde ve endometriyal stromada MUC1 ekspresyonunda bir artış izlendi. Uterus bezlerinin lümenlerinde de yoğun bir ekspresyon vardı (Şekil 4.12 B-B''). Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2'de artan MUC1 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.13). Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 3'te MUC1'in ekspresyonu hem lüminal epitelde hem de stromada anlamlı bir

şekilde azaldı (Şekil 4.12 C-C’’’). Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 4 stromasında MUC1 ekspresyonunda anlamlı bir artış izlendi (Şekil 4.12 D-D’’’). Tedavi grupları arasındaki karşılaştırmada, Grup 4’deki MUC1 ekspresyonu ile karşılaştırıldığında Grup 3 ve 5’teki azalmalar anlamlı bulundu. Grup 5, Grup 1 ile benzer boyanma yoğunluğu gösterdi. Grup 2 ile karşılaştırıldığında hem stromada hem luminal epitelde ekspresyonun anlamlı şekilde azaldığı belirlendi (Şekil 4.13).



Şekil 4.12. Tüm gruplarda uterusda MUC1 ekspresyonun immünfloresan boyama ile gösterilmesi. Luminal epitel (beyaz ok), uterus bezlerinin lümeni

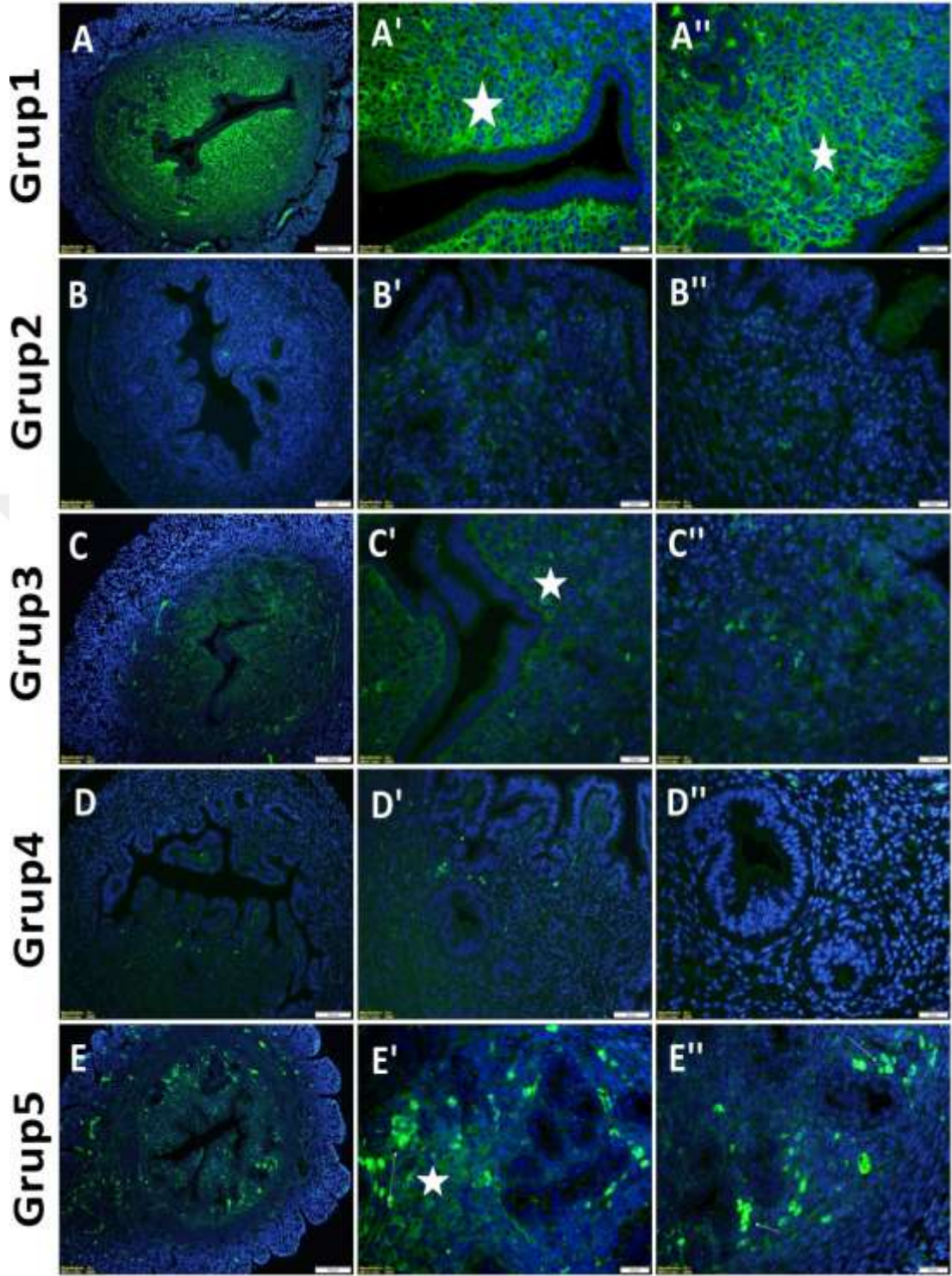
(sarı ok) ve endometriyal stroma (beyaz yıldız). S, stroma; LE, luminal epitel; GE, glandular epitel.



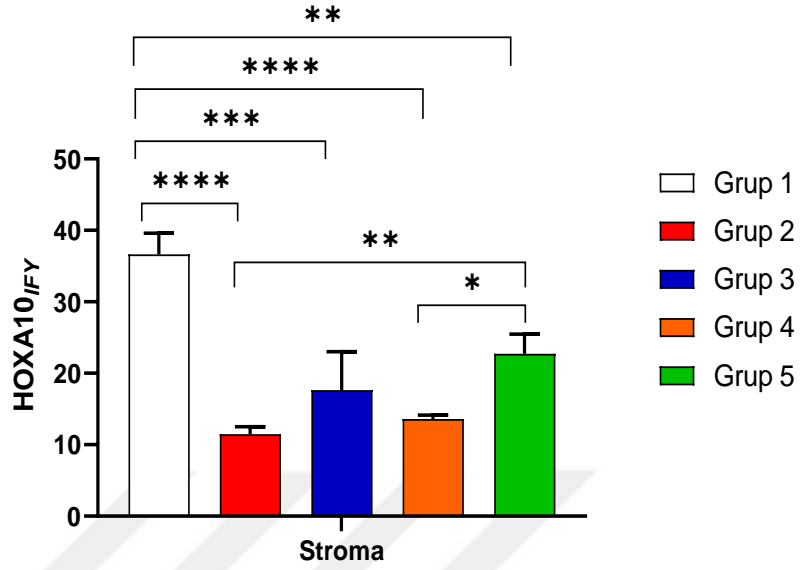
Şekil 4.13. Gruplar arasında MUC1 ekspresyonunun karşılaştırılması. *p<0,0001.

4.3.2. HOXA10 Bulguları

Tüm gruplarda HOXA10 protein ekspresyonu immünfloresan boyama ile değerlendirildi. HOXA10 ekspresyonu, Grup 1’de endometriyal stromal hücrelerde yoğun bir şekilde görüldü (Şekil 4.14 A-A’). Grup 2’de HOXA10 ekspresyonu oldukça azalmıştı (Şekil 4.14 B-B’). Grup 1 ile karşılaştırıldığında Grup 2’deki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Şekil 4.15). Grup 3’te stromal hücrelerde HOXA10 ekspresyonunda bir artış izlendi (Şekil 4.14 C-C’). Grup 4’e bakıldığında HOXA10 ekspresyonu Grup 2’ye benzerdi (Şekil 4.14 D-D’). Grup 5’te stromada HOXA10 ekspresyonunda artış olduğu ve bazı stromal hücrelerde ekspresyonun daha kuvvetli olduğu görüldü (Şekil 4.14 E-E’). HOXA10 ekspresyonunun, Grup1 ile karşılaştırıldığında Grup 2, 3, 4 ve 5’te istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ve Grup 2 ile karşılaştırıldığında ise Grup 5’te anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Şekil 4.15).



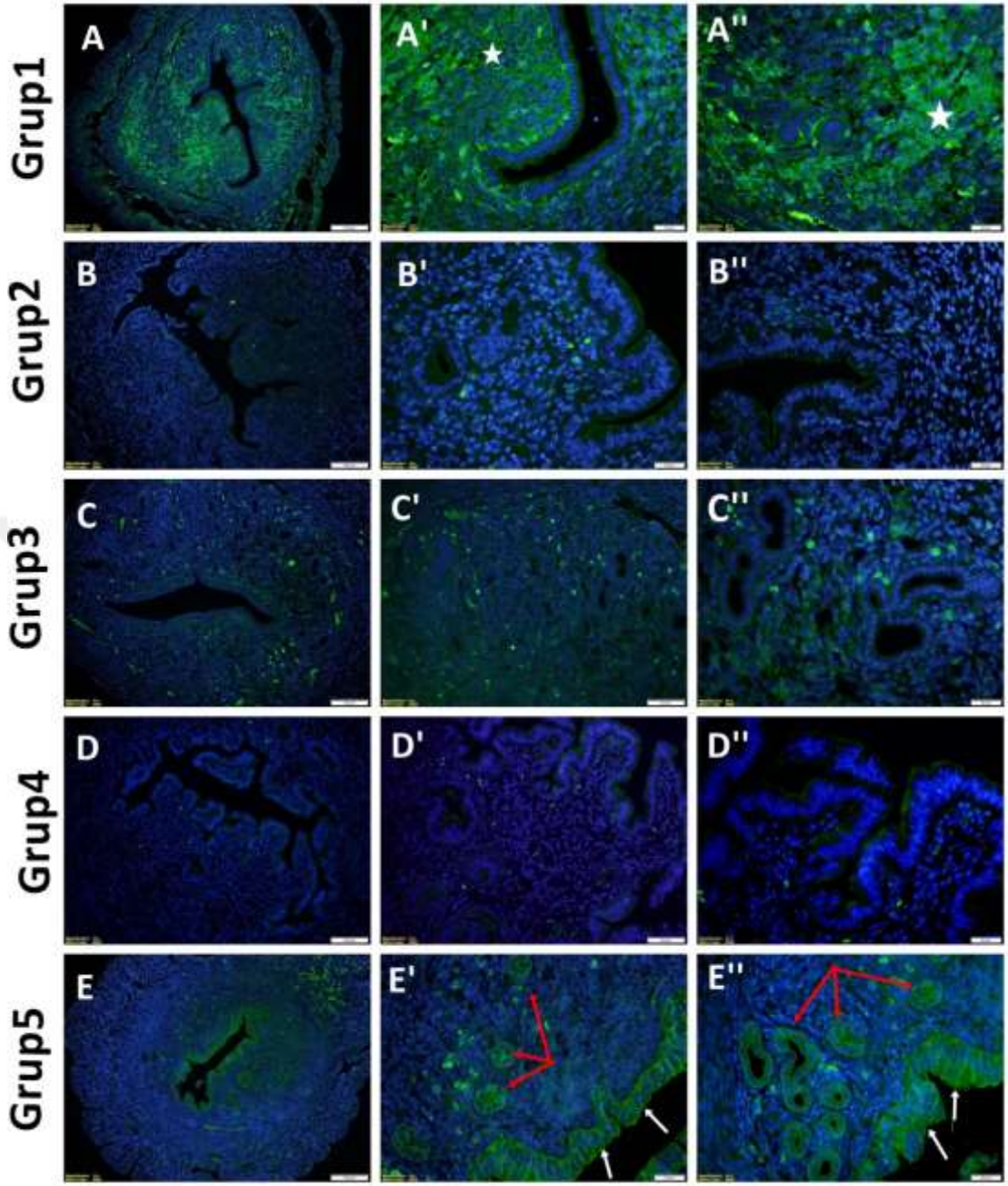
Şekil 4.14. Tüm gruplarda uterusda HOXA10 ekspresyonunun immünfloresan boyama ile gösterilmesi. Endometriyal stroma (beyaz yıldız), HOXA10 ekspresyonu yoğun olan stromal hücreler (beyaz ok).



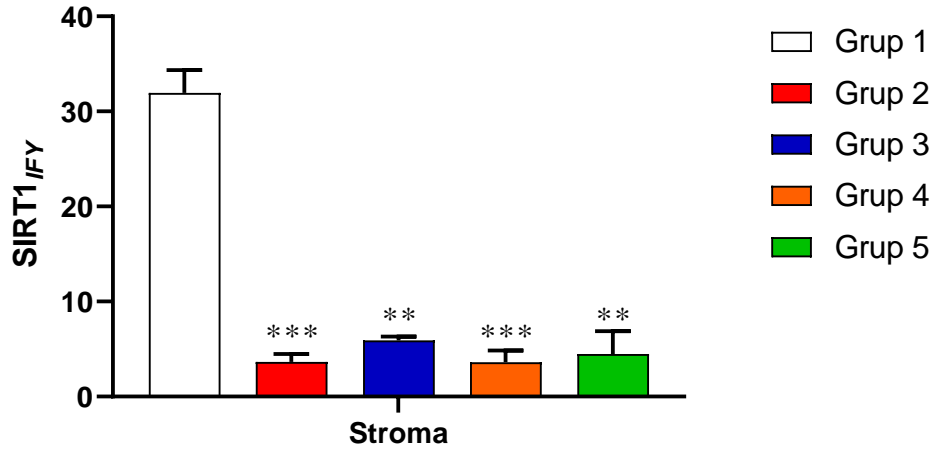
Şekil 4.15. Gruplar arasında HOXA10 ekspresyonunun karşılaştırılması.
* $p < 0,02$, ** $p < 0,003$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

4.3.3. SIRT1 Bulguları

Tüm gruplarda SIRT1 protein ekspresyonu immünfloresan boyama ile değerlendirildi. Grup 1'e bakıldığında SIRT1'in stromal hücreler tarafından yoğun bir şekilde eksprese edildiği görüldü (Şekil 4.16 A-A''). Grup 1 ile karşılaştırıldığında SIRT1 ekspresyonu Grup 2, 3, 4 ve 5'te azalmıştı. SIRT1 ekspresyonundaki bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 4.17). Ayrıca Grup 5'te epitelde (luminal ve bez) SIRT1 ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.16 E-E'').



Şekil 4.16. Tüm gruplarda uterusda SIRT1 ekspresyonunun immünfloresan boyama ile gösterilmesi. Endometriyal stroma (beyaz yıldız), luminal epitel (beyaz ok), bez epiteli (kırmızı ok).



Şekil 4.17. Gruplar arasında SIRT1 ekspresyonunun karşılaştırılması. **p<0,002, ***p<0,0001.

5. TARTIŞMA

Polikistik over sendromu üreme çağındaki kadınları etkileyen klinik, hormonal ve morfolojik anormalliklerin kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır. PKOS ovulatuvar disfonksiyon, hiperandrojenizm ve polikistik overler ile karakterizedir. PKOS'un insülin direnci (IR), anormal glikoz ve lipid metabolizması gibi durumlara da neden olduğu bilinmektedir. Bunlar doğurganlık çağındaki kadınların fertilitatesini ve sağlığını ciddi şekilde etkileyebilmektedir. Çeşitli çalışmalar yaşam tarzı, genetik ve çevresel faktörlerin PKOS gelişimiyle ilişkili olduğunu doğrulamış olsa da PKOS ortamında bu temel biyokimyasal ve metabolik sorunları tetikleyen altta yatan mekanizma hala belirsizliğini korumaktadır (Wu vd., 2022; Rasquin vd., 2023). Etiyolojisi karmaşıktır; genetik ve epigenetik yatkınlık, hipotalamik hipofiz eksenindeki karmaşıklıklar ve ovaryan disfonksiyon, aşırı androjene maruz kalma, insülin direnci ve adipozite ile ilgili mekanizmaları kapsamaktadır. Rotterdam Kriterleri PKOS tanısını üç ana özellik üzerinden tanımlamaktadır. Bunlar hiperandrojenizm (hirsutizm gibi klinik belirtiler veya biyokimyasal belirteçler), ovulatuvar disfonksiyon ve ultrasonda görülebilen polikistik ovaryumlar (Joham vd., 2022).

Genellikle PKOS olan kadınlarda infertilitenin ana nedeninin değişmiş ovulatuvar fonksiyon olduğu düşünölmektedir. Ancak PKOS ile ilişkili infertilitenin patogenezinde başka faktörler de rol oynayabilir. Son yıllarda PKOS ile ilişkili infertiliteye katkıda bulunan endometriyuma giderek daha fazla önem verilmektedir. PKOS gebelik kaybı, erken doğum, endometriyal hiperplazi ve uterus karsinomu ile ilişkili olarak endometriyum fenotipinde ve işlevinde bozulmalara neden olmaktadır. Endometriyal fonksiyon bozuklukları hormonal ve immün sorunlar da dahil olmak üzere çeşitli komplikasyonların bir araya gelmesinden kaynaklanabilmektedir (Furat Rencber vd., 2018; Palmerini vd., 2023).

Metformin tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve PKOS hastalarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan hipoglisemik bir ilaçtır. Metformin insülin duyarlılığını artırarak kas glikoz alımında artışa ve hepatik glikoz üretiminde azalmaya neden olmaktadır. Metformin, AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK) yolunu aktive ederek hepatik glukoneogenezi azaltarak kan glukozunu düşürür ve insülin duyarlılığını artırır. Kullanımındaki en büyük dezavantaj yan etkileri olup bunlar ağırlıklı olarak bulantı, ishal ve şişkinlikten oluşan gastrointestinal reaksiyonlardır (Tao vd., 2019). PKOS'un yönetimi zordur hastalarda gözlenen belirti ve semptomlara bağlıdır. Yeni farmakolojik müdahaleler daha az yan etki ve daha fazla etkinlik ile PKOS yönetimindeki potansiyellerini değerlendirmek için denenmektedir.

Doğal bir flavonoid olan naringenin ağırlıklı olarak turunçgillerde bulunmaktadır (Mbaveng vd., 2014; Zobeiri vd, 2018). Geniş biyolojik aktivitelere sahiptir. Çok sayıda prelinik ve klinik çalışma antioksidan, anti-östrojenik, anti-inflamatuar, anti-diyabetik, anti-hiperlipidemik ve anti-kanser olarak naringenin'in yararlı rolünü vurgulamaktadır (Ghofrani vd., 2015; Kicinska vd., 2020; Roy vd., 2016; Sandeep&Nandini, 2017; Zhang vd., 2016). Yapılan çalışmalar ile naringenin'in infertilite, endometriozis ve gebelikte olumlu etkileri olabileceği gösterilmiştir (Adana vd., 2018; Lim&Song, 2016; Park vd., 2017). Naringenin'in PKOS durumunda artış gösteren IR, oksidatif

stres, vücut ağırlığı ve steroidojenik enzimleri azalttığı bildirilmiştir (Hong vd., 2019; Wu vd., 2020).

Çalışmalar oksidatif stresin, reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek DNA hasarına neden olabileceğini ve ovaryan hücrelerin aşırı çoğalmasına, ovaryum kistlerine ve infertiliteye yol açabileceğini göstermiştir. ROS folikülogenez, steroidogenez ve korpus luteum fonksiyonu dahil olmak üzere fizyolojik aktiviteleri etkilemektedir. Bu nedenle yetersiz antioksidan savunması ve artan ROS üreme fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. Oksidatif stres kistik folikülleri ve foliküler atreziyi artırarak PKOS patogenezine dahil olmaktadır. Aynı zamanda PKOS'da folikülogenez ve kistik folikül oluşumundaki değişiklikler bu sendromdaki hiperandrojenizm ile de ilişkilidir. Bu sendromda artmış ROS ve hiperandrojenizmin ovaryan kistik foliküllerde ve foliküler atreziye artışa neden olduğu bilinmektedir. PKOS'da görülen oksidatif stresin hasarı ovaryumlarla sınırlı değildir genital sistemdeki diğer organların da etkilendiği bilinmektedir (Shamsi vd., 2023). Oksidatif stres durumunda gelişen hasarın tedavi edilmesi için yapılan çalışmalarda ortaya çıkan ROS'ların güçlü bir antioksidan ile ortadan kaldırılması temel hedeflerden birisidir.

PKOS patogenezinin karmaşıklığı nedeniyle PKOS tedavisi belirti ve semptomlara bağlı olarak bireyselleştirilir. PKOS tedavisinde kullanılan sentetik ilaçların yanı sıra quercetin, rutin, apigenin, resveratrol, proantosiyandinler gibi geniş bir doğal polifenolik bileşik grubu PKOS tedavisinde umut verici sonuçlar göstermiştir (Banaszewska vd., 2016; Darabi vd., 2020; Jahan vd., 2016; Wang vd., 2017).

Bu çalışmadaki amacımız özellikle literatürde güçlü antioksidan özelliği ile öne çıkan ve anti-östrojenik, anti-inflamatuar, anti-diyabetik, anti-hiperlipidemik, anti-kanserojenik etkileri olan naringenin'in PKOS'a bağlı gelişen endometriyal hasarı iyileştirmedeki potansiyelini analiz etmektir.

Kemirgen PKOS modelleri oluşturmak için androjenler, östrojenler, aromataz inhibitörleri, antiprogestinler, ışığa maruz kalma değişiklikleri ve

genetik manipölasyonlar gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte hiperandrojenizm en yaygın PKOS özelliğidir ve bu nedenle son yıllarda çalışmaların çoğu kemirgen modellerinde PKOS'u indüklemek için androjenlerin kullanılmasına odaklanmış ve aşırı androjenin insan PKOS'unun üreme ve metabolik birçok özelliğini indükleyebileceğini açıkça göstermektedir. Androjen biyosentezindeki metabolik ara ürünlerden biri olan DHEA, testosteron (T) ve dihidrotestosteron (DHT)'a dönüşüm yoluyla kilit rol oynayan çok önemli bir prohormondur. Yapılan çalışmalarda PKOS fare modelini indüklemek için prepubertal dişi fareler genellikle 15-35 gün boyunca DHEA'ya maruz bırakılır. Özellikle 20 günlük uygulama farelerde en çok kullanılan DHEA uygulama süresidir. DHEA ile indüklenen fareler hiperandrojenizm, asiklik anovülasyon, polikistik overler ve bazı metabolik bozukluklar dahil olmak üzere insan PKOS özelliklerini sergilemektedir (Wu vd., 2023). DHEA androjen biyosentezinde anahtar ajan olarak kabul edilir ve fare ovaryumunda polikistik değişiklikleri etkilediği bilinmektedir. DHEA uygulanan fare ve sıçanlarla yapılan çalışmalar anovülasyon, ince granüloza hücre tabakasına sahip foliküler kistler, atretik folikül sayısında artış, overlerde yağ ve stromal hücrelerde artış, androjen, östrojen ve prostaglandin serum seviyelerinde yükselme ile değişmiş over steroidogenezi ile sonuçlanmıştır. Diğer çalışmalarda DHEA ile indüklenen hiperandrojenizmin ovaryan lipid peroksidasyonunu arttırdığı ve katalaz aktivitesi ile glutasyon içeriğini azalttığı, prepubertal hiperandrojenizmin ise serum TNF- α seviyelerini artırdığı ve sonuç olarak lipid peroksidasyonunu arttırdığı ve ovaryan fonksiyonu bozduğu gösterilmiştir (Walters vd., 2012; Misugi vd., 2006; Motta, 2010). Polikistik over sendromunu incelemek için uygun bir sıçan modeli seçmek amacıyla yapılan bir çalışmada letrozol intragastrik enjeksiyon grubu ile karşılaştırıldığında, DHEA subkutan enjeksiyon grubu sıçanların patolojik özellikleri PKOS özelliklerine daha yakın bulunmuştur. Her iki model grubunda da serum T, E2, LH ve insülinde anlamlı bir artış ve anti-müllerian hormon (AMH)'da anlamlı bir düşüş görülmüştür. Ovaryum ağırlığı, P4 ve serum FSH'm anlamlı bir şekilde azaldığına değinilirken uterus ağırlığı ve

serum LH seviyelerinde anlamlı bir artış olduğuda bildirilmiştir (Zhang& Xu, 2022).

Eksojen androjenlerin ovaryum morfolojisi üzerindeki etkileri androjen uygulamasının dönemine, süresine ve uygulanan hormon miktarına bağlı olarak değişebilmekle birlikte, önceki çalışmalara dayanarak DHEA ile PKOS modelimiz oluşturuldu. PKOS oluşan farelere naringenin, metformin ve metformin+naringenin tedavileri uygulandı. Çalışmamızda DHEA uygulaması ile düzenli östrus döngüsünün kaybolduğu ve östrus aşamasında duraksama olduğu belirlendi (Huang vd., 2015; Delibaş, 2017; Xie vd., 2019). Naringenin, metformin ve naringenin+metformin uygulanan gruplarda siklusun normale dönmeye başladığı ve diğer östrus aşamalarına da geçildiği görüldü.

Çalışmamızda ovaryumda kistik ve atretik folikül varlığı ve sayısındaki artış, korpus luteum yapısının bulunmaması ve östrus döngüsünün düzensizliği ile DHEA ile indüklenen PKOS fare modelimizin oluştuğu doğrulandı. Naringenin PKOS'da ovaryum patolojisi üzerindeki olumlu etkisini kistik ve atretik foliküllerin sayısını azaltarak ve korpus luteum sayısını artırarak göstermiştir. Bu durum bize naringenin'in folikülogenez restorasyonunda etkili olabileceğini düşündürdü. Ancak metformin ile karşılaştırıldığında naringenin tedavi grubunda korpus luteum sayısı daha azdı. Naringenin+metformin tedavisi, naringenin ile karşılaştırıldığında kistik folikül oluşumundaki azalma dikkate alındığında folikülogenez restorasyonunda daha güçlü etkinlik gösterebileceğini düşündürmektedir. Çok yönlü ovaryan folikülogenez süreci primordial folikülün aktivasyonu ile başlayıp ovulasyon ile sonuçlanır ve bunu luteogenez takip eder. Anovulatuvar infertilitenin en yaygın nedeni olan PKOS antral foliküllerin büyümesinin durması ile karakterizedir. PKOS'da antral folikül büyümesi 5-8 mm boyutunda durmaktadır ve bu da sıvı dolu kistik bir folikülün gelişmesine yol açar. Bu durum ovaryumda çok sayıda antral folikül birikmesine yol açabilmektedir. Çalışmamızda PKOS grubunda ovaryum ağırlığı artmıştır. Naringenin, metformin ve naringenin+metformin tedavilerinden sonra ağırlık artışının azaldığı belirlendi. Naringenin androjen seviyelerini düşürüp foliküler kist sayısını azaltarak antral folikülü duraklama

durumundan kurtarıyor olabilir. Ayrıca naringenin tedavisi ile artan korpus luteum sayısı naringenin'in olgun folikül gelişimi, ovulasyon potansiyeli ve luteinizasyon süreçlerini iyileştirmede etkili olabileceğini göstermektedir.

İnsülin direnci ve hiperinsülinemi PKOS'da hiperandrojenizmin patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Naringenin'in insülin direncini iyileştirdiği ve androjen sentezinde önemli rolü olan steroidojenik enzimleri baskılayarak yararlı bir etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Hong vd., 2019; Murugesan vd., 2020). Naringenin'in vücut ağırlığını ve insülin direncini azaltmakta dahil olmak üzere sayısız sağlık açısından yararı vardır. Doğal olarak bulunan bir flavonoiddir ve daha önce metabolik bozukluk ve enflamasyonun birçok yönünü iyileştirdiği gösterilmiştir (Snoke vd., 2021; Mulvihill vd., 2016). Çalışmamızda DHEA ile indüklenen PKOS'lu farelerde glukoz toleransının bozulduğu ve vücut ağırlıklarının arttığı belirlendi. Metformin ve naringenin+metformin tedavisinin kan glukoz seviyelerini düşürmede daha etkili olduğu görüldü. Yapılan bir çalışmada naringenin'in glukoz metabolizmasında yer alan kilit enzimleri düzenleyerek glukoz homeostazının korunmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir. Naringenin'in nükleer faktör E2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) seviyelerini yükselterek ve hücrel oksidatif stresi azaltarak iyi çalışan bir antidiyabetik ajan olabileceği bildirilmiştir (Rajappa vd., 2019). Çalışmamızda tek başına naringenin tedavisinin kan glukoz seviyelerinde azalmaya neden olduğu fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Metformin'in PKOS farelerinde glukoz seviyeleri üzerindeki düşürücü etkisinin naringenin ile güçlendirilmiş olabileceği düşünüldü. Naringenin+metformin tedavisi PKOS'da görülen insülin direnci ve hiperinsülinemi iyileştirebilir ve böylece androjen oluşumunu da azaltabileceğini düşünmekteyiz.

PKOS'daki metabolik ve endokrin değişiklikler yağ dokusunun kütlesini, dağılımını ve adipositlerin fonksiyonunu etkilemektedir. PKOS'lu kadınlarda obezite, hipertansiyon, dislipidemi ve hiperglisemi olarak tanımlanan metabolik sendrom prevalansı çok yüksektir. Metabolik sendromun kilit bir bileşeni olan obezite öncelikle hipotalamus-hipofiz-ovaryum (HPO)

ekseninde fonksiyonel değişikliğe neden olduğundan dolayı kadın fertilitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Obezitenin sıklıkla dolaşımdaki yüksek insülin seviyeleri ve ardından artan ovaryan androjen üretimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Fazla yağ dokusu androjenlerin östrojene aromatisasyonundan sorumludur, bu da HPO ekseninde negatif bir geri bildirim yol açar ve gonadotropin üretimini etkiler. Bu değişiklikler ovulasyon bozukluğuna ve menstrual anormalliklere neden olmaktadır. Obezitenin üreme fizyolojisi üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu görölmektedir. Oligomenore ve hiperandrojenizm ile karakterize olan PKOS patogeneğinde hiperinsülineminin temel bir rol oynadığı bilinmektedir. Obezitenin eşlik etmesi insülin direncini daha da artırmakta ve PKOS semptomlarını şiddetlendirmektedir. Öte yandan PKOS'da artan androjen üretimi visseral yağ birikimine neden olmaktadır. Bu durum insülin direncini ve hiperinsülinemiyi şiddetlendirerek bu kısır döngüyü daha da teşvik etmektedir (Moran vd., 2015). Yapılan bir çalışmada 21 gün DHEA uygulanan farelerin vücut ağırlığının kontrol grubuna kıyasla arttığı bildirilmiştir. PKOS ve kilo alımı DHEA enjeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir. PKOS ve aşırı kilolu olmayı ilişkilendiren pek çok kanıt bulunmaktadır. DHEA uygulanan farelerin vücut ağırlığı kontrol farelerine kıyasla abdominal yağ nedeniyle önemli ölçüde artmıştır (Rani vd., 2023). Çalışmamızda PKOS grubunda bulunan farelerin ağırlıklarında artış belirlendi. Bu durumun adiposit hiperplazi ve hipertrofinine bağlı olarak beyaz yağ dokusu artışından kaynaklanabileceği düşünöldü. Tüm tedavi gruplarında vücut ağırlıklarının azaldığı göröldü. Metformin'in kilo azaltıcı etkileri daha önce rapor edilmiş ve hücre içi AMPK üzerindeki indükleyici etkisi ile ilişkilendirilmiştir. AMPK, asetil CoA karboksilaz enziminin (ACC) aktivitesini azaltır. ACC'nin aktivitesindeki azalma yağ asitlerinin biyosentezini azaltır ve daha sonra kilo kaybını teşvik edebilen β -oksidasyonu artırır (Tao vd., 2019). Yapılan bir çalışmada naringenin'in hepatositlerde hepatik glikoz üretimini azaltmak için tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan bir ilaç olan metformin gibi hareket ettiği bildirilmiştir (Ke vd., 2015). Buna ek olarak, naringenin glikoz ve lipid homeostazının bazı yönlerini iyileştirmiş ve in vivo yağ dokusu iltihabını hafifletmiştir (Purushotham vd., 2009; Alam vd., 2014). Birçok in vivo çalışma

naringenin'in kilo alımını önleme veya kilo kaybına neden olma yeteneğini rapor etmektedir (López-Almada vd., 2023).

Sonuç olarak; çalışmamızda naringenin'in tek başına veya metforminle birlikte tedavisinin PKOS'daki vücut ağırlığını azaltmada etkili olabileceğini ve bu yönüyle de yeni bir farmakolojik yaklaşım olabileceğini düşünmekteyiz.

Klinik çalışmalar PKOS'un endometriyum reseptivitesindeki azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca PKOS'un endokrin ve metabolik anormalliklerinin endometriyumu etkilediği, endometriyum bozukluklarına neden olduğu ve infertiliteye yol açtığı bildirilmiştir. PKOS'da endometriyum reseptivitesinin azalması endometriyal dokudaki anahtar proteinlerin ve sinyal kaskadlarının gözle görülür dengesizliğinden kaynaklanıyor olabilir (Piltonen, 2016). Endometriyum reseptivitesinin iyileştirilmesinin PKOS'lu kadınlarda infertiliteyi iyileştirdiği bildirilmiştir (Cha vd., 2012). Endometriyal reseptivitenin iyileştirilmesinin PKOS tedavisinde önemli bir faktör olabileceği varsayılmaktadır. DHEA tarafından indüklenen PKOS'lu farelerde testosteron seviyesinin arttığı bildirilmiştir (Rencber vd., 2018; Shang vd., 2012) ve testosteron HOXA10 (endometriyal reseptivite belirteci olarak tanımlanan)'un düzenleyicisidir (Cermik vd., 2003). DHEA'nın farelerde bozulmuş desidua ve endometriyal reseptiviteyi indüklediği bildirilir (Li vd., 2016). Çalışmamızda DHEA ile indüklenen PKOS grubunda uterus ağırlığı, luminal epitel yüksekliği, glandular yoğunluk, subepitelyal stroma kalınlığı ve endometriyal stromada immün hücre infiltrasyonu artmıştır. Bunlar PKOS hastalarının azalmış endometriyal reseptivitesinde kritik faktörleri temsil edebilir. Metformin tedavisi sonrası, luminal ve bez epitelinin kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. PKOS grubuyla yapılan kıyaslamada, metformin tedavisinden sonra genişlemiş lümenlere sahip bez yapıları azalmıştı. Naringenin tedavisi sonrası histolojik olarak uterusun PKOS grubuna benzer olması bize tek başına naringenin tedavisinin yeterince etkili olmadığını ve naringenin+metformin tedavisinin patolojik değişiklikleri iyileştirmede daha etkili olabileceğini düşündürdü.

Epitel yüksekliği kontrol ile karşılaştırıldığında, PKOS ve naringenin tedavi gruplarında benzerdi ve bazı alanlarda epitelde hiperplazi mevcuttu. Metformin ve naringenin+metformin tedavileri sonrasında epitel yüksekliğinin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi. Kontrol grup ile karşılaştırıldığında subepitelyal stroma kalınlığı PKOS, metformin ve naringenin gruplarında artmıştı. Naringenin+metformin tedavisi sonrasında subepitelyal stroma kalınlığında anlamlı bir azalma belirlendi. PKOS grubunda artmış olan endometriyal bez sayısı tüm tedavi gruplarında anlamlı bir şekilde azaldı. PKOS grubunda artmış olan uterus ağırlığının azalmasında metformin ve naringenin+metformin tedavisinin daha etkili olduğu belirlendi. Son yıllarda PKOS hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar uterus ağırlığında, luminal epitel yüksekliğinde, bezlerin boyutunda ve yoğunluğunda ve uterus duvarlarının kalınlığında bir artış ve stromal hücrelerin yoğunluğunda bir azalma ile uterus histomimarisinde değişiklikler olduğunu bildirmektedir (Bracho vd., 2019; Kreimann&Cabrini, 2013; Lee vd., 2016; Mirabolghasemi&Kamyab, 2017). Bu değişikliklerin hücre döngüsündeki ve/veya ekstraselüler alandaki değişikliklere bağlı olabileceği belirtilmiştir (Zhang vd., 2013; Bracho vd., 2019). Bu bağlamda, bazı çalışmalar uterus epitelinde hücre proliferasyonu ve apoptozunda artış (Mirabolghasemi&Kamyab, 2017; Kuyucu vd., 2018) ve subepitelyal stromada hücre proliferasyonunda azalma (Bracho vd., 2019) olduğunu göstermiştir.

Çoğu PKOS hastasının endometriyumunun kalın yapıda olduğu ve bu durumun endometriyal hücre apoptozisi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Endometriyumda artan hücre proliferasyonu hiperplazi veya malign dönüşümü göstermektedir (Villavicencio vd., 2007; Richardson&Pollack, 2005). Yapılan çalışmalar DHEA ile indüklenen hiperandrojenizmin endometriyumdaki apoptotik hücre sayısını arttırdığını bildirmiştir. Metformin uygulamasının hiperandrojenizmin neden olduğu inflamatuvar ve oksidatif durum değişikliklerini önlediği ve artan apoptotik hücre sayısını azalttığı gösterilmiştir (Elia vd., 2009; Motta, 2010). Çalışmamızda PKOS grubunda apoptotik ve vakuolize hücrelerin fazla olduğu görüldü. Vakuolizasyon hücre ölüm süreçlerine eşlik eden morfolojik bir bulgudur. Tedavi gruplarında bu

hücrelerin sayısında bir azalma olduğu dikkat çekti ve özellikle naringenin'in metformin ile kombin tedavisi sonrasında endometriyumun normal histolojik görünümüne daha yakın olduğu izlendi. Bu durum bize PKOS ortamının endometriyumda hücre ölümünde bir artışa neden olabileceğini ve naringenin'in tek başına veya metformin ile birlikte daha güçlü bir şekilde bu artışı azaltabileceğini düşündürdü.

İmmün sistem kadın fertilitesinde aktif bir role sahiptir. Makrofajlar uterus fonksiyonlarında en bol bulunan immün hücrelerden biridir. Makrofajlar endometriyum içinde dağılmış durumdadır. Endometriyal hiperplazi, endometriyal kanser, sekretuar faz (özellikle menses öncesi) ve implantasyon gibi durumlarda endometriyumda önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Elia vd., 2009; Motta, 2010; Richardson&Pollack, 2005). Çalışmamızda endometriyal stromada immün hücre infiltrasyonu izlendi. Plazma hücreleri immünoglobulin veya antikor salgılayabilen farklılaşmış B-lenfosit hücreleridir ve antijenle aktive olan B lenfositlerinden plazma hücreleri gelişir. Yakın tarihli bir çalışmada PKOS'lu kadınlarda periferik B hücreleri analiz edilmiş ve CD19+ B hücrelerinin oranının ve aktivitesinin önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. CD19+ B hücrelerinin PKOS gelişimine katkıda bulunup bulunmadığını belirlemek için DHEA ile indüklenen bir PKOS fare modeli oluşturulmuş ve CD19 antikoruna ön tedavisi alan farelerde DHEA uygulamasından sonra PKOS gelişmediği tespit edilmiştir (Xiao vd., 2019). Başka bir çalışmada PKOS hastalarında plazma hücrelerinin arttığı bildirilmiştir (Xuan vd., 2023). Çalışmamızda plazma hücreleri PKOS grubunda bir artış gösterdi ve bu hücrelerin sitoplazmaları asidoofilik boyanmaktaydı. Tüm tedavi gruplarında bu hücrelerin azalmış olduğu görüldü. Mott hücreleri, sitoplazmalarında immünoglobulin inklüzyon cisimcikleri (Russell cisimcikleri) içeren plazma hücreleridir. Yoğunlaşmış immünoglobulinler içeren dilate endoplazmik retikulum sisternaları olan Russell cisimcikleri, olgun plazma hücrelerindeki yuvarlak eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlardır ve plazma hücrelerinin aşırı uyarılmasına karşı hücrel bir tepki oluştururlar. Mott hücrelerinin, sitoplazmalarında paketlenmiş çok sayıda Russell cisimciği globülünü bulunmaktadır. Bu hücrelerin ultrastrüktürel analizleri, elektron yoğun Russell

cisimciklerinin dilate kaba endoplazmik retikulum sisternası içinde oluştuğunu ortaya koymakta ve endoplazmik retikulumdan çıkamayan bol miktarda parçalanamayan immünoglobulinin biriktiğini göstermektedir. Mott hücreleri normal dokularda nadiren tespit edilir ancak otoimmün bozukluklar, B hücre neoplazmaları ve kronik enfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumlarda sıklıkla görülür (Honjo vd., 2014; Mahmoudi vd., 2023). Çalışmamızda, PKOS patogeneğinde görülen kronik inflamasyona bir yanıt olarak, PKOS grubunda sitoplazmaları asidofilik boyanma gösteren plazma hücreleri artış göstermiş olabilir. Naringenin tek başına veya metformin ile birlikte PKOS'ta görülen kronik inflamasyonu hafifleterek plazma hücrelerinin sayısında bir azalmaya neden olabileceği düşünüldü.

Yapılan çalışmalar metforminin vücut ağırlığında azalmaya neden olabileceğini ve ovulasyonu da yeniden sağladığını göstermektedir (Palomba vd., 2005; Ladson vd., 2011). Metforminin ovaryum teka hücrelerinden androjen sentezini azalttığı ve ovaryum steroidogenezini baskıladığı da belirtilmektedir. Genel olarak etki mekanizması hücrenin AMP/ATP durumunu denetleyerek bir enerji sensörü görevi gören AMPK aktivasyonu yoluyla gerçekleşir. İlginç bir şekilde AMPK'nın birçok hedef proteini uzun yaşam faktörleri olarak adlandırılır, örneğin SIRT1, p53 ve FoxOs yalnızca strese karşı direnci artırmak ve birçok organizmanın ömrünü uzatmakla kalmaz aynı zamanda enflamatuar tepkileri de baskılar (Shin vd., 2009). AMPK aktivasyonu mitokondriyal bozulma ve ROS üretiminin engellenmesi yoluyla araşidonik asit+demir kaynaklı OS'ye karşı koruma sağlar (Salminen vd., 2011). Aslında bu varsayılan moleküler mekanizmalar in vivo olarak insan endometriyal karsinom dokularında ve in vitro olarak farklı endometriyal kanser hücrelerinde gösterilmiştir (Shao vd., 2014). Ayrıca önceki çalışmaları metforminin endometriyal reseptiviteyi iyileştirebildiğini, endometriyal vaskülariteyi ve kan akışını artırabildiğini ve PKOS'lu bazı kadınlarda hiperandrojenizmi ve insülin direncini iyileştirmenin yanı sıra endometriyal hiperplazi ve karsinomu normal endometriyuma dönüştürebildiğini de bildirmiştir (Jakubowicz vd., 2001; Li vd., 2014; Palomba vd., 2006).

Naringenin ile ilgili yapılan çalışmalar PKOS'da görülen anormal metabolik ve endokrin durumu iyileştirebileceğini düşündürmektedir. Hiperandrojenik belirtilerin tedavisi PKOS'da önemli bir husustur. Yapılan bir çalışmada letrozol ile indüklenen PKOS sıçan modelinde dolaşımdaki androjen türlerinin arttığı bildirilmiş ve naringenin tedavisi sonrasında kan dolaşımındaki TT (testosteron) ve DHEAs (dehidroepiandrosteron sülfat) seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir. Bu ovaryum folikülogenezini normalleştirerek ve normal serum androjen seviyelerini yeniden sağlayarak prelinik düzeyde ovaryum fonksiyonunu düzenlemek için PKOS yönetiminde naringenin yararlı bir rol oynadığını düşündürmektedir (Rashid vd., 2023). Daha önce yapılan başka bir çalışmada antioksidan ve steroidojenik enzim aktivitesinin restorasyonunun naringenin aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmiştir (Hong vd., 2019). Başka bir çalışmada da sıçanlarda letrozol ile indüklenen PKOS modelinde hormon seviyelerinin iyileştiği ve IR'nin düzeldiği gösterilmiştir (Wu vd., 2020). Çalışmalar naringenin'in PKOS özelliklerinden biri olan oksidatif stresi azalttığını ve reaktif oksijen türlerini uzaklaştıran enzim konsantrasyonlarını arttırdığını göstermiştir. Sitoprotektif ve anti-enflamatuar etkileri bir in vitro deneyde cycloheximide ile kombinasyon halinde TNF- α tarafından indüklenen hasara karşı naringenin aracılığıyla hücrelerin korunduğu bildirilmiştir (Hong vd., 2019; Kicinska vd., 2020). Sonuç olarak yapılan çalışmalar metformin ve naringenin tedavilerinin PKOS'da görülen hormonal anormallikler ile metabolik bozukluklar üzerinde bir iyileşmeye neden olabileceğini göstermektedir. Yukarıda bahsedilen çalışma bulgularına bakıldığında, çalışmamızda uygulanan tedavilerin PKOS uterusundaki histopatolojik değişiklikler üzerinde de bir iyileşmeye neden olabileceği düşünülmektedir.

PKOS'lu sıçanların uterus dokularının önemli düzeyde fibrozis (kollajen IV) gösterdiği ve androjenize dişi sıçanların uterus stromal kollajen miktarında önemli bir artış olduğu bildirilmektedir (Zhang vd., 2013). Çalışmamızda PKOS grubunda genel olarak uterusda kollajen birikiminde bir artış belirlenmiştir. Kollajen gösteriminde kullanılan her iki boyamada da özellikle endometriyal stromada kollajen birikiminin daha yoğun olduğu görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada tip I kollajenin yüksek mRNA ve protein seviyeleri üreme sistemindeki fibrotik bozukluklar ile karakterize edilmiştir (Hu vd., 2015). Endometriozis'te bu durum Colla1 ve Colla2 genlerinin anormal transkripsiyonel aktivasyonu ile ilişkilendirilmiş ve endometriyal reseptivite için kritik faktörler olduğu kanıtlanmıştır (Kim vd., 2019). Fibrozis PKOS hastalarında uterus yapısını bozarak onları endometriyal kanser gibi uterus patolojilerine yatkın hale getirebilmektedir (Bracho vd., 2019). Yapılan bir çalışmada metformin'in, DHEA ile indüklenen fibrozisi hafifletebildiği ve önemli iki fibrotik faktör olan dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) ve bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF)'nin protein seviyelerini tedavi ile düşürdüğü bildirilmiştir (Zhang vd., 2013). PKOS tedavisi için potansiyel bir ilaç olan metformin fibrozis karşıtı bir etkiye sahiptir. Yapılan bir çalışmada transvers aort daralması ile indüklenen sol ventrikül aşırı basınç yükünün deneysel fare modelinde metformin'in kardiyak fibrozis alanını azalttığı ve fare kalbinde aşırı basınca bağlı TGF- β 1 üretimini baskıladığı gösterilmiştir. Bu arada metformin kültürlenmiş kardiyak fibroblastlarda TGF- β 1'e yanıt olarak Smad3'ün fosforilasyonunu baskılar, bu da metformin'in antifibrotik etkisini TGF- β 1/Smad3 sinyal yolu üzerinden gösterdiğini düşündürmektedir (Xiao vd., 2010). İn vitro bir çalışmada ilk kez naringenin'in Smad3'ün spesifik bir inhibitörü olduğu ve Smad3 aktivasyonunun seçici olarak baskılanması yoluyla TGF- β 1 sinyal yolunu bloke ederek kültürlenmiş sıçan hepatik stellat hücrelerinde TGF- β 1 ile indüklenen ekstraselüermatriks protein ekspresyonunu baskılayabildiği gösterilmiştir (Liu vd., 2006). Yüksek kolesterolün neden olduğu karaciğer hasarının bir sıçan modelinde naringenin tedavisi nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) yolunu ve matris metaloproteinaz-2/9 aktivitelerini inhibe ederek hepatik oksidatif stresi ve enflamatuvar yanıtı ve karaciğerdeki kollajen birikimini hafifletmiştir (Chtourou vd., 2015). Son zamanlarda ortaya çıkan kanıtlar naringenin'in in vivo ve in vitro fibrozis patogenezi için dönüştürücü büyüme faktörü- β 1/ küçük ana karşı dekapentapeptik protein 3 (TGF- β 1/Smad3), mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz B (PI3K/Akt), sirtuin1 (SIRT1), nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) veya reaktif oksijen türleri (ROS) gibi sinyal

moleküllerini içeren çeşitli yolların düzenlenmesi yoluyla önleyebileceğini ortaya koymuştur (Du vd., 2021). Naringenin ile bu profibrotik yolların hedeflenmesi, fibrotik hastalıkların tedavisi için potansiyel olarak yeni bir terapötik yaklaşım haline gelebilir. Gıda kaynaklı bir bileşik olarak naringenin fibrotik bozuklukların tedavisi için umut verici bir ilaç adayı olarak hizmet edebilir. Çalışmamızda tüm tedavi gruplarında endometriyal stromada kollajen birikiminde bir azalma belirlendi. Ancak, fibroz ilerlemesini hafifletmede naringenin+metformin tedavisinin daha etkili olabileceği düşünüldü.

Endometriyal reseptivite endometriyal epitel hücrelerinin embriyo implantasyonu için yapısal ve işlevsel olarak hazır olduğu bir durumu ifade eder. Endometriyal reseptiviteyi değerlendirmek için bir dizi spesifik moleküler belirteç kabul edilmiştir. Endometriyal reseptivitenin bu iyi bilinen belirteçleri arasında ovaryan hormonlar ve reseptörleri, musinler, Hoxa10, integrin avb3, LIF ve benzerleri yer almaktadır.

Yapılan çalışmalar endometriyal hücrelerin yüzeyindeki MUC-1'in implantasyonu engelleyen bir glikoprotein olduğunu bildirmiştir. Bazı çalışmalar tekrarlayan düşük öyküsü ile implantasyon başarısızlığının MUC-1 genetik polimorfizmi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Jing vd., 2019; Mojarrad vd., 2013; Wu vd., 2018). MUC1 endometriyal fonksiyonun potansiyel biyobelirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir. İnsan in vitro implantasyon modelleri MUC1'in blastokist kaynaklı faktörlere yanıt olarak embriyo bağlanma bölgelerinde kaybolduğunu ve implantasyon için doğru yer ve zaman ayarlanmasında görev aldığını göstermektedir. Çalışmalar memelilerde endometriyal reseptivitenin kazanılması ve ardından embriyo implantasyonu için MUC1'in endometriyundan uzaklaştırılmasının önemini vurgulamaktadır. (Song vd., 2012; Kubota vd., 2021; Budihastuti vd., 2023). Çalışmamızda MUC1 protein ekspresyonu immünfloresan boyama ile değerlendirildi. PKOS grubunda luminal epitelin apikal yüzeyinde ve stromada artmış MUC1 ekspresyonu izlendi. Naringenin tedavisi sonrası, MUC1 ekspresyonunda luminal epitelin apikal yüzeyinde bir azalma görülürken, stromal ekspresyonda bir azalma görülmedi. Metformin ve

naringenin+metformin tedavileri sonrasında hem luminal epitelde hem de stromada MUC1 ekspresyonu azaldı. Endometriyumda MUC1 ekspresyonunun azalması ile progesteron reseptör B ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada blastokistin implantasyon başarısı için MUC1 ekspresyonunun normal seviyelerde olmasının önemli olduğu bildirilmiştir (Shen vd., 2015). Bir çalışmada iki ile 12 ay arasında ovariektomize edilmiş farelerde gebelik oranına ve steroid hormonlarına uterusun tepkisi karşılaştırılmış. İki aylık farelerle karşılaştırıldığında 12 aylık farelerde hem gebelik oranında hem de implantasyon bölgelerinin sayısında önemli bir azalma olduğu görülmüş. Dahası 12 aylık farelerde MUC1 seviyesinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulunmuştur (Li vd., 2017). Başka bir çalışmada ektopik gebelik sırasında uterustan alınan biyopsilerde MUC1 seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Refaat vd., 2012). Yukardaki çalışmalara bakıldığında implantasyon başarısızlığı ile ilgili durumlarda ya da uterustaki fonksiyon bozukluğu durumunda MUC1 ekspresyonunda değişiklikler görülmektedir. Çalışmamızda da PKOS'un neden olduğu hasar sonucunda endometriyumda MUC1 ekspresyonunun artmış olabileceği düşünüldü.

HOX gen ailesi dışı üreme sisteminin gelişimi için gereklidir. HomeoboxA-10 (HOXA10) reseptivite ile ilgili çok sayıda genin düzenlenmesinde rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Bu nedenle HOXA10 endometriyuma reseptivite kazandırmak için anahtar bir düzenleyici olarak kabul edilmektedir. Endometriyal stromal hücrelerin proliferasyonunu teşvik ettiği bilinir. HoxA10 ekspresyonundaki artış endometriyal stromal hücrelerden sekretuar hücrelere (desidualizasyon) dönüşümü başlatmak için gereklidir. Reseptif endometriyal mikroçevre için bir temeldir (Du&Taylor, 2016). Embriyonik aşamada HOXA10 ekspresyonunun olmamasının konjenital uterus gelişim defektlerine yol açtığı bildirilmiştir (Taylor vd., 1997). Yetişkinlerde çoğu dokuda HOX gen ifadesinin önemli ölçüde bulunmadığı (Taylor, 2000), ancak yetişkin kadın endometriyumunda proliferatif fazda HOXA10'un sürekli olarak ifade edildiği ve sekretuar faz sırasında arttığı bildirilmiştir (Zhu vd., 2016). Kadınların doğurganlığını etkileyen endometriozis, hidrosalpinks ve uterin fibroidler dahil olmak üzere çeşitli

jinekolojik hastalıklarda HOXA10'un ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir. Klinik olarak HoxA10 ekspresyonunun anormal şekilde azalması in vitro fertilizasyon tedavisi sırasında endometriyal reseptivitenin ve implantasyonun başarısız olmasıyla sonuçlanır (Daftary vd., 2007; Zanatta vd., 2010; Matsuzaki vd., 2009). Sekretuar faz sırasında HOXA10 ekspresyonundaki azalma kötü reproduktif sonuçlara yol açabilir. Bir transkripsiyon faktörü olarak HOXA10, integrin $\alpha\beta3$ ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 1 (IGFBP1) gibi diğer endometriyal reseptivite belirteçlerinin ekspresyonunu düzenlemektedir (Kim vd., 2003). Seks steroidleri ve gebelik sonucunda oluşan embriyo HOXA10'un ekspresyonunu yönlendirir ve artan progesteron seviyelerine yanıt olarak implantasyon sırasında ekspresyonu artmaktadır (Cheng vd., 2022). HOXA10 ve HOXA11'in susturulduğu sıçanlarda embriyo implantasyon bozuklukları görülmüştür. Benzer şekilde araştırmalar infertilite hastalarının bir kısmında HOXA10 mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin azaldığını göstermiştir. PKOS, endometriyozis, hidrosalfinks gibi implantasyon bozuklukları ile ilgili durumlarda da HOXA10 ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Akbas&Taylor, 2004; Matsuzaki vd., 2009). Araştırmacılar HoxA10 kaybının hücre döngüsünü durdurarak desidualizasyon sürecinde stromal hücre proliferasyonunu engellediğini bildirmişlerdir (Kim vd., 2007). Çalışmamızda HOXA10 ekspresyonu endometriyal reseptivite sırasında stromada belirlendi. PKOS grubunda ekspresyonda azalma olduğu görüldü. Naringenin ya da metformin tedavisinin tek başına normal ekspresyonun yeniden kazanımında etkili olmadığı belirlendi. Naringenin+metformin tedavisi sonrasında stromadaki HOXA10 ekspresyonunda bir artış olduğu saptandı. Bu durum bize kombinasyon tedavisinin ekspresyonun iyileşmesinde daha etkili olabileceğini düşündürdü.

Sirtuin1 (SIRT1) nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺)-bağımlı bir histon deasetilaz olup, PKOS'un iyileştirilmesinde rolü olan bir moleküldür. Glikoz-lipid metabolizması, insülin duyarlılığı, kalori kısıtlaması ve oksidatif stresin farklı basamaklarında önemli rol oynamaktadır (Mihanfar vd., 2021). Sınıf III histon deasetilazlardan oluşan Sirtuin'ler ailesinin yaygın olarak ifade edilen bir üyesi olan SIRT1'in karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi çeşitli

periferel metabolik dokularda çeşitli rolleri olduğu bildirilmiştir (Tao vd., 2015). Epigenetik ve epigenetik olmayan mekanizmalar aracılığıyla SIRT1 hücrel metabolizma, oksidatif strese yanıt, otofaji, enflamasyon ve yaşlanma dahil olmak üzere birçok biyolojik sürece dahil edilmiştir (Ding vd., 2021; Lee vd., 2019). Yapılan bir çalışma uterusu özgü SIRT1 eksikliğinin farelerde stromal hücre desidualizasyonunu bozduğunu göstermiştir (Cummings vd., 2022). Önceki çalışmalar, sirtuin ailesi üyelerinin ekspresyonundaki düzensizliklerin anormal üreme fenotiplerinin ortaya çıkmasında rol oynayabileceğini göstermiş olsa da, SIRT1'in uterus biyolojisindeki rolüne ilişkin araştırmalar daha az saydadır (Tatone vd., 2018). SIRT1 aktivasyonunun endometriyumda forkhead box O1 (FOXO1) (endometriyum stromal hücrelerinin başarılı implantasyonu ve desidualizasyonunun düzenlenmesinde ekspresyonu önemli bir molekül) deasetilasyonunu kolaylaştırdığı ve böylece desidualizasyon sürecini modüle ettiği gösterilmiştir (Vasquez vd. 2018; Cummings vd., 2022). Çalışmamızda reseptif endometriyumun stromal hücreleri tarafından SIRT1'in yoğun bir şekilde eksprese edildiği ve PKOS grubunda ekspresyonun oldukça azaldığı görüldü. Naringenin ve metformin tek başına veya kombinasyon tedavisi SIRT1 ekspresyonunun geri kazanımında etkili olmadı. Yakın zamanda yapılan bir araştırma SIRT1'in domuz trofektoderm ve uterus luminal epitel hücrelerinin migrasyonu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu ve SIRT1'in susturulmasının implantasyonla ilgili genlerin ekspresyonunu azalttığını bildirmiştir (Bae vd., 2020). Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (RIF) olan hastalarda endometriyal SIRT1'in ekspresyonunun azaldığı ve endometriyal stromal hücrelerde desidualizasyonun bozulduğu gösterilmiştir. Endometriyal stromal hücrelerin desidualizasyonu sırasında SIRT1 ekspresyonunun azalması hücre içi ROS homeostazının bozulması, hücre içi ROS birikmesi ve antioksidan stres moleküllerinin azalması şeklinde kendini göstermiştir. Kısaca RIF hastalarında endometriyal stromal hücrelerin zayıf desidual yanıtında azalmış SIRT1'in rolü olabileceği gösterilmiştir (Li vd., 2021). Yeni yapılan bir çalışmada AMPK/SIRT1 yolunun aşırı androjenler ile baskılandığı ve desidualizasyonun bozulduğu gösterilmiştir (Hong vd., 2024). SIRT1'in hem

endometriyal epitel hücrelerinde hem de stromal hücrelerde tespit edildiğini, ancak SIRT1'in immünohistokimyasal boyanmasının stromal hücrelerde daha güçlü olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, ana ilgi odağı endometriyal stromal hücrelerin desidualizasyonunda SIRT1'in rolü olmuştur (Li vd., 2019).

Gebelik sırasında dokunun yeniden şekillenmesi ve özellikle fetomaternal arayüzde olmak üzere lokal perfüzyondaki önemli değişiklikler nedeniyle uterusu yüksek düzeyde ROS üretilmektedir (Brosens vd., 2009). SIRT1, FOXO1 gibi anahtar proteinleri doğrudan deasetile ederek hücrel redoks durumunu algılar ve modüle eder. Bazı araştırmacılar SIRT1 forkhead box O (FoxO-) bağımlı mekanizmaların katalaz (CAT), süperoksit dismutaz 2 (SOD2) ve peroksiredoksin gibi anahtar antioksidan enzimleri artırarak oksidatif strese karşı korumayı artırabileceğini gözlemiştir. Hücre içinde redoks homeostazını koruyan SIRT1 oksidatif stresle başa çıkmak için oksidanların önemli bir sensör proteini olan nükleer faktör-E2 ile ilişkili faktör 2 (NRF2) ile ilişkili bulunmuştur (Liv vd., 2021). Oksidatif stres PKOS patogeneğinde indükleyici bir faktör olarak kabul edilir ve malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GPx) gibi dolaşımdaki oksidatif durum belirteçlerinin PKOS'lu hastalarda değiştiği gösterilmiştir. Bir çalışmada PKOS grubunda gözlenen yüksek MDA seviyelerinin tek başına resveratrol ve metformin ile kombine tedavi ile düzelmiş olduğu ancak tek başına metformin ile düzelmediği gösterilmiştir (Furat Rencber vd., 2018). Çalışmamız SIRT1 ekspresyonunun endometriyal reseptivite sırasında kritik bir önemi olabileceğini göstermektedir. PKOS ortamında ve oksidatif stres durumunda bir iyileşme için tedavilerin uygulanma süresi uzatılabilir. Böylece SIRT1 ekspresyonunun geri kazanımını sağlanabilir. Birçok biyolojik sürece dahil olan SIRT1'in uterusu ekspresyonunun azalması patolojik durumların bir belirteci olabilir.

Çalışmamızda DHEA ile indüklenen PKOS fare modelinde östrus siklusunda, folikülojenizde, kan glukoz seviyelerinde ve vücut ile organ kütlelerinde değişiklikler tespit edilmiştir. Ovaryum ve uterus dokularına yapılan histopatolojik ve morfometrik analizlerde PKOS grubunda istatistiksel

açından anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Birçok yönüyle PKOS semptomlarını iyileştirebileceği düşünülen naringenin etken maddesinin çalışmamızda endometriyal reseptivite hasarı üzerindeki iyileştirici etkileri gösterilmiştir. Sonuç olarak çalışmamız PKOS’da oluşan endometriyal reseptivite hasarı üzerine naringenin’in koruyucu etkilerini histolojik ve morfometrik açıdan inceleyen sınırlı sayıda çalışmalardan birisidir. Bu çalışma, naringenin’in tek başına ya da metformin ile birlikte PKOS’un neden olduğu hasarı iyileştirmede yeni bir terapötik tedavi seçeneği olabilmesi açısından önemlidir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada naringenin’in PKOS’un neden olduğu endometriyal reseptivite hasarı üzerine olan etkileri histopatolojik, morfometrik ve immünfloresan boyama yöntemleri kullanarak analiz edilmiştir ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

➤ DHEA ile indüklenerek oluşturulan PKOS fare modelinde kistik ve atretik folikül sayısında artış ve korpus luteum yapısının bulunmaması ile anovuluar PKOS modelimizin oluştuğu belirlendi. PKOS grubunda düzenli östrus siklusunun kaybolduğu ve östrus aşamasında bir duraksama belirlendi. Naringenin ve metformin tedavilerinin tek başına ya da kombinasyon şeklinde uygulanmasından sonra siklusun normale dönmeye başladığı ve diğer östrus aşamalarına da geçildiği görüldü. Naringenin tedavisi sonrasında ovaryumda kistik ve atretik foliküllerin sayısının azaldığı ve korpus luteum sayısının arttığı belirlendi. Naringenin bozulan folikülojeniz restorasyonunu sağlamada etkili olabilir. Ancak naringenin+metformin kombinasyon tedavisinin folikülojeniz restorasyonunda daha güçlü etki gösterebileceği düşünüldü. Ovaryum ağırlığının PKOS grubunda artmış olduğu belirlendi. Naringenin ve metforminin tek başına ya da kombin tedavisi sonrasında ovaryum ağırlığı azaldı. PKOS grubunda vücut ağırlığında artış olduğu belirlendi ve bu artışı azaltmada naringenin, metformin ya da naringenin+metformin tedavilerinin etkili olduğu görüldü. PKOS modelimizde glukoz toleransının bozulduğu açlık kan glukozu ölçümü ve İPGTT ile

belirlendi. PKOS grubunda artmış olan glukoz seviyelerini düşürmede metformin ve naringenin+metformin kombinasyon tedavisinin daha etkili olduğu belirlendi.

➤ PKOS grubunda uterus ağırlığının, luminal epitel yüksekliğinin, subepitelyal stroma kalınlığının ve endometriyal bez sayısının arttığı belirlendi. Dahası genişlemiş lümenlere sahip bez yapılarında mevcuttu. PKOS grubunda epitel ve stromada apoptotik ve vakuolize hücrelerin oldukça fazla olduğu görüldü. Stromada immün hücrelerin infiltrasyonunda bir artış olduğu izlendi. Naringenin tedavisinin tek başına patolojik değişikliklerin restorasyonunda yeterli olmadığı görüldü. Naringenin'in metformin ile birlikte uygulanmasının oluşan histopatolojik hasarı iyileştirmede daha etkili olabileceği düşünüldü.

➤ PKOS grubunda uterus kollajen birikiminde bir artış görüldü. Naringenin ve metformin tedavilerinin endometriyal stromada kollajen birikiminde azalmaya neden olabileceği belirlendi. Ancak fibrozis ilerlemesini hafifletmede naringenin+metformin tedavisinin daha etkili olabileceği düşünüldü.

➤ MUC1, HOXA10 ve SIRT1 protein ekspresyonu immünfloresan boyama ile değerlendirildi.

➤ PKOS grubunda luminal epitelin apikal yüzeyinde ve stromada artmış MUC1 ekspresyonu izlendi. Naringenin tedavisi sonrası luminal epiteldeki MUC1 ekspresyonunda azalma görüldü ve stromada ekspresyonda bir azalma belirlenmedi. Metformin ve Naringenin+metformin tedavisi sonrasında hem luminal epitelde hem de stromada MUC1 ekspresyonu azaldı.

➤ Endometriyal reseptivite sırasında HOXA10 stromada eksprese edildi. PKOS grubunda stromadaki ekspresyonda azalma olduğu görüldü. Naringenin+metformin tedavisi sonrasında stromadaki HOXA10 ekspresyonu arttı. Naringenin ve metformin tedavisinin tek başına normal ekspresyonun yeniden kazanımında etkili olmadığı belirlendi.

➤ Endometriyal reseptivite sırasında SIRT1 stromal hücreler tarafından yoğun bir şekilde eksprese edildi. PKOS grubunda SIRT1'in stromal ekspresyonunun oldukça azaldığı belirlendi. SIRT1 ekspresyonunun yeniden kazanımında naringenin ve metformin'in tek başına veya kombin tedavisinin

etkili olmadığı görüldü. Fakat naringenin+metformin tedavisi sonrasında epitelde (luminal ve bez) zayıf SIRT1 ekspresyonu belirlendi.

➤ Sonuç olarak çalışmamız naringenin'in tek başına ya da metformin ile birlikte DHEA ile indüklenen PKOS fare modelinde bozulmuş olan folikülojeniz ve endometriyal reseptivite üzerinde olumlu terapötik bir etkisinin olabileceğini gösterdi. Naringenin tedavisinin etkili doz aralığı ile uygulanma süresinin ve terapötik etkisinin nasıl bir mekanizma ile sağlandığını açıklamak için daha kapsamlı çalışmaların yapılmasını önermekteyiz.



7. KAYNAKLAR

Achache, H., & Revel, A. (2006). Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Human reproduction update*, 12(6), 731–746.

Adana, M. Y., Akang, E. N., Peter, A. I., Jegede, A. I., Naidu, E. C. S., Tiloke, C., ... & Azu, O. O. (2018). Naringenin attenuates highly active antiretroviral therapy-induced sperm DNA fragmentations and testicular toxicity in Sprague-Dawley rats. *Andrology*, 6(1), 166-175.

Adu-Gyamfi, E. A., Czika, A., Gorleku, P. N., Ullah, A., Panhwar, Z., Ruan, L. L., Ding, Y. B., & Wang, Y. X. (2021). The Involvement of Cell Adhesion Molecules, Tight Junctions, and Gap Junctions in Human Placentation. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 28(2), 305–320.

Akbas, G. E., & Taylor, H. S. (2004). HOXC and HOXD gene expression in human endometrium: lack of redundancy with HOXA paralogs. *Biology of reproduction*, 70(1), 39–45.

Alam, M. A., Subhan, N., Rahman, M. M., Uddin, S. J., Reza, H. M., & Sarker, S. D. (2014). Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Advances in Nutrition*, 5(4), 404-417.

Altmäe, S., Esteban, F. J., Stavreus-Evers, A., Simón, C., Giudice, L., Lessey, B. A., Horcajadas, J. A., Macklon, N. S., D'Hooghe, T., Campoy, C., Fauser, B. C., Salamonsen, L. A., & Salumets, A. (2014). Guidelines for the design, analysis and interpretation of 'omics' data: focus on human endometrium. *Human reproduction update*, 20(1), 12–28.

Azziz, R., Carmina, E., Dewailly, D., Diamanti-Kandarakis, E., Escobar-Morreale, H. F., Futterweit, W., Janssen, O. E., Legro, R. S., Norman, R. J., Taylor, A. E., Witchel, S. F., & Task Force on the Phenotype of the Polycystic Ovary Syndrome of The Androgen Excess and PCOS Society (2009). The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertility and sterility*, 91(2), 456–488.

Bae, H., Yang, C., Lee, J. Y., Park, S., Bazer, F. W., Song, G., & Lim, W. (2020). Melatonin improves uterine-conceptus interaction via regulation of SIRT1 during early pregnancy. *Journal of Pineal Research*, 69(2), e12670.

Bajpai, K., Acharya, N., Prasad, R., & Wanjari, M. B. (2023). Endometrial Receptivity During the Preimplantation Period: A Narrative Review. *Cureus*, 15(4), e37753.

Banaszewska, B., Wrotyńska-Barczyńska, J., Spaczynski, R. Z., Pawelczyk, L., & Duleba, A. J. (2016). Effects of resveratrol on polycystic ovary syndrome: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *101*(11), 4322-4328.

Bhia, M., Motallebi, M., Abadi, B., Zarepour, A., Pereira-Silva, M., Saremnejad, F., Santos, A. C., Zarrabi, A., Melero, A., Jafari, S. M., & Shakibaei, M. (2021). Naringenin Nano-Delivery Systems and Their Therapeutic Applications. *Pharmaceutics*, *13*(2), 291.

Blanco-Breindel, M. F., Singh, M., & Kahn, J. (2023). Endometrial Receptivity. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Bracho, G. S., Altamirano, G. A., Kass, L., Luque, E. H., & Bosquiazzo, V. L. (2019). Hyperandrogenism induces histo-architectural changes in the rat uterus. *Reproductive Sciences*, *26*(5), 657-668.

Brosens, J., Verhoeven, H., Campo, R., Gianaroli, L., Gordts, S., Hazekamp, J., Hägglund, L., Mardesic, T., Varila, E., Zech, J., & Brosens, I. (2004). High endometrial aromatase P450 mRNA expression is associated with poor IVF outcome. *Human reproduction (Oxford, England)*, *19*(2), 352–356.

Budihastuti, U. R., Dasuki, D., Sadewa, A. H., & Utoro, T. (2023). Endometrial receptivity defects MUC-1 and COX-2 polymorphisms in endometriosis. *Journal of Medicine and Life*, *16*(10), 1503.

Cai, J., Wen, H., Zhou, H., Zhang, D., Lan, D., Liu, S., Li, C., Dai, X., Song, T., Wang, X., He, Y., He, Z., Tan, J., & Zhang, J. (2023). Naringenin: A flavanone with anti-inflammatory and anti-infective properties. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *164*, 114990.

Carson, S. A., & Kallen, A. N. (2021). Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*, *326*(1), 65–76.

Cermik, D., Selam, B., & Taylor, H. S. (2003). Regulation of HOXA-10 expression by testosterone in vitro and in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *88*(1), 238-243.

Cha, J., Sun, X., & Dey, S. K. (2012). Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nature medicine*, *18*(12), 1754–1767.

Cheng, J., Li, C., Ying, Y., Lv, J., Qu, X., McGowan, E., Lin, Y., & Zhu, X. (2022). Metformin Alleviates Endometriosis and Potentiates Endometrial Receptivity via Decreasing VEGF and MMP9 and Increasing

Leukemia Inhibitor Factor and HOXA10. *Frontiers in pharmacology*, 13, 750208.

Chtourou, Y., Fetoui, H., Jemai, R., Slima, A. B., Makni, M., & Gdoura, R. (2015). Naringenin reduces cholesterol-induced hepatic inflammation in rats by modulating matrix metalloproteinases-2, 9 via inhibition of nuclear factor κ B pathway. *European journal of pharmacology*, 746, 96-105.

Ciaraldi, T. P., Aroda, V., Mudaliar, S., Chang, R. J., & Henry, R. R. (2009). Polycystic ovary syndrome is associated with tissue-specific differences in insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 94(1), 157–163.

Cummings, M. J., Yu, H., Paudel, S., Hu, G., Li, X., Hemberger, M., & Wang, X. (2022). Uterine-specific SIRT1 deficiency confers premature uterine aging and impairs invasion and spacing of blastocyst, and stromal cell decidualization, in mice. *Molecular Human Reproduction*, 28(7), gaac016.

Creely, S. J., McTernan, P. G., Kusminski, C. M., Fisher, fM., Da Silva, N. F., Khanolkar, M., Evans, M., Harte, A. L., & Kumar, S. (2007). Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 292(3), E740–E747.

Daftary, G. S., Kayisli, U., Seli, E., Bukulmez, O., Arici, A., & Taylor, H. S. (2007). Salpingectomy increases peri-implantation endometrial HOXA10 expression in women with hydrosalpinx. *Fertility and sterility*, 87(2), 367-372.

Daly, D. C., Maslar, I. A., & Riddick, D. H. (1983). Prolactin production during in vitro decidualization of proliferative endometrium. *American journal of obstetrics and gynecology*, 145(6), 672-678.

Darabi, P., Khazali, H., & Mehrabani Natanzi, M. (2020). Therapeutic potentials of the natural plant flavonoid apigenin in polycystic ovary syndrome in rat model: via modulation of pro-inflammatory cytokines and antioxidant activity. *Gynecological Endocrinology*, 36(7), 582-587.

Deeks, A. A., Gibson-Helm, M. E., Paul, E., & Teede, H. J. (2011). Is having polycystic ovary syndrome a predictor of poor psychological function including anxiety and depression?. *Human reproduction (Oxford, England)*, 26(6), 1399–1407.

de Jager, S. C., Kraaijeveld, A. O., Grauss, R. W., de Jager, W., Liem, S. S., van der Hoeven, B. L., Prakken, B. J., Putter, H., van Berkel, T. J.,

Atsma, D. E., Schalij, M. J., Jukema, J. W., & Biessen, E. A. (2008). CCL3 (MIP-1 alpha) levels are elevated during acute coronary syndromes and show strong prognostic power for future ischemic events. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 45(3), 446–452.

Delibaş, Ö. (2017). PİWİ-piRNA yolağında rol alan TDRD9 VE MİWİ proteinlerinin polikistik over sendromu oluşturulmuş fare modelinde incelenmesi. *Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.

De Stefani, E., Ronco, A., Mendilaharsu, M., & Deneo-Pellegrini, H. (1999). Diet and risk of cancer of the upper aerodigestive tract--II. Nutrients. *Oral oncology*, 35(1), 22–26.

Dey, S. K., Lim, H., Das, S. K., Reese, J., Paria, B. C., Daikoku, T., & Wang, H. (2004). Molecular cues to implantation. *Endocrine reviews*, 25(3), 341–373.

Ding, J., Zhang, Y., Cai, X., Diao, L., Yang, C., & Yang, J. (2021). Crosstalk between trophoblast and macrophage at the maternal-fetal interface: current status and future perspectives. *Frontiers in Immunology*, 12, 758281.

Dixon, D., Alison, R., Bach, U., Colman, K., Foley, G. L., Harleman, J. H., ... & Yoshida, M. (2014). Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system. *Journal of toxicologic pathology*, 27(3-4 Suppl), 1S.

Dorn, C., Mouillet, J. F., Yan, X., Ou, Q., & Sadovsky, Y. (2004). Insulin enhances the transcription of luteinizing hormone-beta gene. *American journal of obstetrics and gynecology*, 191(1), 132–137.

Du, H., & Taylor, H. S. (2016). The role of Hox genes in female reproductive tract development, adult function, and fertility. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(1), a023002.

Du, Y., Ma, J., Fan, Y., Wang, X., Zheng, S., Feng, J., ... & Ye, Q. (2021). Naringenin: a promising therapeutic agent against organ fibrosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021(1), 1210675.

Dubey, P., Reddy, S., Boyd, S., Bracamontes, C., Sanchez, S., Chattopadhyay, M., & Dwivedi, A. (2021). Effect of Nutritional Supplementation on Oxidative Stress and Hormonal and Lipid Profiles in PCOS-Affected Females. *Nutrients*, 13(9), 2938.

Dudek, R. W. (2014). *BRS Embryology*(6th Edition). Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 169-190.

Duleba, A. J., & Dokras, A. (2012). Is PCOS an inflammatory process?. *Fertility and sterility*, *97*(1), 7–12.

Edwards R. G. (2006). Human implantation: the last barrier in assisted reproduction technologies?. *Reproductive biomedicine online*, *13*(6), 887–904.

Ekambaram, G., Rajendran, P., Magesh, V., & Sakthisekaran, D. (2008). Naringenin reduces tumor size and weight lost in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in rats. *Nutrition research (New York, N.Y.)*, *28*(2), 106–112.

Elia, E. M., Belgorosky, D., Faut, M., Vighi, S., Pustovrh, C., & Motta, A. B. (2009). The effects of metformin on uterine tissue of hyperandrogenized BALB/c mice. *Molecular human reproduction*, *15*(7), 421-432.

Fearnley, E. J., Marquart, L., Spurdle, A. B., Weinstein, P., Webb, P. M., & Australian Ovarian Cancer Study Group and The Australian National Endometrial Cancer Study Group. (2010). Polycystic ovary syndrome increases the risk of endometrial cancer in women aged less than 50 years: an Australian case-control study. *Cancer Causes & Control*, *21*, 2303-2308.

Francis, A. R., Shetty, T. K., & Bhattacharya, R. K. (1989). Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis*, *10*(10), 1953–1955.

Friesen, C., Herr, I., Krammer, P. H., & Debatin, K. M. (1996). Involvement of the CD95 (APO-1/FAS) receptor/ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells. *Nature medicine*, *2*(5), 574–577.

Fu, X. P., Xu, L., Fu, B. B., Wei, K. N., Liu, Y., Liao, B. Q., He, S. W., Wang, Y. L., Chen, M. H., Lin, Y. H., Li, F. P., Hong, Z. W., Huang, X. H., Xu, C. L., & Wang, H. L. (2020). Pachymic acid protects oocyte by improving the ovarian microenvironment in polycystic ovary syndrome mice†. *Biology of reproduction*, *103*(5), 1085–1098.

Fuhr, U., Klittich, K., & Staib, A. H. (1993). Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man. *British journal of clinical pharmacology*, *35*(4), 431–436.

Fuhr, U., & Kummert, A. L. (1995). The fate of naringin in humans: a key to grapefruit juice-drug interactions?. *Clinical pharmacology and therapeutics*, *58*(4), 365–373.

Furat Rençber, S., Kurnaz Ozbek, S., Eraldemir, C., Sezer, Z., Kum, T., Ceylan, S., & Guzel, E. (2018). Effect of resveratrol and metformin on ovarian

reserve and ultrastructure in PCOS: an experimental study. *Journal of ovarian research*, 11(1), 55.

Ghofrani, S., Joghataei, M. T., Mohseni, S., Baluchnejadmojarad, T., Bagheri, M., Khamse, S., & Roghani, M. (2015). Naringenin improves learning and memory in an Alzheimer's disease rat model: Insights into the underlying mechanisms. *European journal of pharmacology*, 764, 195-201.

Goldwasser, J., Cohen, P. Y., Yang, E., Balaguer, P., Yarmush, M. L., & Nahmias, Y. (2010). Transcriptional regulation of human and rat hepatic lipid metabolism by the grapefruit flavonoid naringenin: role of PPAR α , PPAR γ and LXR α . *PloS one*, 5(8), e12399.

Guioli, S., Sekido, R., & Lovell-Badge, R. (2007). The origin of the Mullerian duct in chick and mouse. *Developmental biology*, 302(2), 389–398.

Gunn, D. D., & Bates, G. W. (2016). Evidence-based approach to unexplained infertility: a systematic review. *Fertility and sterility*, 105(6), 1566–1574.e1.

Hakimi, O., & Cameron, L. C. (2017). Effect of Exercise on Ovulation: A Systematic Review. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, 47(8), 1555–1567.

Han, J., & Sadiq, N. M. (2023). Anatomy, Abdomen and Pelvis: Fallopian Tube. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Hansda, S. R., & Haldar, C. (2021). Uterine anomalies in cell proliferation, energy homeostasis and oxidative stress in PCOS hamsters, *M. auratus*: Therapeutic potentials of melatonin. *Life sciences*, 281, 119755.

Hao, M., Yuan, F., Jin, C., Zhou, Z., Cao, Q., Xu, L., Wang, G., Huang, H., Yang, D., Xie, M., & Zhao, X. (2016). Overexpression of Lnk in the Ovaries Is Involved in Insulin Resistance in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology*, 157(10), 3709–3718.

Harrison, C., Boivin, J., & Gameiro, S. (2022). Talking about possible IVF/ICSI failure and need for multiple cycles in treatment planning: qualitative investigation of multi-cycle planning and its acceptability to patients and staff. *Human reproduction (Oxford, England)*, 37(3), 488–498.

Hong, L., Xiao, S., Diao, L., Lian, R., Chen, C., Zeng, Y., & Liu, S. (2024). Decreased AMPK/SIRT1/PDK4 induced by androgen excess inhibits human endometrial stromal cell decidualization in PCOS. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 81(1), 324.

Hong, Y., Yin, Y., Tan, Y., Hong, K., & Zhou, H. (2019). The Flavanone, Naringenin, Modifies Antioxidant and Steroidogenic Enzyme Activity in a Rat Model of Letrozole-Induced Polycystic Ovary Syndrome. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 395–401.

Honjo, K., Kubagawa, Y., Suzuki, Y., Takagi, M., Ohno, H., Bucy, R. P., ... & Kubagawa, H. (2014). Enhanced auto-antibody production and Mott cell formation in FcμR-deficient autoimmune mice. *International immunology*, 26(12), 659-672.

Hu, J., Zeng, B., Jiang, X., Meng, Y., Zhu, Y., & Mao, M. (2015). The expression of marker for endometrial stem cell and fibrosis was increased in intrauterine adhesions. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(2), 1525.

Huang, Y., Yu, Y., Gao, J., Li, R., Zhang, C., Zhao, H., Zhao, Y., & Qiao, J. (2015). Impaired oocyte quality induced by dehydroepiandrosterone is partially rescued by metformin treatment. *PloS one*, 10(3), e0122370.

Jahan, S., Munir, F., Razak, S., Mehboob, A., Ain, Q. U., Ullah, H., ... & Almajwal, A. (2016). Ameliorative effects of rutin against metabolic, biochemical and hormonal disturbances in polycystic ovary syndrome in rats. *Journal of ovarian research*, 9, 1-9.

Jakubowicz, D. J., Seppälä, M., Jakubowicz, S., Rodriguez-Armas, O., Rivas-Santiago, A., Koistinen, H., ... & Nestler, J. E. (2001). Insulin reduction with metformin increases luteal phase serum glycodelin and insulin-like growth factor-binding protein 1 concentrations and enhances uterine vascularity and blood flow in the polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(3), 1126-1133.

Ji, C., Xu, W., Zhang, Z., Cui, S., & Yi, W. (2021). Effect of Electroacupuncture on Reproductive Disorders and Insulin Resistance in a Murine Polycystic Ovary Syndrome Model. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2021, 9968463.

Jiang, N. X., & Li, X. L. (2022). The Disorders of Endometrial Receptivity in PCOS and Its Mechanisms. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 29(9), 2465–2476.

Jing, X., Liang, H., Hao, C., Yang, X., & Cui, X. (2019). Overexpression of MUC1 predicts poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncology reports*, 41(2), 801-810.

Joham, A. E., Norman, R. J., Stener-Victorin, E., Legro, R. S., Franks, S., Moran, L. J., ... & Teede, H. J. (2022). Polycystic ovary syndrome. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 10(9), 668-680.

Joshi, R., Kulkarni, Y. A., & Wairkar, S. (2018). Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update. *Life sciences*, 215, 43–56. 1.

Junqueira LCU, Carneiro J, Aytekin Y, Solakoğlu S. (2009). Temel histoloji: text & atlas. Baskı Nobel Tıp Kitabevleri.

Kannappan, S., & Anuradha, C. V. (2010). Naringenin enhances insulin-stimulated tyrosine phosphorylation and improves the cellular actions of insulin in a dietary model of metabolic syndrome. *European journal of nutrition*, 49(2), 101–109.

Karachrysa, S., Georgiou, P., Kavvadas, D., Papafotiu, F., Isaakidou, S., Grammatikakis, I. E., & Papamitsou, T. (2023). Immunohistochemical study of MMP-2, MMP-9, EGFR and IL-8 in decidual and trophoblastic specimens of recurrent pregnancy loss cases. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*, 36(1), 2218523.

Katavic, P. L., Lamb, K., Navarro, H., & Prisinzano, T. E. (2007). Flavonoids as opioid receptor ligands: identification and preliminary structure-activity relationships. *Journal of natural products*, 70(8), 1278–1282.

Ke, J. Y., Kliewer, K. L., Hamad, E. M., Cole, R. M., Powell, K. A., Andridge, R. R., Straka, S. R., Yee, L. D., & Belury, M. A. (2015). The flavonoid, naringenin, decreases adipose tissue mass and attenuates ovariectomy-associated metabolic disturbances in mice. *Nutrition & metabolism*, 12, 1.

Kelly, C. C., Lyall, H., Petrie, J. R., Gould, G. W., Connell, J. M., & Sattar, N. (2001). Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(6), 2453–2455.

Khan, M. J., Ullah, A., & Basit, S. (2019). Genetic Basis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Current Perspectives. *The application of clinical genetics*, 12, 249–260.

Kicinska, A., Kampa, R. P., Daniluk, J., Sek, A., Jarmuszkiewicz, W., Szweczyk, A., & Bednarczyk, P. (2020). Regulation of the Mitochondrial

BK_{Ca} Channel by the Citrus Flavonoid Naringenin as a Potential Means of Preventing Cell Damage. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(13), 3010.

Kierszenbaum AL, Demir R. (2006). Histoloji Ve Hücre biyolojisi: Patolojiye Giriş. Baskı Palme Yayıncılık.

Kim, J. J., Taylor, H. S., Lu, Z., Ladhani, O., Hastings, J. M., Jackson, K. S., ... & Fazleabas, A. T. (2007). Altered expression of HOXA10 in endometriosis: potential role in decidualization. *Molecular human reproduction*, 13(5), 323-332.

Kim, J. J., Taylor, H. S., Akbas, G. E., Foucher, I., Trembleau, A., Jaffé, R. C., ... & Unterman, T. G. (2003). Regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 promoter activity by FKHR and HOXA10 in primate endometrial cells. *Biology of reproduction*, 68(1), 24-30.

Kim, T. H., Yoo, J. Y., Choi, K. C., Shin, J. H., Leach, R. E., Fazleabas, A. T., ... & Jeong, J. W. (2019). Loss of HDAC3 results in nonreceptive endometrium and female infertility. *Science translational medicine*, 11(474), eaaf7533.

Kim, T. K. (2017). Understanding one-way ANOVA using conceptual figures. *Korean journal of anesthesiology*, 70(1), 22-26.

Kinnear, H. M., Tomaszewski, C. E., Chang, F. L., Moravek, M. B., Xu, M., Padmanabhan, V., & Shikanov, A. (2020). The ovarian stroma as a new frontier. *Reproduction*, 160(3), R25-R39.

Kubota, K., Miwa, M., Hayashi, K. G., Hosoe, M., & Sakatani, M. (2021). Steroidal but not embryonic regulation of mucin 1 expression in bovine endometrium. *The Journal of reproduction and development*, 67(6), 386–391.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 162750.

Kuyucu, Y., Çelik, L. S., Kendirlihan, Ö., Tap, Ö., & Mete, U. Ö. (2018). Investigation of the uterine structural changes in the experimental model with polycystic ovary syndrome and effects of vitamin D treatment: An ultrastructural and immunohistochemical study. *Reproductive biology*, 18(1), 53-59.

Kreimann, E. L., & Cabrini, R. L. (2013). Subcellular redistribution of NHERF1 in response to dehydroepiandrosterone (DHEA) administration in endometrial glands of Wistar rats. *Reproductive Sciences*, 20(1), 103-111.

Ian Peate O, Nair M. (2015). *Anatomy and Physiology for Nurses at a Glance*. Baskı. John Wiley & Sons.

Ladson, G., Dodson, W. C., Sweet, S. D., Archibong, A. E., Kunselman, A. R., Demers, L. M., ... & Legro, R. S. (2011). The effects of metformin with lifestyle therapy in polycystic ovary syndrome: a randomized double-blind study. *Fertility and sterility*, 95(3), 1059-1066.

Lawson, M. A., Jain, S., Sun, S., Patel, K., Malcolm, P. J., & Chang, R. J. (2008). Evidence for insulin suppression of baseline luteinizing hormone in women with polycystic ovarian syndrome and normal women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 93(6), 2089–2096.

Lee, K. M., Seo, H. W., Kwon, M. S., Han, A. R., & Lee, S. K. (2019). SIRT1 negatively regulates invasive and angiogenic activities of the extravillous trophoblast. *American Journal of Reproductive Immunology*, 82(4), e13167.

Lee, D. K., Kurihara, I., Jeong, J. W., Lydon, J. P., DeMayo, F. J., Tsai, M. J., & Tsai, S. Y. (2010). Suppression of ERalpha activity by COUP-TFII is essential for successful implantation and decidualization. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 24(5), 930–940.

Lee MinJung, L. M., Jang MinHee, J. M., Bae ChunSik, B. C., Park KyoungSun, P. K., Kim HakJae, K. H., Lee SangHyun, L. S., ... & Cho IkHyun, C. I. (2016). Effects of Oriental medicine Kyung-Ok-Ko on uterine abnormality in hyperandrogenized rats.

Lessey, B. A., & Young, S. L. (2019a). What exactly is endometrial receptivity?. *Fertility and sterility*, 111(4), 611–617.

Lessey, B. A., & Young, S. L. (2019b). Structure, function, and evaluation of the female reproductive tract. In *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology* (pp. 206-247).

Li, X., Guo, Y. R., Lin, J. F., Feng, Y., Billig, H., & Shao, R. (2014). Combination of Diane-35 and metformin to treat early endometrial carcinoma in PCOS women with insulin resistance. *Journal of Cancer*, 5(3), 173.

Li, M. Q., Yao, M. N., Yan, J. Q., Li, Z. L., Gu, X. W., Lin, S., ... & Yang, Z. M. (2017). The decline of pregnancy rate and abnormal uterine responsiveness of steroid hormones in aging mice. *Reproductive biology*, 17(4), 305-311.

Li, J., Qi, J., Yao, G., Zhu, Q., Li, X., Xu, R., ... & Sun, Y. (2021). Deficiency of sirtuin 1 impedes endometrial decidualization in recurrent

implantation failure patients. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 598364.

Li, S. Y., Song, Z., Song, M. J., Qin, J. W., Zhao, M. L., & Yang, Z. M. (2016). Impaired receptivity and decidualization in DHEA-induced PCOS mice. *Scientific reports*, 6, 38134.

Lim, W., & Song, G. (2016). Naringenin-induced migration of embryonic trophectoderm cells is mediated via PI3K/AKT and ERK1/2 MAPK signaling cascades. *Molecular and cellular endocrinology*, 428, 28-37.

Liu, X., Wang, W., Hu, H., Tang, N., Zhang, C., Liang, W., & Wang, M. (2006). Smad3 specific inhibitor, naringenin, decreases the expression of extracellular matrix induced by TGF- β 1 in cultured rat hepatic stellate cells. *Pharmaceutical research*, 23, 82-89.

López-Almada, G., Domínguez-Avila, J. A., Mejía-León, M. E., Robles-Sánchez, M., González-Aguilar, G. A., & Salazar-López, N. J. (2023). Could Naringenin Participate as a Regulator of Obesity and Satiety?. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(3), 1450.

Lowe, W. L., Jr, & Reddy, T. E. (2015). Genomic approaches for understanding the genetics of complex disease. *Genome research*, 25(10), 1432–1441.

Mara H. Rendi, R. L. G., Kelly L. Boyd. (2012). In comparative anatomy and histology. In Female reproductive system (pp. 253-284.).

Matsuzaki, S., Canis, M., Darcha, C., Pouly, J. L., & Mage, G. (2009). HOXA-10 expression in the mid-secretory endometrium of infertile patients with either endometriosis, uterine fibromas or unexplained infertility. *Human reproduction (Oxford, England)*, 24(12), 3180–3187.

Maybin, J. A., & Critchley, H. O. (2015). Menstrual physiology: implications for endometrial pathology and beyond. *Human reproduction update*, 21(6), 748–761.

Mbaveng, A. T., Zhao, Q., & Kuete, V. (2014). Harmful and protective effects of phenolic compounds from African medicinal plants. In Toxicological survey of African medicinal plants (pp. 577-609). Elsevier.

Mescher, A. L. (2013). Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas (13th ed.). McGraw Hill Medical.

Mohammadi M. (2019). Oxidative Stress and Polycystic Ovary Syndrome: A Brief Review. *International journal of preventive medicine*, 10, 86.

Mahmoudi Aliabadi, P., Al-Qaisi, K., Jani, P. K., Honjo, K., Klemm, U., Lee, K. H., ... & Kubagawa, H. (2023). Enhanced Mott cell formation linked with IgM Fc receptor (Fc μ R) deficiency. *European Journal of Immunology*, 53(7), 2250315.

Mojarrad, M., Hassanzadeh-Nazarabadi, M., & Tafazoli, N. (2013). Polymorphism of genes and implantation failure. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 2(1), 1.

Mokhtar, H. M., Giribabu, N., & Salleh, N. (2018). Testosterone down-regulates expression of $\alpha\beta$ 3-integrin, e-cadherin and mucin-1 during uterine receptivity period in rats. *Sains Malaysiana*, 47(10), 2509-17.

Moran, L. J., Norman, R. J., & Teede, H. J. (2015). Metabolic risk in PCOS: phenotype and adiposity impact. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 26(3), 136-143.

Moustafa, S., & Young, S. L. (2020). Diagnostic and therapeutic options in recurrent implantation failure. *F1000Research*, 9, F1000 Faculty Rev-208.

Moore KL, Dalley AF, Şahinoğlu K. (2007). *Kliniğe yönelik anatomi*. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri.

Moore, KL., Persaud, T.V.N., Torchia, M. G. (2020). The developing human clinically oriented embryology. Philadelphia: Elsevier (Eleventh Edition). 11-46.e1.

Montanino Oliva, M., Buonomo, G., Calcagno, M., & Unfer, V. (2018). Effects of myo-inositol plus alpha-lactalbumin in myo-inositol-resistant PCOS women. *Journal of ovarian research*, 11(1), 38.

Motta, A. B. (2010). Dehydroepiandrosterone to induce murine models for the study of polycystic ovary syndrome. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 119(3-5), 105-111.

Mulvihill, E. E., Allister, E. M., Sutherland, B. G., Telford, D. E., Sawyez, C. G., Edwards, J. Y., Markle, J. M., Hegele, R. A., & Huff, M. W. (2009). Naringenin prevents dyslipidemia, apolipoprotein B overproduction, and hyperinsulinemia in LDL receptor-null mice with diet-induced insulin resistance. *Diabetes*, 58(10), 2198-2210.

Mulvihill, E. E., Burke, A. C., & Huff, M. W. (2016). Citrus flavonoids as regulators of lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Annual review of nutrition*, 36(1), 275-299.

Munro M. G. (2019). Uterine polyps, adenomyosis, leiomyomas, and endometrial receptivity. *Fertility and sterility*, 111(4), 629–640.

Murugesan, N., Woodard, K., Ramaraju, R., Greenway, F. L., Coulter, A. A., & Rebello, C. J. (2020). Naringenin increases insulin sensitivity and metabolic rate: A case study. *Journal of Medicinal Food*, 23(3), 343-348.

Mihanfar, A., Nouri, M., Roshangar, L., & Khadem-Ansari, M. H. (2021). Ameliorative effects of fisetin in letrozole-induced rat model of polycystic ovary syndrome. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 213, 105954.

Mir, I. A., & Tiku, A. B. (2015). Chemopreventive and therapeutic potential of "naringenin," a flavanone present in citrus fruits. *Nutrition and cancer*, 67(1), 27–42.

Mirabolghasemi, G., & Kamyab, Z. (2017). Changes of the uterine tissue in rats with polycystic ovary syndrome induced by estradiol valerate. *International Journal of Fertility & Sterility*, 11(1), 47.

Misugi, T., Ozaki, K., El Beltagy, K., Tokuyama, O., Honda, K. I., & Ishiko, O. (2006). Insulin-lowering agents inhibit synthesis of testosterone in ovaries of DHEA-induced PCOS rats. *Gynecologic and obstetric investigation*, 61(4), 208-215.

Nestler, J. E., Powers, L. P., Matt, D. W., Steingold, K. A., Plymate, S. R., Rittmaster, R. S., Clore, J. N., & Blackard, W. G. (1991). A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 72(1), 83–89.

Nestler, J. E., Jakubowicz, D. J., de Vargas, A. F., Brik, C., Quintero, N., & Medina, F. (1998). Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from women with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as the signal transduction system. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 83(6), 2001–2005.

Neykova, K., Tosto, V., Giardina, I., Tsibizova, V., & Vakrilov, G. (2022). Endometrial receptivity and pregnancy outcome. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European*

Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians, 35(13), 2591–2605.

Oberdoerffer, P., Michan, S., McVay, M., Mostoslavsky, R., Vann, J., Park, S. K., Hartlerode, A., Stegmuller, J., Hafner, A., Loerch, P., Wright, S. M., Mills, K. D., Bonni, A., Yankner, B. A., Scully, R., Prolla, T. A., Alt, F. W., & Sinclair, D. A. (2008). SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell*, 135(5), 907–918.

Orio, F., Jr, Palomba, S., Cascella, T., De Simone, B., Di Biase, S., Russo, T., Labella, D., Zullo, F., Lombardi, G., & Colao, A. (2004). Early impairment of endothelial structure and function in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(9), 4588–4593.

Ovalle WK, Netter FH, Chovan J, Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. Netter temel histoloji. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2009.

Ozan H. *Anatomi*. Baskı. Klinisyen Tıp Kitabevleri, 2005.

Palmerini, M. G., Macchiarelli, G., Cocciolone, D., Mascitti, I. A., Placidi, M., Vergara, T., Di Emidio, G., & Tatone, C. (2023). Modulating Morphological and Redox/Glycative Alterations in the PCOS Uterus: Effects of Carnitines in PCOS Mice. *Biomedicines*, 11(2), 374.

Palomba, S., Orio Jr, F., Falbo, A., Manguso, F., Russo, T., Cascella, T., ... & Zullo, F. (2005). Prospective parallel randomized, double-blind, double-dummy controlled clinical trial comparing clomiphene citrate and metformin as the first-line treatment for ovulation induction in nonobese anovulatory women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(7), 4068-4074.

Palomba, S., Russo, T., Orio Jr, F., Falbo, A., Manguso, F., Cascella, T., ... & Zullo, F. (2006). Uterine effects of metformin administration in anovulatory women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*, 21(2), 457-465.

Park, S., Lim, W., Bazer, F. W., & Song, G. (2017). Naringenin induces mitochondria-mediated apoptosis and endoplasmic reticulum stress by regulating MAPK and AKT signal transduction pathways in endometriosis cells. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, 23(12), 842-854.

Piltonen, T. T. (2016). Polycystic ovary syndrome: endometrial markers. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 37, 66-79.

Purushotham, A., Tian, M., & Belury, M. A. (2009). The citrus fruit flavonoid naringenin suppresses hepatic glucose production from Fao hepatoma cells. *Molecular nutrition & food research*, 53(2), 300–307.

Quinn, K. E., Matson, B. C., Wetendorf, M., & Caron, K. M. (2020). Pinopodes: Recent advancements, current perspectives, and future directions. *Molecular and cellular endocrinology*, 501, 110644.

Rajappa, R., Sireesh, D., Salai, M. B., Ramkumar, K. M., Sarvajayakesavulu, S., & Madhunapantula, S. V. (2019). Treatment With Naringenin Elevates the Activity of Transcription Factor Nrf2 to Protect Pancreatic β -Cells From Streptozotocin-Induced Diabetes *in vitro* and *in vivo*. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1562.

Rani, R., Chitme, H. R., Kukreti, N., Pant, P., Abdel-Wahab, B. A., Khateeb, M. M., ... & Bakir, M. B. (2023). Regulation of insulin resistance, lipid profile and glucose metabolism associated with polycystic ovary syndrome by *tinospira cordifolia*. *Nutrients*, 15(10), 2238.

Rashid, R., Tripathi, R., Singh, A., Sarkar, S., Kawale, A., Bader, G. N., ... & Jha, R. K. (2023). Naringenin improves ovarian health by reducing the serum androgen and eliminating follicular cysts in letrozole-induced polycystic ovary syndrome in the Sprague Dawley rats. *Phytotherapy Research*, 37(9), 4018-4041.

Rasquin, L. I., Anastasopoulou, C., & Mayrin, J. V. (2023). StatPearls [Internet] Treasure Island (FL).

Rayidi S., Pari L.(2011). Effect of naringenin on carbohydrate metabolism in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Biomirror*. 2, 12–19.

Refaat, B., Simpson, H., Britton, E., Biswas, J., Wells, M., Aplin, J. D., & Ledger, W. (2012). Why does the fallopian tube fail in ectopic pregnancy? The role of activins, inducible nitric oxide synthase, and MUC1 in ectopic implantation. *Fertility and sterility*, 97(5), 1115-1123.

Renugadevi, J., & Prabu, S. M. (2010). Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. *Experimental and toxicologic pathology:official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*, 62(2), 171–181.

Richardson, L. C., & Pollack, L. A. (2005). Therapy insight: influence of type 2 diabetes on the development, treatment and outcomes of cancer. *Nature clinical practice Oncology*, 2(1), 48-53.

Robbins, J. B., Broadwell, C., Chow, L. C., Parry, J. P., & Sadowski, E. A. (2015). Müllerian duct anomalies: embryological development, classification, and MRI assessment. *Journal of magnetic resonance imaging:JMRI*, 41(1), 1-12.

Ross MH, Pawlina W. Histology a text and atlas 6th edition. Baskı. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, 2011.

Ross MH, Paulina W Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas, 6. Baskıdan Çeviri, Baykal B, Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia USA 2011; 972.

Roy, S., Ahmed, F., Banerjee, S., & Saha, U. (2016). Naringenin ameliorates streptozotocin-induced diabetic rat renal impairment by downregulation of TGF- β 1 and IL-1 via modulation of oxidative stress correlates with decreased apoptotic events. *Pharmaceutical biology*, 54(9), 1616-1627.

Ruan, X., & Dai, Y. (2009). Study on chronic low-grade inflammation and influential factors of polycystic ovary syndrome. *Medical principles and practice:international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 18(2), 118-122.

Sadler, T. (2004). Langman's Medical Embryology (Ninth editin). New York: Lippincott Williams & Wilkins. 235- 262.

Sadler, T. W. (2017). Medikal Embriyoloji. A. C. Başaklar (Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık, 14-278.

Salminen, A., Hyttinen, J. M., & Kaarniranta, K. (2011). AMP-activated protein kinase inhibits NF- κ B signaling and inflammation: impact on healthspan and lifespan. *Journal of molecular medicine*, 89, 667-676.

Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865), 799-806.

Sancak B, Cumhuri M. *Fonksiyonel Anatomi Baş Boyun ve İç Organlar*, 4. baskı. Baskı. Ankara, Türkiye, ODTÜ yayıncılık, 2008.

Sánchez-Salgado, J. C., Ortiz-Andrade, R. R., Aguirre-Crespo, F., Vergara-Galicia, J., León-Rivera, I., Montes, S., Villalobos-Molina, R., & Estrada-Soto, S. (2007). Hypoglycemic, vasorelaxant and hepatoprotective

effects of *Cochlospermum vitifolium* (Willd.) Sprengel: a potential agent for the treatment of metabolic syndrome. *Journal of ethnopharmacology*, 109(3), 400–405.

Sandeep, M. S., & Nandini, C. D. (2017). Influence of quercetin, naringenin and berberine on glucose transporters and insulin signalling molecules in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, 605-611.

Santos, K. F., Oliveira, T. T., Nagem, T. J., Pinto, A. S., & Oliveira, M. G. (1999). Hypolipidaemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. *Pharmacological research*, 40(6), 493–496.

Shan, H., Luo, R., Guo, X., Li, R., Ye, Z., Peng, T., Liu, F., & Yang, Z. (2022). Abnormal Endometrial Receptivity and Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome. *Frontiers in pharmacology*, 13, 904942.

Shang, Y., Zhou, H., He, R., & Lu, W. (2021). Dietary Modification for Reproductive Health in Women With Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in endocrinology*, 12, 735954.

Shang, K., Jia, X., Qiao, J., Kang, J., & Guan, Y. (2012). Endometrial abnormality in women with polycystic ovary syndrome. *Reproductive sciences*, 19(7), 674-683.

Shakeel, S., Rehman, M. U., Tabassum, N., Amin, U., & Mir, M. U. R. (2017). Effect of Naringenin (A naturally occurring flavanone) Against Pilocarpine-induced Status Epilepticus and Oxidative Stress in Mice. *Pharmacognosy magazine*, 13(Suppl 1), S154–S160.

Shamsi, M., Ganji, A., Mosayebi, G., Amirhoseiny, E. S., Shohani, S., & Ghazavi, A. (2023). Chamomile and *Urtica dioica* extracts improve immunological and histological alterations associated with polycystic ovarian syndrome in DHEA-induced mice. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 102.

Shao, R., Li, X., Feng, Y., Lin, J. F., & Billig, H. (2014). Direct effects of metformin in the endometrium: a hypothetical mechanism for the treatment of women with PCOS and endometrial carcinoma. *Journal of experimental & clinical cancer research*, 33, 1-11.

Shen, F., Yan, C., Liu, M., Feng, Y., & Chen, Y. (2015). Decreased expression of mucin-1 in endometriosis endometrium correlated with

progesterone receptor B involved in infertility. *Archives of gynecology and obstetrics*, 291, 439-445.

Shi, H., Kokoeva, M. V., Inouye, K., Tzamelis, I., Yin, H., & Flier, J. S. (2006). TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 116(11), 3015–3025.

Shin, S. M., Cho, I. J., & Kim, S. G. (2009). Resveratrol protects mitochondria against oxidative stress through AMP-activated protein kinase-mediated glycogen synthase kinase-3 β inhibition downstream of poly (ADP-ribose) polymerase-LKB1 pathway. *Molecular pharmacology*, 76(4), 884-895.

Singh, C. K., Chhabra, G., Ndiaye, M. A., Garcia-Peterson, L. M., Mack, N. J., & Ahmad, N. (2018). The Role of Sirtuins in Antioxidant and Redox Signaling. *Antioxidants & redox signaling*, 28(8), 643–661.

Snoke, D. B., Nishikawa, Y., Cole, R. M., Ni, A., Angelotti, A., Vodovotz, Y., & Belury, M. A. (2021). Dietary naringenin preserves insulin sensitivity and grip strength and attenuates inflammation but accelerates weight loss in a mouse model of cancer cachexia. *Molecular nutrition & food research*, 65(22), 2100268.

Snell RS. *Clinical anatomy: an illustrated review with questions and explanations*. Baskı. Lippincott Williams & Wilkins, 2004.

Song, Y., Wang, Q., Huang, W., Xiao, L., Shen, L., & Xu, W. (2012). NF κ B expression increases and CFTR and MUC1 expression decreases in the endometrium of infertile patients with hydrosalpinx: a comparative study. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, 10, 86.

Song, Y., Wang, T., Yang, L., Wu, J., Chen, L., Fan, X., Zhang, Z., Yang, Q., Yu, Z., & Song, B. (2023). EGCG inhibits hypertrophic scar formation in a rabbit ear model. *Journal of cosmetic dermatology*, 22(4), 1382–1391.

Speroff L, Fritz MA, Erk A, Günalp S, Bozdağ G. Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2007.

Starc, A., Trampuš, M., Pavan Jukić, D., Rotim, C., Jukić, T., & Polona Mivšek, A. (2019). INFERTILITY AND SEXUAL DYSFUNCTIONS: A SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW. *Acta clinica Croatica*, 58(3), 508–515.

Steiner, N., Ates, S., Shaulov, T., Shrem, G., Volodarsky-Perel, A., Dahan, S. Y., Tannus, S., Son, W. Y., & Dahan, M. H. (2020). A comparison of IVF outcomes transferring a single ideal blastocyst in women with

polycystic ovary syndrome and normal ovulatory controls. *Archives of gynecology and obstetrics*, 302(6), 1479–1486.

Steures, P., van der Steeg, J. W., Hompes, P. G., Habbema, J. D., Eijkemans, M. J., Broekmans, F. J., Verhoeve, H. R., Bossuyt, P. M., van der Veen, F., Mol, B. W., & Collaborative Effort on the Clinical Evaluation in Reproductive Medicine (2006). Intrauterine insemination with controlled ovarian hyperstimulation versus expectant management for couples with unexplained subfertility and an intermediate prognosis: a randomised clinical trial. *Lancet (London, England)*, 368(9531), 216–221.

Stevens A, Lowe JS. Human histology. Baskı. Mosby, 2005.

Sun, C., Rong, X., Cai, Y., Qiu, S., & Farzaneh, M. (2020). Mini review: The FDA-approved prescription drugs that induce ovulation in women with ovulatory problems. *Drug development research*, 81(7), 815–822.

Szamatowicz, M., & Szamatowicz, J. (2020). Proven and unproven methods for diagnosis and treatment of infertility. *Advances in medical sciences*, 65(1), 93–96.

Şeftalioğlu A. (2003). Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 4. baskı. Baskı. Ankara Tıp & Teknik Yayıncılık Ltd Şti.

Şimşek, S. (2016) Normal ve deneysel polikistik over sendromu oluşturulan sıçan ovaryumlarında AQP-7, AQP-8 ve AQP-9UN immüno lokalizasyonu (*Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*).

Tao, X., Zhang, X., Ge, S. Q., Zhang, E. H., & Zhang, B. (2015). Expression of SIRT1 in the ovaries of rats with polycystic ovary syndrome before and after therapeutic intervention with exenatide. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(7), 8276.

Tao, X., Cai, L., Chen, L., Ge, S., & Deng, X. (2019). Effects of metformin and Exenatide on insulin resistance and AMPK α -SIRT1 molecular pathway in PCOS rats. *Journal of ovarian research*, 12, 1-8.

Tarkun, I., Arslan, B. C., Cantürk, Z., Türemen, E., Sahin, T., & Duman, C. (2004). Endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome: relationship with insulin resistance and low-grade chronic inflammation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(11), 5592–5596.

Tatone, C., Di Emidio, G., Barbonetti, A., Carta, G., Luciano, A. M., Falone, S., & Amicarelli, F. (2018). Sirtuins in gamete biology and

reproductive physiology: emerging roles and therapeutic potential in female and male infertility. *Human Reproduction Update*, 24(3), 267-289.

Taylor, H. S., Vanden Heuvel, G. B., & Igarashi, P. (1997). A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes. *Biology of reproduction*, 57(6), 1338-1345.

Taylor, H. S. (2000). The role of HOX genes in the development and function of the female reproductive tract. In *Seminars in reproductive medicine* (Vol. 18, No. 01, pp. 081-090). Copyright© 2000 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel:+ 1 (212) 584-4662.

Teede, H., Deeks, A., & Moran, L. (2010). Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC medicine*, 8, 41.

Tiwari P., Mishra N.D. (2017) Role of flavonoids in DNA damage and carcinogenesis prevention. *J. Carcinog. Mutagen.*8, 1–6.

Varghese, F., Kabasakal, B. V., Cotton, C. A. R., Schumacher, J., Rutherford, A. W., Fantuzzi, A., & Murray, J. W. (2019). A low-potential terminal oxidase associated with the iron-only nitrogenase from the nitrogen-fixing bacterium *Azotobacter vinelandii*. *The Journal of biological chemistry*, 294(24), 9367–9376.

Vasquez, Y. M., Wang, X., Wetendorf, M., Franco, H. L., Mo, Q., Wang, T., ... & DeMayo, F. J. (2018). FOXO1 regulates uterine epithelial integrity and progesterone receptor expression critical for embryo implantation. *PLoS genetics*, 14(11), e1007787.

Villavicencio, A., Bacallao, K., Gabler, F., Fuentes, A., Albornoz, J., Casals, A., & Vega, M. (2007). Deregulation of tissue homeostasis in endometria from patients with polycystic ovarian syndrome with and without endometrial hyperplasia. *Gynecologic oncology*, 104(2), 290-295.

Walters, K. A., Allan, C. M., & Handelsman, D. J. (2012). Rodent models for human polycystic ovary syndrome. *Biology of reproduction*, 86(5), 149-1.

Wang, H., & Dey, S. K. (2006). Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Nature reviews. Genetics*, 7(3), 185–199.

Wang, Z., Zhai, D., Zhang, D., Bai, L., Yao, R., Yu, J., ... & Yu, C. (2017). Quercetin decreases insulin resistance in a polycystic ovary syndrome

rat model by improving inflammatory microenvironment. *Reproductive Sciences*, 24(5), 682-690.

Wu, F., Chen, X., Liu, Y., Liang, B., Xu, H., Li, T. C., & Wang, C. C. (2018). Decreased MUC1 in endometrium is an independent receptivity marker in recurrent implantation failure during implantation window. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16, 1-7.

Wu, H., Zhao, B., Yao, Q., & Kang, J. (2023). Dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovary syndrome mouse model requires continuous treatments to maintain reproductive phenotypes. *Journal of Ovarian Research*, 16(1), 207.

Wu, Y. X., Yang, X. Y., Hu, Y. Y., An, T., Lv, B. H., Lian, J., ... & Jiang, G. (2020). Naringenin, a flavonoid, modulates gut microbiome and ameliorates hormone levels to improve polycystic ovary syndrome in letrozole-induced rats.

Wu, Y. X., Yang, X. Y., Han, B. S., Hu, Y. Y., An, T., Lv, B. H., ... & Jiang, G. J. (2022). Naringenin regulates gut microbiota and SIRT1/PGC-1 α signaling pathway in rats with letrozole-induced polycystic ovary syndrome. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113286.

Xie, Q., Xiong, X., Xiao, N., He, K., Chen, M., Peng, J., Su, X., Mei, H., Dai, Y., Wei, D., Lin, G., & Cheng, L. (2019). Mesenchymal Stem Cells Alleviate DHEA-Induced Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) by Inhibiting Inflammation in Mice. *Stem cells international*, 2019, 9782373.

Xiao, H., Ma, X., Feng, W., Fu, Y., Lu, Z., Xu, M., ... & Zhang, Y. (2010). Metformin attenuates cardiac fibrosis by inhibiting the TGF β 1-Smad3 signalling pathway. *Cardiovascular research*, 87(3), 504-513.

Xiao, N., He, K., Gong, F., Xie, Q., Peng, J., Su, X., ... & Cheng, L. (2019). Altered subsets and activities of B lymphocytes in polycystic ovary syndrome. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 143(5), 1943-1945.

Xu, Y., & Qiao, J. (2022). Association of Insulin Resistance and Elevated Androgen Levels with Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS): A Review of Literature. *Journal of healthcare engineering*, 2022, 9240569.

Xuan, X., Ye, C., Zhao, J., Shen, F., Chen, Y., & Liu, J. (2023). Dysregulated Tfr/Tfh2 cells in patients with polycystic ovarian syndrome. *Journal of Reproductive Immunology*, 159, 104137.

Yıldırım M. *İnsan anatomisi*. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2003.

Yoshida, H., Watanabe, W., Oomagari, H., Tsuruta, E., Shida, M., & Kurokawa, M. (2013). Citrus flavonoid naringenin inhibits TLR2 expression in adipocytes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(7), 1276–1284.

Yoshida, H., Watanabe, H., Ishida, A., Watanabe, W., Narumi, K., Atsumi, T., Sugita, C., & Kurokawa, M. (2014). Naringenin suppresses macrophage infiltration into adipose tissue in an early phase of high-fat diet-induced obesity. *Biochemical and biophysical research communications*, 454(1), 95–101.

Zaidun, N. H., Thent, Z. C., & Latiff, A. A. (2018). Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life sciences*, 208, 111–122.

Zanatta, A., Rocha, A. M., Carvalho, F. M., Pereira, R. M., Taylor, H. S., Motta, E. L., ... & Serafini, P. C. (2010). The role of the Hoxa10/HOXA10 gene in the etiology of endometriosis and its related infertility: a review. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 27, 701-710.

Zhang, F., Dong, W., Zeng, W., Zhang, L., Zhang, C., Qiu, Y., ... & Liang, W. (2016). Naringenin prevents TGF- β 1 secretion from breast cancer and suppresses pulmonary metastasis by inhibiting PKC activation. *Breast Cancer Research*, 18, 1-16.

Zhang, S., Lin, H., Kong, S., Wang, S., Wang, H., Wang, H., & Armant, D. R. (2013). Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Molecular aspects of medicine*, 34(5), 939–980.

Zhang, Y., & Xu, L. (2022). Comparative study of DHEA and letrozole induced polycystic ovary syndrome in post-pubertal rats. *Gynecological Endocrinology*, 38(5), 425-431.

Zhang, X., Zhang, C., Shen, S., Xia, Y. J., Yi, L., Gao, Q., & Wang, Y. (2013). Dehydroepiandrosterone induces ovarian and uterine hyperfibrosis in female rats. *Human reproduction*, 28(11), 3074-3085.

Zhao, J., Chen, Q., & Xue, X. (2022). An Update on the Progress of Endometrial Receptivity in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 29(8), 2136–2144.

Zhao, D. M., Shan, Y. H., Li, F. H., Jiang, L., & Qu, Q. L. (2019). Correlation between endometrial receptivity with expressions of IL-1 and VEGF in rats with polycystic ovary syndrome. *European review for medical and pharmacological sciences*, 23(13), 5575–5580.

Zhao, Z., Jin, G., Ge, Y., & Guo, Z. (2019). Naringenin inhibits migration of breast cancer cells via inflammatory and apoptosis cell signaling pathways. *Inflammopharmacology*, 27(5), 1021–1036.

Zhu, Y., Luo, M., Huang, H., Du, X., Chen, D., Xing, Q., ... & Cao, Y. (2016). HOXA10, EMX2 and TENM1 expression in the mid-secretory endometrium of infertile women with a Müllerian duct anomaly. *Reproductive Biomedicine Online*, 32(4), 388-393.

Zobeiri, M., Belwal, T., Parvizi, F., Naseri, R., Farzaei, M. H., Nabavi, S. F., ... & Nabavi, S. M. (2018). Naringenin and its nano-formulations for fatty liver: cellular modes of action and clinical perspective. *Current pharmaceutical biotechnology*, 19(3), 196-205.



8. EKLER



ÖZGEÇMİŞ

