



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU OLGULARDA
GPER, KOPEPTİN DÜZEYLERİ İLE GPER GEN
POLİMORFİZMİNİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Semiha TÜRKÖZ ÇAM

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Figen GÜZELGÜL

TOKAT-2025

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Dr. Öğr. Üyesi Figen GÜZELGÜL danışmanlığında hazırlamıŐ olduğum “Polikistik Over Sendromlu Olgularda GPER, Kopeptin Düzeyleri ile GPER Gen Polimorfizminin İlişkisinin Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

29.08.2025

Semiha TÜRKÖZ ÇAM

JÜRİ ÜYELERİNİN İMZA SAYFASI

Semiha Türköz Çam tarafından hazırlanan “**Polikistik Over Sendromlu Olgularda GPER, Kopeptin Düzeyleri ile GPER Gen Polimorfizminin İlişkisinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 29.08.2025 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Üye (Başkan): Prof. Dr. Ali Erdinç YALIN

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Figen GÜZELGÜL

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT

.....

ONAY

...../...../.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince yoluma rehberlik eden, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, tez çalışmamın her adımında sabırla yön göstererek sonuca ulaşmama vesile olan değerli hocam Sayın Dr. Öğretim Üyesi Figen GÜZELGÜL'e,

Tez dönemimde hasta ve kontrol grubu için yol göstericiliği ve katkılarından dolayı Op. Dr. Tuğba ORAL'a, deney ve yazım aşaması süresince bilgi ve desteklerini esirgemeyen, Uzm. Kimyager Marwa Abdelmageed, Dr. Öğretim Üyesi Nihan BOZKURT, Dr. Kübra ŞAHİN ve Arş. Gör. Sadegül TUNCER'e,

Çalışmamız, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2024/35 numaralı proje ile desteklenmiştir. Kendilerine sağladıkları katkılardan dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Ve hayatımın her anında bana gösterdikleri sevgi, anlayış ve hoşgörü için güzel aileme minnet borçluyum.

ÖZET

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU OLGULARDA GPER, KOPEPTİN DÜZEYLERİ İLE GPER GEN POLİMORFİZMİNİN İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

Türköz Çam, Semiha

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Figen Güzelgül

Ağustos 2025, xiii + 80

Polikistik Over Sendromu (PKOS), kadınlarda yaygın görülen multifaktöriyel bir endokrinopatidir ve hormonal düzensizlikler, genetik predispozisyonlar ile metabolik anomalilerin etkileşimi sonucunda ortaya çıkar. Bu çalışmada, PKOS'lu kadınlarda G proteine bağlı (protein bağlı östrojen reseptörü (GPER) rs3808350 gen polimorfizmi ile serum GPER ve kopeptin düzeylerinin ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmaya 40 PKOS hastası ve 40 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Serum örneklerinde GPER ve kopeptin düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüş, genetik analizler ise TETRA ARMS PCR yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, PKOS grubunda serum GPER düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0.001$). Kopeptin düzeyleri ise iki grup arasında anlamlı fark göstermemiştir ($p=0.557$). Genotip analizlerinde, GG genotipi ve G allelinin PKOS hastalarında daha sık gözlemlendiği, AA genotipi ve A allelinin ise kontrol grubunda daha yaygın olduğu bulunmuştur. Genotipler arası karşılaştırmalarda, vücut kitle indeksi (VKİ), ferritin, kreatinin ve serum GPER düzeylerinde anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Bu bulgular, GPER rs3808350 polimorfizminin PKOS'un genetik yatkınlığında ve hastalığın klinik ve metabolik profili üzerinde belirleyici rol oynadığını düşündürmektedir. Kopeptin düzeylerinin anlamlı farklılık göstermemesi, bu biyobelirtecin PKOS tanısında sınırlı bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Çalışma, GPER'in PKOS patogenezindeki önemini vurgulamakta ve bu reseptörün hem tanısal hem de tedavi amaçlı potansiyel bir hedef olabileceğini göstermektedir. İlerleyen dönemde, farklı etnik grupları kapsayan geniş çaplı çalışmalarla GPER gen polimorfizmlerinin etkilerinin detaylı olarak incelenmesi ve moleküler mekanizmalarının açığa çıkarılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Polikistik Over Sendrom, GPER, Kopeptin

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN GPER, COPEPTIN LEVELS AND GPER GENE POLYMORPHISM IN CASES WITH POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME

Türköz Çam, Semiha

Master's Thesis, Department of Medical Biochemistry

Advisor: Asistant of Prof. Figen Güzelgül

August 2025, xiii + 80

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is a prevalent multifactorial endocrinopathy in women, resulting from the interplay of hormonal imbalances, genetic predispositions, and metabolic abnormalities. This study aimed to investigate the association between the G protein-coupled estrogen receptor (GPER) gene polymorphism (rs3808350) and serum levels of GPER and copeptin in women with PCOS. The study included 40 PCOS patients and 40 healthy controls. Serum GPER and copeptin levels were measured using ELISA, while genotyping was performed by TETRA ARMS PCR. Results demonstrated significantly elevated serum GPER levels in the PCOS group compared to controls ($p < 0.001$), whereas copeptin levels showed no significant difference ($p = 0.557$). Genetic analysis revealed a higher frequency of the GG genotype and G allele in PCOS patients, while the AA genotype and A allele were more prevalent in controls. Comparisons among genotype groups revealed significant differences in body mass index (BMI), ferritin, creatinine, and serum GPER levels. These findings suggest that the GPER rs3808350 polymorphism plays a crucial role in genetic susceptibility to PCOS as well as influencing its clinical and metabolic profile. The lack of significant difference in copeptin levels indicates its limited utility as a biomarker for PCOS diagnosis. In this first-time study, the results highlight the importance of GPER in PCOS pathogenesis and suggest its potential as a diagnostic and therapeutic target. Future large-scale studies involving diverse ethnic populations are needed to further elucidate the effects of GPER gene polymorphisms and clarify their molecular mechanisms.

Keywords: Polycystic Ovary Syndrome, GPER, Copeptin

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME	i
JÜRİ ÜYELERİNİN İMZALARI	ii
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR VE SİMGELER	xii
1 GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Polikistik Over Sendromu (PKOS)	2
2.1.1 PKOS Tarihçesi.....	2
2.1.2 PKOS Tanımı.....	2
2.1.3. PKOS Tanı Kriterleri.....	2
2.1.4. PKOS Etiyolojisi ve Patofizyolojisi.....	5
2.1.5. PKOS'un Klinik Özellikleri.....	7
2.1.5.1. Hiperandrojenizm.....	7
2.1.5.2. İnsülin direnci (IR).....	9
2.1.5.3. Anti-Müllerian Hormonu (AMH).....	10
2.1.5.4. Genetik Yatkınlık.....	11
2.1.5.5 PKOS'un Psikolojik Özellikleri.....	12
2.1.6. PKOS ve Östrojen Reseptörlerinin İlişkisi.....	12
2.2 G- Proteine Bağlı Östrojen Reseptörü (GPER)	14
2.2.1. GPER'in Etki Mekanizması.....	14
2.2.2. GPER Lokalizasyonu.....	16
2.2.3. GPER Ligandları ve Sinyalleri.....	17

2.2.4. GPER'in Hastalıklarla İlişkisi.....	17
2.2.4.1 Kanser.....	18
2.2.4.2 Kardiyovasküler Hastalıklar.....	18
2.2.4.3. Metabolik Hastalıklar.....	18
2.2.4.4 Nörolojik Hastalıklar.....	19
2.2.4.5. Otoimmün Hastalıklar.....	19
2.2.5 GPER ve PKOS.....	20
2.2.5.1 Östrojen Sinyal Yolu Bozukluğu.....	21
2.2.5.2 Folikül Gelişimi ve Granüloza Hücreleri.....	21
2.2.5.3 İnsülin Direnci ve Metabolik Etkiler.....	21
2.2.5.4 Over Mikrosimülasyon Çalışmaları.....	21
2.3. Kopeptin.....	22
2.3.2. Kopeptin ve PKOS.....	25
3. MATERYAL VE METOD.....	26
3.1. Materyaller.....	26
3.1.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.....	26
3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	26
3.2. Metod.....	27
3.2.1. Çalışma Tasarımı.....	27
3.3.2. İstatistiksel Analizler.....	28
3.3. Biyokimyasal Analizler.....	28
3.3.1 Rutin Biyokimya Analizleri.....	28
3.3.2 Enzim Bağlantılı İmmüno­sorbent Analiz (ELISA) Prensibi.....	29
3.3.3. GPER Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi.....	30
3.3.4 Kopeptin Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi (CPP).....	33

3.4 Genotip Analiz.....	36
3.4.1. DNA İzolasyonu.....	36
3.4.2. DNA'nın Kalitatif Tayini.....	37
3.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniği	38
3.4.4. Tetra-Primer Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (TETRA ARMS-PCR)	39
3.4.4.1. PCR Aşaması.....	40
3.4.4.2 Agaroz Jel Elektroforezi ile PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi....	42
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ.....	69
7. KAYNAKÇA	70
8. EKLENİK ARAŞTIRMALARTİK KURUL ONAY BELGESİ.....	77
9. ÖZGEÇMİŞ.....	78

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1 PKOS Kriterleri.....	4
Tablo 2.2 GPER ve ER α / ER β Karşılaştırılması.....	15
Tablo 3.1. Outher ve İner Primerler	41
Tablo 4.1 Kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılması.....	44
Tablo.4.2 GPER (rs7799039) Polimorfizminin Genotip ve Alel Dağılımının PKOS ve Kontrol Grubu Karşılaştırılması.....	48
Tablo 4.3 Parametrelerinin AA, AG ve GG grupları arasında karşılaştırılması	50
Tablo 4.4 AA ve AG Genotip Grupları Arasında Klinik ve Biyokimya Parametrelerinin Karşılaştırılması.....	51
Tablo 4.5 AA ve GG Genotip Grupları Arasında Klinik ve Biyokimya Parametrelerinin Karşılaştırılması.....	52
Tablo 4.6 AG ve GG Genotip Grupları Arasında Klinik ve Biyokimya Parametrelerin Karşılaştırılması.....	53
Tablo 4.7 AA genotip grubunda yer alan PCOS hastaları ile sağlıklı bireyler arasında Kopeptin ve GPER düzeylerinin karşılaştırılması.....	58
Tablo 4.8 AG genotip grubunda yer alan PCOS hastaları ile sağlıklı bireyler arasında Kopeptin ve GPER düzeylerinin karşılaştırılması.....	69
Tablo 4.9 GG genotip grubunda yer alan PCOS hastaları ile sağlıklı bireyler arasında kopeptin ve GPER düzeylerinin karşılaştırılması.....	61

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. PKOS Morfolojisi.....	5
Şekil 2.2. Ferriman -Gallwey Skoru.....	8
Şekil 2.3. GPER-1 etki mekanizması.....	16
Şekil 2.4. GPER'in hastalıklarla ilişkisi.....	20
Şekil 2.5. Kopeptin Sentezi.....	23
Şekil 3.1. GPER Testine Ait Standart Solüsyonların Konsantrasyonları.....	30
Şekil 3.2. ELISA Yönteminin Basamakları.....	32
Şekil 3.3 GPER Standart Eğri Grafiği.....	32
Şekil 3.4. Standart Konsantrasyonları.....	33
Şekil 3.5. Kopeptin Standart Eğri Grafiği.....	35
Şekil 3.6. Genomik DNA.....	38
Şekil 4.1. GPER Düzeylerinin Gruplara Göre Dağılımı.....	45
Şekil 4.2 Kopeptin Düzeylerinin Gruplara Göre Dağılımı.....	45
Şekil 4.3 Kopeptin ve GPER Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	46
Şekil 4.4 GPER ve Kopeptin Biyobelirteçlerine Ait ROC Eğrileri ile Tanısal Performansın Karşılaştırılması.....	47
Şekil.4.5. TETRA ARMS PCR analizine ait %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.....	49
Şekil 4.6 Kopeptin Düzeylerinin Genotip Gruplarına Göre Karşılaştırılması	54
Şekil 4.7 GPER Düzeylerinin Genotip Gruplarına Göre Karşılaştırılması.....	55
Şekil 4.8 Genotiplere Göre Kopeptin ve GPER Düzeylerinin Ortalamaları.....	56
Şekil 4.9 GPER'in AA ve GG gruplarını ayırt etmedeki tanısal yeteneğini değerlendirmek amacıyla yapılan ROC analizi.....	57

Şekil 4.10 AA Genotipine Sahip PCOS Hastaları ve Kontrol Gruplarında Kopeptin ve GPER Ortalama Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	58
Şekil 4.11 AG Genotipine Sahip PCOS Hastaları ve Kontrol Gruplarında Kopeptin ve GPER Ortalama Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	59
Şekil 4.12 GG Genotipine Sahip PCOS Hastaları ve Kontrol Gruplarında Kopeptin ve GPER Ortalama Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	61



KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
ADH	Antidiüretik hormon
AE-PCOS	Androjen Fazlalığı ve Polikistik Over Sendromu Topluluğu
AGE	İleri glikasyon son ürünleri
ALT	Alanin aminotransferaz
AMH	Anti-Müllerian Hormon
ARMS	Amplifikasyon Refraktör Mutasyon Sistemi
AST	Aspartat aminotransferaz
AVP	Arginin-Vazopressin
cAMP	Döngüsel Adenozin Monofosfat
CRH	Kortikotropin-Releasing hormon
CRP	C-reaktif protein
DENND1A	DENN Domain Containing 1A
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
EDTA	Etilen diaminetetraasetik asit
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	Östrojen reseptörleri
EtBr	Etidyum Bromür
FFA	Serbest yağ asidi
FSH	Folikül stimüle edici hormon

GnRH	Gonadotropin serbestleştirici hormon
GPER	G protein ilişkili östrojen reseptörü
IR	İnsülin direnci
LH	Luteinizan Hormon
LHCGR	Luteinizan hormon/koriyonik gonadotropin reseptörü
MgCl₂	Magnezyum Klorür
mM	Milimolar
NIH	Ulusal Sağlık Enstitüsü
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PKOS	Polikistik Over Sendromu
ROC	Receiver Operating Characteristic
rpm	Dakikadaki Devir
SHBG	Seks hormonu bağlayıcı globulin
sn	Saniye
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
TGFβ	Dönüştürücü büyüme faktörü-β
TEMB	Tetrametilbenzidin
TSH	Tiroid stimüle edici hormon
TVUSG	Transvajinal ultrasonografi
USG	Ultrasonografi
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
YAP1	Yes-Associated Protein 1
°C	Santigrat Derece
μL	Mikrol

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Polikistik Over Sendromu (PKOS), reproduktif çağıdaki kadınlar arasında en sık rastlanan endokrin bozukluklardan biri olarak kabul edilmektedir. Hiperandrojenizm ile oligo-anovulasyonun önde gelen nedenidir. Üreme sistemine ait bozukluklar ve infertilitenin de görülebildiği PKOS tablosu bireylerde psiko-sosyal sorunları da beraberinde getirmektedir. Hastalık ilk olarak 1935 yılında Stein Leventhal tarafından tanımlanmıştır, dolayısıyla bir süre Stein-Leventhal Sendromu olarak anılmıştır (Lim ve ark., 2019). Uzun vadede PKOS olgularının büyük bir çoğunluğunda kronik hastalıkların klinik tabloya eklenmesi ile daha ciddi bir hastalık tablosu oluşturan PKOS'un tanısal kriterleri uluslararası alanda kesinleşmiş olan tek bir standart etrafında birleşmemiştir. Bu belirsizlik, tanı ve tedavi süreçlerinde önemli zorluklara yol açmaktadır (Altinkaya ve ark., 2016). PKOS olgularında menstrüel bozukluklar, infertilite, obezite, tip 2 diabetes mellitus (DM), lipit bozuklukları, bozulmuş glikoz toleransı, hipertansiyon, kardiyovasküler risk faktörleri ve kanser gibi ciddi hastalık tabloları görülebilmektedir (Huang ve ark., 2010). PKOS nedeniyle hastaneye başvuran hastaların neredeyse dörtte üçünde infertilite yakınması da bulunmaktadır. Genel popülasyonda ise infertilite yakınması %16 civarında tespit edilmektedir (Diamanti-Kandarakis & Dunaif, 2012). PKOS'un patofizyolojisi karmaşık olmakla birlikte, östrojen metabolizması ve östrojen reseptörlerinin işlevindeki düzensizlikler, sendromun gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Östrojenler menopoz öncesi kadınlarda, kardiyovasküler, metabolik ve nörolojik hastalıklara karşı koruma sağlar. PKOS'lu kadınlarda sıklıkla kronik östrojen fazlalığı (özellikle estron/E1 formu) görülürken, normal ovulasyon döngüsündeki progesteron salınımı bozulur. Bu durum, negatif geri bildirim mekanizmalarının aksamasına neden olarak gonadotropin salınımında dengesizlik yaratır. Özellikle luteinize edici hormon (LH) seviyelerindeki artış, overlerde androjen üretimini tetikler ve bu da östrojenlerin atipik birikimiyle sonuçlanır (Diamanti-Kandarakis & Dunaif, 2012).

Yaptığımız bu çalışmada PKOS olgularında GPER (G- Proteinine Bağlı Östrojen Reseptörü) ve kopeptinin, hastalığın gelişiminde ve ilerleyişinde rolü olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Polikistik Over Sendromu (PKOS)

2.1.1 PKOS Tarihçesi

PKOS ilk kez 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından hirsutizm, amenore, kronik anovülasyon, obezite ve infertiliteye neden olduğu düşünülen büyümüş kistik ovaryumların kombinasyonu olarak tarif edilmiştir (Lim ve ark., 2019). PKOS'un biyokimyasal açıdan değerlendirilmesi 1950'lerde hormon ölçümlerinin yapılması ile mümkün olmuştur (Altinkaya ve ark., 2016). Radyoimmunoassay tekniğinin gelişmesiyle birlikte biyokimyasal androjenizm belirlenebilmiş, ultrasonografi tekniği ile polikistik overler gösterilebilmiştir. İlerleyen süreçte de insülin direnci ile ilişkili olduğu ortaya konmuş ve multi sistem metabolik-reproduktif bir sendrom olarak kabul edilmiştir (Diamanti-Kandarakis & Dunaif, 2012).

2.1.2 PKOS Tanımı

PKOS, üreme çağındaki kadınları etkileyen endokrin ve metabolik yönden heterojen bir bozukluktur. Klinik olarak hiperandrojenizm ve ovulasyon bozukluğu bulgularının eşlik ettiği klinik bir tablo ile karakterizedir (Lim ve ark. 2019). PKOS, menstrüel düzensizlik, infertilite, hirsutizm, akne ve obezite ile kendini gösterir. En az bir over hacminin 10 mL'den fazla olduğu ve en az bir overde çapları 2 ila 9 mm arasında değişen 12'den fazla folikülün geliştiği bir durumla karakterizedir (Altinkaya ve ark., 2016).

2.1.3. PKOS Tanı Kriterleri

PKOS, çoğu zaman erken dönemde tanı alamamaktadır. Prevalansı toplumdan topluma değişmekle birlikte, yapılan son çalışmalarda %5 ile %25 arasında olduğu bildirilmektedir. Farklı klinik bulgularla seyreden PKOS, bireylerin sosyal yaşamını olumsuz etkilemesinin yanı sıra, sağlık sistemleri üzerinde de önemli bir ekonomik yük oluşturmaktadır (Diamanti-Kandarakis & Dunaif, 2012). Günümüzde mevcut çalışmalar ışığında, doğurganlık çağındaki kadınlarda sık görülen PKOS'un hormonal ve metabolik anomalilere bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Temel iki özelliği hiperandrojenizm (HA) ve oligoanovulasyondur (OD).

1990 yılında Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından belirlenen kriterlere göre PKOS teşhisi için aşağıdaki parametrelerin hepsinin saptanması gerektiği bildirilmektedir (Huang ve ark., 2010).

- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm
- Ovulasyon düzensizliği ve/veya polikistik over morfolojisi
- PKOS'un neden olabileceği diğer herhangi bir durum.

2003 yılında geliştirilen Rotterdam kriterlerine göre ise üç kriterden ikisinin varlığı PKOS'un tanısı için yeterlidir. Bunlar;

- Oligo-anovülasyon
- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları
- Ultrasonografide polikistik over görünümü (Carmina ve ark., 2016)

Androjen Fazlalığı ve Polistik Over Sendromu Topluluğu (AE-PCOS Topluluğu), 2008 kriterlerine göre teşhis için aşağıdaki parametreler yeterli görülmüştür (Azziz ve ark., 2009).

- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm
- Ovulasyon düzensizliği ve/veya polikistik over morfolojisi

Günümüzde Rotterdam kriterleri PKOS için en yaygın olarak kullanılan ve kabul gören kriter olmaya devam etmekte olup bu durum PKOS'un değerlendirilmesi, tanı ve tedavi süreçlerinin daha güvenilir bir şekilde kontrol altına alınması amacıyla yayınlanan 2018 Uluslararası Kanıt Dayalı Kılavuz'da bir kez daha oybirliğiyle desteklenmiştir (Teede ve ark., 2018). İlgili kılavuzda "PKOS'lu olgularda düzensiz menstürasyon döngüleri veya hiperandrojenizm varlığı mevcutsa, tanı için ultrason gerekli değildir ancak yine de fenotipleme için önerilir. Ergenler ultrasona girmemelidir." maddeleri yer almaktadır (Diamanti-Kandarakis ve ark., 2008). 2009'da AE-PCOS birliği, PKOS'un primer olarak hiperandrojenik bozukluk olduğunu hiperandrojenizm ve ovaryen disfonksiyon (oligoanovülasyon ve/veya polikistik overler) tanımlamasının gözden geçirilmesi gerektiğini bildirmiştir. Sonuç olarak, tanı için Rotterdam kriterleri kapsamında ultrason bulgularına ek olarak hiperandrojenizmin de gerekli olduğuna dair bir rapor yayınlanmıştır. (Tablo 2.1) (Carmina ve ark., 2016).

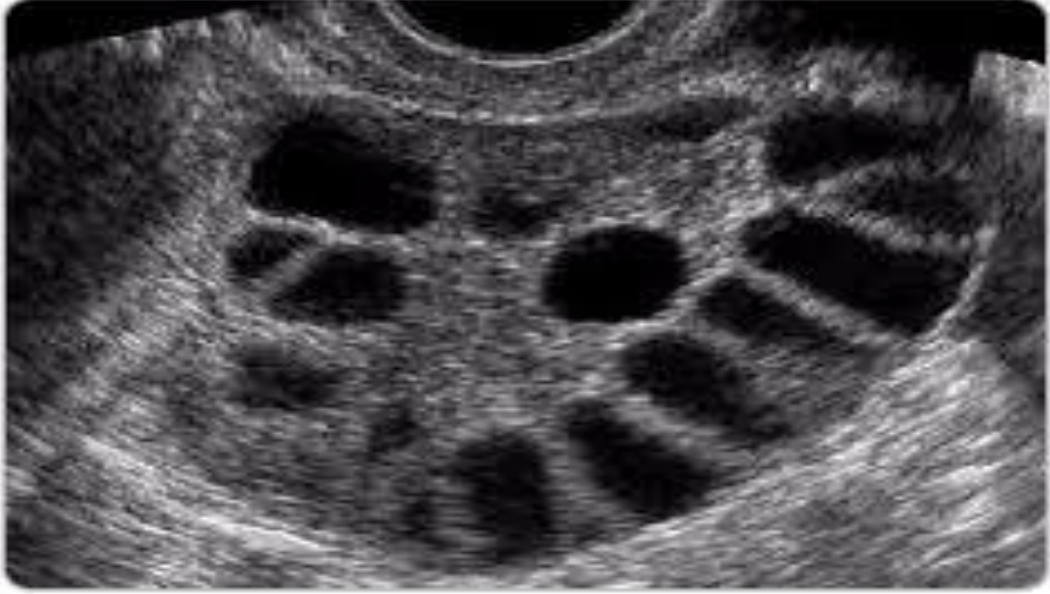
Tablo 2.1. PKOS Kriterleri

NIH KRİTERLERİ 1990	ROTTERDAM KRİTERLERİ 2003	AE PKOS KRİTERLERİ 2006
Klinik veya Biyokimyasal Hiperandrojenizm	Klinik veya Biyokimyasal Hiperandrojenizm	Klinik veya Biyokimyasal Hiperandrojenizm
Olügo/Amenore, Anovülasyon	Olügo/Amenore, Anovülasyon	Olügo/Amenore, Anovülasyon
	Ultrasonografide polikistik over görünümü	Ultrasonografide polikistik over görünümü

Ultrasonografide polikistik over ile eşleşen görüntüye sahip her kadında klinik ve biyokimyasal olarak sendromun belirtileri görülmez. Bazı olgularda tüm klasik semptomlar gözlenirken, kliniğe başvuranların çoğunda ise sadece bir veya birkaç bulgu görülmektedir. Ultrasonografide, overlerde periferik yerleşimli, küçük kistik yapılardan oluşan dizilimler mevcuttur.

Gerçek birer kist olmayan bu kistik yapılar immatür veya atrofik foliküllerdir. Bu foliküllerin çevrelediği stroma ise kalın ve hiperekojen görünümündedir. Bu ultrasonografik görünüm Rotterdam 2003 kriterlerinden birini oluşturmaktadır ve overlerden herhangi birinin bu kriterleri sağlaması polikistik over görünümü olarak tanımlanması için yeterlidir (Diamanti-Kandarakis ve ark., 2008).

PKOS için adölesanlarda kullanılan ultrasonografi (USG) bulguları henüz kesin olarak doğrulanmamıştır. Bu nedenle, bu yaş grubunda transvajinal ultrasonografi (TVUSG) uygulaması hem pratik hem de etik açıdan bazı sorunları beraberinde getirebilir. Abdominal USG ise tanı koymada sınırlı bir rol oynamaktadır. Uygun yaş aralığında kullanılan USG yöntemi ile elde edilen verilerde, polikistik morfolojiye sahip bir overin görünümü oldukça tipiktir (Şekil 2.1) (Gimenez-Peralta ve ark., 2022).



Şekil 2.1. Polikistik Morfolojiye Sahip Bir Overin Tipik Görünümü
(Gimenez-Peralta ve ark., 2022).

PKOS'un görülme oranı gün geçtikçe artmaktadır ve hastalığın klinik tablosu çok değişkendir (Huang ve ark., 2010). Son beş yılın araştırmalarına göre PKOS'un ülke bazında görülme sıklığı verilerini gösteren listede Hindistan listenin başında yer almaktadır. Bunu sırasıyla İran, Türkiye, Danimarka ve Brezilya takip etmektedir. Türkiye'de her beş kadından birini etkilemekte olduğu düşünülen PKOS'un, uzun dönemde psikososyal sorunlar, tip-2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve endometrium kanseri açısından risk oluşturmakta olduğuna dair veriler bulunmaktadır (Altinkaya ve ark., 2016).

2.1.4. PKOS Etiyolojisi ve Patofizyolojisi

PKOS'un etiyolojisi hala tam olarak bilinmemektedir. Yapılan genetik çalışmalarda bazı ailelerde genel nüfusa göre PKOS görülme sıklığının nedenleri arasında genetik alt yapının olduğu gösterilmiştir. PKOS tanısı alan, menopoz öncesi kadınların %35'inin, kız kardeşlerinin ise %40'ının etkilendiğini öne süren çalışmalar mevcuttur (Kahsar-Miller ve ark., 2001). Kız kardeşlerden %24'ünün ise düzenli menstrüel siklus öykülerinin yanında hiperandrojenizme sahip olduğuna dair veriler elde edilmiştir (Legro ve ark., 1998). PKOS etiyolojisini ortaya çıkarmada rol oynayan genetik faktörler, belirli

genlerdeki tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) kapsar. PKOS'tan sorumlu yaklaşık 241 gen varyasyonu vardır (Ajmal ve ark., 2019). Bu gen varyasyonları, bir genin transkripsiyonel aktivitesinde bozukluklara neden olabilen polimorfik yapılar veya tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) olabilir. Bu genler steroidogeneizde, ovaryumlarda bulunan teka hücrelerinin işlevinde ve hipotalamik-hipofiz hormon salgılanmasında rol oynar. Hamilelik sırasında, fetal gelişimi etkileyen çevresel faktörler, maternal hipertansiyon, sigara içme, stres, obezite, diyabet, androjen fazlalığı, ilaçlar ve paketlenmiş gıdalardaki kimyasallar, intrauterin büyüme geriliğine neden olabilir. Bu çocuklarda doğumdan sonra insülin direnci, glikoz intoleransı, hipotalamus ve hipofiz salgısının işlev bozukluğu, hipertansiyon, hiperandrojenizm veya ergenlik döneminde PKOS gelişebilir (Kahsar-Miller ve ark., 2001).

Çocukluk döneminde ise PKOS'a neden olabilecek çevresel faktörler arasında yaşam tarzı, sağlıksız beslenme alışkanlıkları ve çevresel kimyasallar sayılabilir (Legro ve ark., 1998). Obeziteye yol açan fiziksel hareketsizlik ve artmış Vücut kitle indeksi (VKİ)'de PKOS'u tetiklemede önemli bir rol oynar. Çevresel kimyasallar ayrıca PKOS'a yol açan bazı epigenetik değişiklikleri tetikleyebilir. Karbonhidrat açısından zengin gıdalar ve ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE) içeriği PKOS fenotipine yol açan insülin direncine katkıda bulunur. Nöroendokrin, hormonal, metabolik ve genetik etkiler, çevresel etkilerle bir araya gelerek PKOS'un oluşumunda rol oynamaktadır (Ajmal ve ark., 2019).

PKOS patogenezi henüz kesin olarak çözülemese de aralarındaki yakın ilişkilerin gözlemlendiği üç temel hipoteze dayandırılmaktadır. Bunlar;

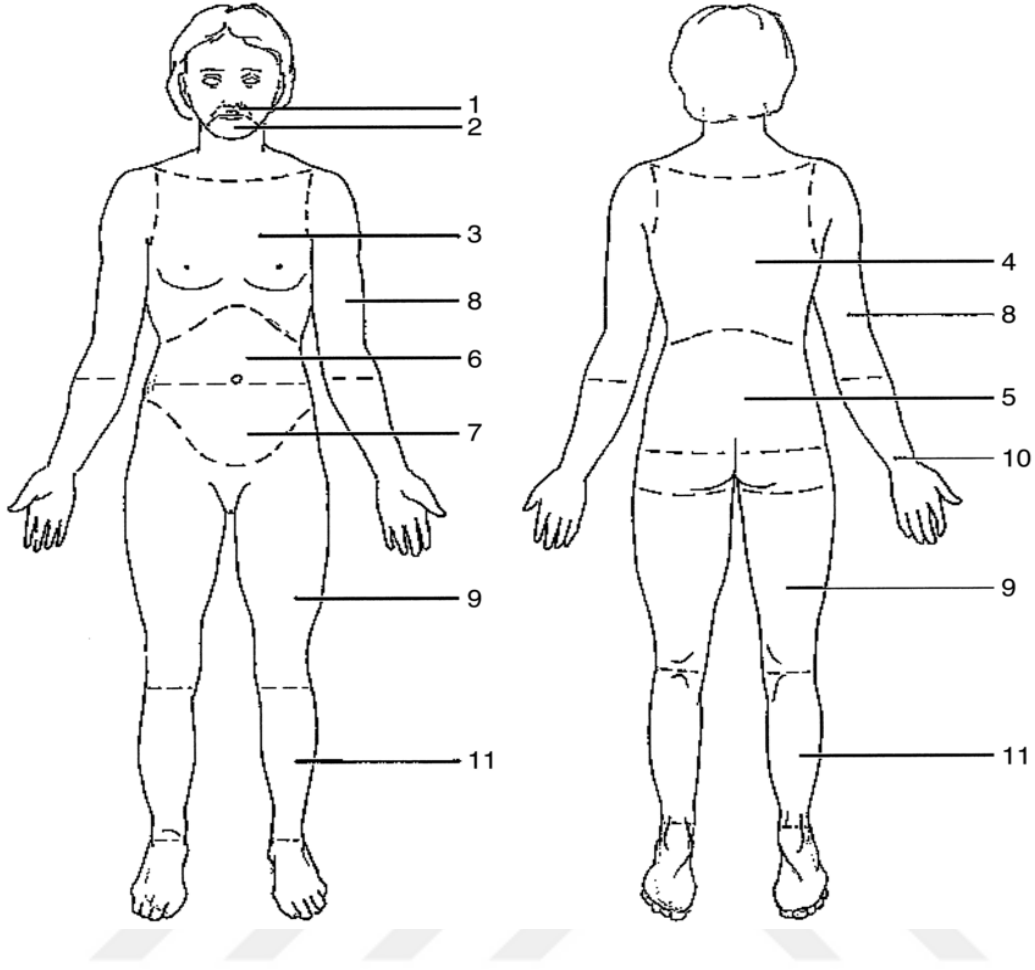
- 1-** Lüteinleştirici hormon (LH) hipotezi, hipofizer duyarsızlık ile hipotalamik Gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) sentezinde artma neticesinde meydana gelen LH artışı,
- 2-** Over hipotezi, overlerin farklı uyaranlara eksajere androjen salgısı ile karşılık vermesi,
- 3-** İnsülin hipotezi, insülin direncinin, follikül büyüme ve olgunlaşmasına olan negatif etkisidir (Widecka ve ark., 2019).

PKOS patofizyolojisi temel olarak hipotalamus-hipofiz-over eksenindeki anormallikler, ovaryumlarda meydana gelen işlev bozukluğu ve insülin salgılanmasındaki düzensizliklerle ilgilidir. Aynı zamanda oksidatif stres ve proinflamatuvar sitokinler de doğrudan oosit kalitesini ve endotel işlevini etkiler ve böylece infertiliteye neden olabilir. Kadınlarda overler ve adrenal bezler tarafından üretilen androjenlerin normalden fazla salınımı PKOS patofizyolojisinin gelişmesinin temel nedenlerinden biri olan hiperandrojenizme neden olur. PKOS'a neden olan tüm risk faktörleri birbirine bağlıdır ancak tam olarak anlaşılammıştır (Widecka ve ark., (2019).

2.1.5. PKOS'un Klinik Özellikleri

2.1.5.1. Hiperandrojenizm

Hiperandrojenizm, ergenlik döneminde ortaya çıkan aşırı androjen salgılanması ile karakterize bir durumdur. Hiperandrojenizmi gösteren klinik semptomlar esas olarak akne, hirsutizm, alopesi, obezite ve akantozis nigrikanstır (cilt kıvrımlarında ve kırışıklıklarında oluşan koyu ve kalın cilt lekeleriyle karakterize cilt pigmentasyonu). Kadınlarda, kan dolaşımında yer alan steroidler, dehidroepiandrosteron (DHEA), dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS), testosteron, dihidrotestosteron ve androstendion içeren androjenler olarak bilinir. Bunlardan androstendion ve testosteron, aromataz enziminin aktivitesiyle östrojene dönüştürülür (Doh, 2016). Bu nedenle, PKOS sırasında östrojen seviyeleri yüksek olup progesteron seviyeleri ise düşük seyreder. İkincil cinsiyet hormonlarındaki bu dengesizlik anovülasyona ve menstrüel siklus düzensizliğine neden olur. PKOS'ta aşırı salgılanan androjenler esas olarak testosteron, androstendion, DHEA ve DHEAS'ı içerir. Aşırı salgılanmaları foliküllerin erken gelişmesine, overlerde çok sayıda küçük antral folikül oluşumuna neden olur (Pasquali & Gambineri, 2018). Ferriman-Gallwey Skoru, kadınlarda hirsutizmin (erkek tipi kıllanma) değerlendirilmesi için kullanılan, klinik olarak kabul görmüş bir sistemdir. Bu sistemde androjene duyarlı 9 vücut bölgesi 0 ile 4 arasında puanlanarak toplam bir skor elde edilir. Bu skorlamaya göre yapılan değerlendirme sonucunda elde edilen skorun ≥ 4 ila 6 olması hirsutizm olabileceğine işaret etmektedir. Klinik olarak ≥ 8 puan, anlamlı hirsutizm olarak kabul edilir ve altta yatan neden araştırılmalıdır (Şekil 2.2) (Ferriman & Gallwey, 1961).



Şekil 2.2. Ferriman-Gallwey Skoru
(Ferriman & Gallwey, 1961).

Hiperandrojenizm esas olarak kanda serbest testosteron ile kendini gösterir. Genellikle serumda bulunan testosteronun %1-2'si serbest iken, kanda dolaşan testosteronun %98'i globulin proteinine bağlı olarak bulunur. Ergenlik döneminde artan testosteronun, menarştan birkaç yıl sonra bile önemli ölçüde yüksek kalması durumunda PKOS'a yol açabileceği düşünülmektedir (Chun, 2020), (DeVane ve ark., 1975). Aşırı androjen üretimi çok sayıda küçük antral folikül oluşumuna yol açar. Hipotalamustan GnRH'nin aşırı salgılanması da esas olarak hipofiz bezinden salgılanan gonadotropin hormonunu uyararak antral folikül sayısının artmasında ve primordial foliküllerin büyümesinde rol oynar (Pasquali & Gambineri, 2018). Öte yandan, androjen salgılanması overlerde bulunan teka hücrelerinde LH ve FSH tarafından uyarılır, granüloza hücrelerinin

androjenlerden östrojen üretmesini sağlayarak foliküler büyümeyi teşvik eder. PKOS'lu kadınların büyük çoğunluğunda GnRH seviyelerindeki artış nedeniyle LH ve FSH oranı yüksektir (Bulsara ve ark., 2021)

2.1.5.2. İnsülin direnci (IR)

İnsülin direnci, organizmada hücrelerin insülin hormonuna karşı duyarlılığının azalmasıyla karakterize edilen metabolik bir bozukluktur. Normal koşullarda insülin, kandaki glukozun hücre içerisine taşınmasını sağlayarak enerji üretimini kolaylaştırır. Ancak insülin direnci geliştiğinde, kas, yağ ve karaciğer hücreleri insülinin etkisine yeterince yanıt veremez ve glukozun hücre içine alımı azalır. Bunun sonucu olarak pankreas, kan glukoz düzeyini normal sınırlarda tutmak amacıyla daha fazla insülin salgılar. Bu hiperinsülinemi durumu, uzun vadede pankreas beta hücre fonksiyonlarında bozulmaya ve tip 2 diyabet gelişimine zemin hazırlayabilir (Pradhan ve ark., (2001).

İnsülin direnci genellikle abdominal obezite, dislipidemi, hipertansiyon ve glukoz intoleransı ile birlikte görülür ve klinik tablo metabolik sendrom olarak tanımlanır. Klinik olarak, insülin direnci olan bireylerde sık görülen belirtiler arasında kilo vermede güçlük, postprandiyal (yemek sonrası) yorgunluk, hipoglisemik semptomlar, abdominal yağlanma ve Akantozis nigrikans gibi cilt değişiklikleri yer almaktadır (Toosy, Sodi, & Pappachan, 2018). İnsülin direnci, kas, yağ ve karaciğer gibi hedef dokuların insülin hormonuna karşı duyarlılığının azalmasıyla karakterize edilen bir metabolik bozukluktur. Normal fizyolojik koşullarda insülin, pankreastan salgılanarak hücre yüzeyindeki insülin reseptörlerine bağlanır ve hücre içine glukoz girişini sağlayan bir dizi sinyal yolunu aktive eder. Bu sinyal iletimi sonucunda, başta kas ve yağ hücrelerinde olmak üzere hücre zarına glukoz taşıyıcı proteinler (özellikle GLUT-4) taşınır ve glukoz hücre içine alınarak enerji üretimi için kullanılır (Aversa ve ark., 2020). İnsülin direnci geliştiğinde, bu sinyal iletim mekanizmalarında bozulmalar meydana gelir. Özellikle insülin reseptörüne bağlı IRS (Insulin Receptor Substrate) proteinlerinin serin kalıntıları üzerinden fosforilasyonunun artması, sinyal iletiminin etkinliğini azaltır. Normalde tirozin kalıntıları üzerinden fosforilenen IRS proteinleri, bu yapısal değişiklik nedeniyle işlevini yitirir. Bu durum, insülinin hücre zarındaki etkilerini gösterememesine neden olur (Hannon, Janosky, & Arslanian, 2006).

İnsülin direncinin gelişiminde birden fazla faktör rol oynar. Bunlar arasında kronik inflamasyon, serbest yağ asidi (FFA) düzeylerinin artışı, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres öne çıkar. Özellikle obezite durumunda, yağ dokusundan salınan TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler, insülin sinyal yolunu negatif yönde etkileyerek direncin artmasına neden olur. Ayrıca fazla yağ dokusundan salınan serbest yağ asitleri, kas ve karaciğer hücrelerinde lipotoksisiteye neden olarak glukoz alımını azaltır. Mitokondriyal fonksiyonların bozulması ve artan reaktif oksijen türleri (ROS), hücre içi stres mekanizmalarını tetikler ve sinyal iletim proteinlerinin yapısal bütünlüğünü bozar (Caprio, 1999).

PKOS'lu kadınların yaklaşık %50 -70'inde insülin direnci saptanmaktadır. Hiperinsülinemi, over düzeyinde androjen üretimini artırarak hiperandrojenizme neden olur. Ayrıca insülin, karaciğerde seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) üretimini baskılar, bu da serbest dolaşan androjen düzeylerinin artmasına yol açar. Bu hormonal dengesizlik, ovulasyonun bozulmasına ve PKOS'un tipik semptomlarının ortaya çıkmasına neden olur (Fridlyand & Philipson, 2006)

İnsülin direncine bağlı olarak artan insülin düzeyleri, aynı zamanda follikül gelişimini olumsuz etkiler, LH düzeylerinde artışa neden olur ve anovulatuvar siklusları teşvik eder. Bu süreç, PKOS'ta gözlenen infertilitenin temel nedenlerinden biridir (Seow ve ark. 2007). Sonuç olarak, insülin direnci, hücre düzeyinde sinyal iletim bozukluklarıyla başlayan ve sistemik düzeyde birçok organ sistemini etkileyen karmaşık bir patofizyolojik süreçtir. Bu süreç, kronik inflamasyon, obezite ve genetik yatkınlık gibi faktörlerle tetiklenir ve ilerleyen dönemde ciddi metabolik bozukluklara yol açabilir (Corbould ve ark. 2005).

2.1.5.3. Anti-Müllerian Hormonu (AMH)

AMH, dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) süper ailesine ait bir glikoproteindir (Lv ve ark. (2020). AMH üretimi intrauterin dönemde, gebeliğin yaklaşık 36. haftasında başlamakta olup, ergenlik döneminde en yüksek seviyelerine ulaşır. Bu hormonun düzeyi, ilerleyen yaşla birlikte kademeli olarak azalmakta ve menopozdan hemen önce belirgin şekilde düşmektedir. AMH'ın en yoğun şekilde ifade edildiği folikül evresi, çapı 2–4 mm olan preantral ve küçük antral foliküller olarak tanımlanır ancak bazı çalışmalar, çapı 8

mm'ye kadar olan foliküllerin de AMH üretmeye devam edebildiğini göstermektedir (Silva & Giacobini, 2021), (Anderson & Su, 2020). AMH, primer foliküllerin rekritmanını (toplanmasını) inhibe eder ve böylece büyümekte olan foliküllerin erken olgunlaşmasını önleyerek over rezervinin korunmasında rol oynar (Moolhuijsen & Visser, 2020).

PKOS olgularında serum AMH düzeyleri, sağlıklı kadınlara kıyasla belirgin şekilde daha yüksektir ve bu durum, AMH'nın PKOS tanısında potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Dewailly ve ark., 2011). AMH düzeylerindeki bu artışın temel nedeni, preantral ve küçük antral folikül sayısındaki artıştır. Bu artış, söz konusu foliküllerin her birinden daha fazla AMH salgılanmasına yol açmakta ve serum düzeylerini yükseltmektedir (De Loos ve ark., 2021). Bununla birlikte, AMH düzeylerindeki artış yalnızca folikül sayısındaki artışla açıklanamaz, ovulasyon gerçekleşmeyen PKOS olgularında da folikül sayısı benzer olmasına rağmen, daha yüksek AMH seviyeleri bildirilmiştir (Pierre ve ark., 2017). Her ne kadar AMH, folikül sayısı ile yakından ilişkili olduğu için over rezervinin bir belirteci olarak kabul edilse de tek başına PKOS tanısında yeterli tanısallık değere sahip bir biyobelirteç değildir. AMH'nın tanısallığı üzerine yapılan çalışmalar, sonuçlarda belirgin heterojenlik göstermektedir ve bu durum AMH'nın klinik kullanımını açısından sınırlayıcı bir faktör oluşturmaktadır (Wang ve ark., 2021).

2.1.5.4. Genetik Yatkınlık

PKOS'lu kadınların birinci derece akrabalarında (özellikle anne ve kız kardeşlerinde) insülin direnci, hiperandrojenizm, adet düzensizlikleri ve infertilite gibi bulguların daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Bu da PKOS'un kalıtsal bir zemine sahip olduğunu göstermektedir (Bjonnes, Saxena, & Welt, 2016). Ayrıca ikiz çalışmalarında, tek yumurta ikizlerinde PKOS benzeri fenotiplerin çift yumurta ikizlerine göre daha yüksek oranda görülmesi, genetik yatkınlığı destekleyen bir başka bulgudur (Goodarzi ve ark. 2011).

Genetik çalışmalar, PKOS ile ilişkili birçok aday genin tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Bu genler; androjen biyosentezi, gonadotropin etkisi, insülin sinyal iletimi,

ovaryan folikül gelişimi ve enerji metabolizması gibi süreçlerde görev alan genleri içermektedir. Özellikle FSHR (folikül stimüle edici hormon reseptörü), LHCGR (luteinizan hormon/koriyonik gonadotropin reseptörü), INSR (insülin reseptörü), DENND1A (DENN Domain Containing 1A), THADA (Thyroid Adenoma Associated), HMGA2 (High Mobility Group AT-Hook 2) ve YAP1 (Yes-Associated Protein 1) gibi genler üzerinde yoğunlaşan çalışmalar mevcuttur (Vink ve ark., 2006).

Buna ek olarak, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), Çin, Avrupa ve Latin Amerika kökenli popülasyonlarda PKOS ile ilişkili ortak genetik varyantları tanımlamıştır. Ancak bu varyantların etkisi çoğunlukla küçük olup, genetik belirteçlerin tanı koymadaki klinik kullanımı henüz sınırlıdır. Ayrıca, etnik farklılıklar nedeniyle genetik risk profilleri popülasyonlar arasında değişiklik gösterebilmektedir (Legro ve ark., 1998). GWAS çalışmalarında ortaya çıkan varyantların fonksiyonel etkilerini ortaya koymak için epigenetik analizler, gen ekspresyon çalışmaları ve in vitro modellemeler gibi ileri düzey araştırmalar gerekmektedir. Ayrıca çevresel faktörlerin genetik yakınlıkla nasıl etkileşime girdiği hâlâ tam olarak anlaşılmaş değildir (Kahsar-Miller ve ark., 2001).

2.1.5.5 PKOS'un Psikolojik Özellikleri

PKOS bulgularında görülen fenotipik değişikliklerin yanı sıra tabloya eşlik eden üreme sorunları, infertilite ve yaşam kalitesini düşüren durumlar sağlığı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum bireylerde özgüven problemi, olumsuz beden imajına bağlı kaygı ve depresyona yakınlık görülmesine neden olmaktadır (Coffey & Mason, 2003).

2.1.6. PKOS ve Östrojen Reseptörlerinin İlişkisi

PKOS olgularında östrojen ve östrojen reseptörlerinin (ER'ler) işlevi dikkat çekicidir. İmplantasyon başarısızlığı, abortus habitualis, partus praematurus ve endometriyal karsinom gibi daha olumsuz üreme riskleri görülebilmektedir. ER, ER α ve ER β , tipik olarak dimerize olan ve ligand bağlanmasından sonra çekirdeğe taşınan klasik steroid reseptörlerdir. Çekirdeğe girdikten sonra, reseptörler östrojen yanıt elemanlarına bağlanır veya gen ifadesini değiştirmek için diğer transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerler.

FSH ve LH'nin düzenli salgılanmasının sonucunda normal ovulasyon meydana gelir ve üreme sağlığı için bu durum çok önemlidir. LH, over folikülünün teka hücrelerini uyararak androjen sentezine yol açar. Bunlardan bazıları SHBG'e bağlanır ve bazı androjenler yakındaki granüloza hücrelerine (GC'ler) yayılır, burada FSH uyarımı ile östrojene dönüştürülür. Bu östrojen hormonlarının seviyesinde bir artışa neden olur ve bu da LH üretimi şeklinde pozitif geri bildirim oluşturarak LH seviyesinde artışa neden olur ve ovulasyonu tetikler. Teka hücrelerinin ve granüloza hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması, büyüme faktörleri tarafından düzenlenir ve ovaryumda foliküler gelişim birçok hormon ve diğer büyüme faktörleri tarafından kontrollü bir şekilde düzenlenir ((Liu ve ark., 2019). Ovulasyondan sonra, steroid hormonları progesteron ve östrojen salgılayan ve daha sonra endometriumu implantasyona daha duyarlı hale getiren korpus luteum oluşur. Overler, östrojen sentezinin birincil yeridir ve esas olarak hedef organlar ve hücreler üzerinde çoklu östrojen reseptörleri (ER'ler), ER α , ER β ve GPER yoluyla etki gösteren 17 β -estradiol (E2) üretir (Kumar & Sait, 2011).

Östrojenlerinin overlerde lokal olarak foliküler olgunlaşmayı düzenlediği ve baskın folikül büyümesi sırasında GC proliferasyonunu uyardığı düşünülmektedir. PKOS gibi ovulasyon disfonksiyonu ile karakterize edilen durumlarda, değişmiş östrojen ifadesinin önemli bir rolü vardır. Yapılan deneylerde ER α geni bozulmuş farelerin, dolaşımdaki yüksek LH konsantrasyonları ve ovulasyon olmayan çoklu hemorajik ve kistik foliküllerle karakterize edilen, PKOS'a benzer bir fenotip geliştirdikleri gözlenmiştir (Schomberg ve ark., 1999).

Başka bir deney de dişi ER β downregüle farelerinin daha düşük ovulasyon sayıları, daha az gebelik ve FSH kaynaklı farklılaşmaya zayıf yanıt gösteren ovulasyon öncesi foliküllerle karakterize düşük doğurganlığa sahip olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, ER'lerin (ER α ve ER β) anormal ekspresyonu, PKOS olgularında zayıf oosit gelişimi ve ovulasyon başarısızlığı ile ilişkili olabilir. Östrojenler, hedef dokularda ER α ve ER β aracılığıyla genomik etkilere aracılık eder. Yakın dönemde, GPER'in östrojenin genomik olmayan sinyal iletimine aracılık ettiği gösterilmiştir. Ancak PKOS'ta östrojen reseptörlerinin (ER) rolü hâlen tam olarak aydınlatılamamıştır (Prossnitz & Barton, 2011).

2.2 G-Proteine Bağlı Östrojen Reseptörü (GPER)

G proteinine bağlı östrojen reseptörü (GPER), eski adıyla GPR30 olarak bilinen, yedi transmembranlı G proteinine bağlı reseptörler (GPCR) ailesine ait bir membran reseptörüdür. GPER, östrojen hormonunun klasik nükleer reseptörleri olan ER α ve ER β dışındaki hızlı, nongenomik sinyal iletim mekanizmalarını düzenleyen temel araçlardan biri olarak tanımlanmıştır. GPER'in keşfi, 1990'ların sonlarına dayanmaktadır. İlk olarak 1997 yılında östrojen reseptörüne benzer yapıda bir GPCR olarak tanımlanmış ve GPR30 ismi verilmiştir. Ancak, bu reseptörün östrojen bağlayıcı bir reseptör olduğu ve östrojen aracılı nongenomik sinyal yollarında görev aldığı, 2000'li yılların başında yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Prossnitz ve Barton (2003) tarafından GPR30'un östrojen reseptörü olarak işlev gördüğü gösterilmiş ve literatürde GPER adıyla anılmaya başlanmıştır (Medical B, 2022), (Prossnitz & Barton, 2023).

2.2.1. GPER'in Etki Mekanizması

Klasik östrojen reseptörlerinin aktivasyonu sonrasında, bu reseptörler çekirdeğe geçerler, ardından genomik veya nongenomik yanıtlar oluştururlar. GPER, G-protein bağlı reseptör (GPCR) ailesinin üyesidir ve hem plazma membranı hem de endoplazmik retikulum membranlarında lokalize olan 7 transmembranlı bir membran proteindir. Östrojen, GPER üzerinden hızlı hücresel yanıtlar ve gen ekspresyonunu etkileyen transkripsiyonel süreçler oluşturur. ER α ve ER β , ligand bağlandıktan sonra dimerize olup çekirdeğe taşınan klasik steroid reseptörleridir. Çekirdeğe girdikten sonra, reseptörler östrojen yanıt elemanlarına bağlanır veya gen ifadesini değiştirmek için diğer transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerler. GPER ile klasik östrojen reseptörleri karşılaştırıldığında pek çok farklılık görülmektedir (Tablo 2.2) (Prossnitz & Barton, 2011). GPER, östrojen ile etkileşimi sonrasında hızlı sinyal iletimine aracılık eder. Bu reseptör, hücre zarında ve endoplazmik retikulum membranında lokalizedir. GPER'in aktivasyonu, cAMP artışı, MAPK/ERK yolunun tetiklenmesi, PI3K/Akt aktivasyonu ve hücre içi kalsiyum seviyelerinin değişimi gibi ikinci haberci sistemler aracılığıyla gerçekleşir. Bu yollar, hücrede kısa sürede yanıt oluşturur ve genellikle gen transkripsiyonu yerine hızlı biyokimyasal değişimlerle sonuçlanır. Buna karşın ER α ve

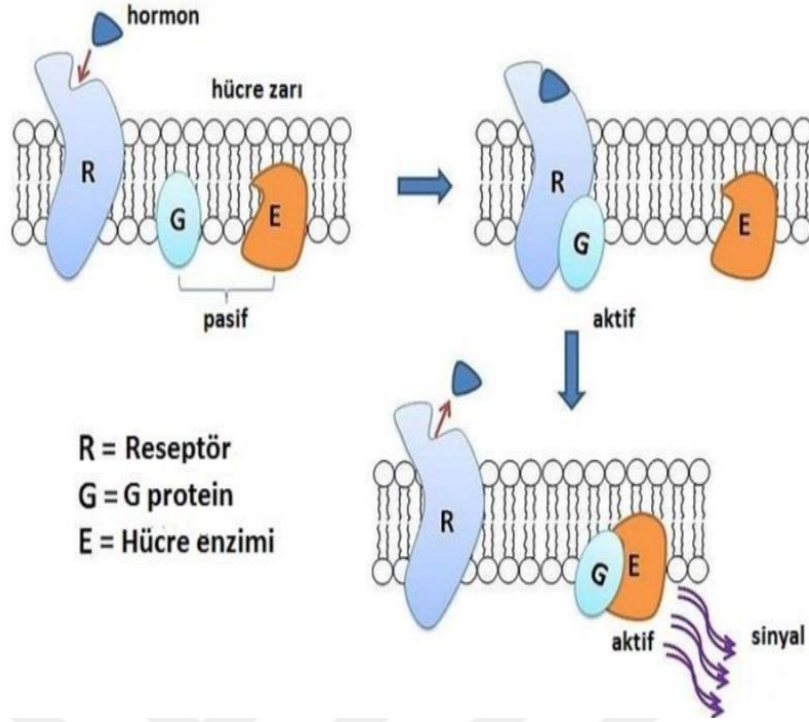
ER β , nükleer hormon reseptörleri sınıfında yer alır ve östrojen bağlandığında genomik mekanizmalar üzerinden etkileşimde bulunur. Bu reseptörler, sitoplazmada sentezlendikten sonra ligand bağlanmasıyla birlikte nükleusa taşınır ve burada DNA üzerindeki östrojen yanıt elementlerine bağlanarak gen ekspresyonunu düzenler. Bu mekanizma daha yavaş işler ve hücredeki protein sentezine doğrudan katkı sağlar (Prossnitz & Barton, 2011).

Tablo 2.2. GPER ve ER α / ER β Karşılaştırılması.

ÖZELLİK	GPER	ERα / ERβ
Reseptör tipi	Membran–G protein bağlı reseptör	Nükleer hormon reseptörü
Etki türü	Non-genomik (hızlı)	Genomik (yavaş)
Hücre içi lokalizasyon	Membran, endoplazmik retikulum	Sitoplazma → Nükleus
Sinyal yolları	cAMP, MAPK, PI3K, Ca ²⁺	DNA üzerinden gen transkripsiyonu

(Prossnitz & Barton, 2011).

GPER, östrojen ile etkileşimi sonrasında hızlı sinyal iletimine aracılık eder. Bu reseptör, hücre zarında ve endoplazmik retikulum membranında lokalizedir. GPER'in aktivasyonu, cAMP artışı, MAPK/ERK yolunun tetiklenmesi, PI3K/Akt aktivasyonu ve hücre içi kalsiyum seviyelerinin değişimi gibi ikinci haberci sistemler aracılığıyla gerçekleşir. Bu yollar, hücrede kısa sürede yanıt oluşturur ve genellikle gen transkripsiyonu yerine hızlı biyokimyasal değişimlerle sonuçlanır. Buna karşın ER α ve ER β , nükleer hormon reseptörleri sınıfında yer alır ve östrojen bağlandığında genomik mekanizmalar üzerinden etkileşimde bulunur. Bu reseptörler, sitoplazmada sentezlendikten sonra ligand bağlanmasıyla birlikte nükleusa taşınır ve burada DNA üzerindeki östrojen yanıt elementlerine bağlanarak gen ekspresyonunu düzenler. Bu mekanizma daha yavaş işler ve hücredeki protein sentezine doğrudan katkı sağlar (Prossnitz & Barton, 2011).



Şekil 2.3. GPER-1 Etki Mekanizması

(Xu, Yu, Dong, & Lee, 2019).

2.2.2. GPER Lokalizasyonu

GPER'in lokalizasyonunun 2007 yılında yapılan çalışmalarda tespit edildiği üzere insan arter ve ven düz kaslarında GPR-30 ekspresyonu ile ortaya konulmuştur. İlgili çalışmalarda GPER'in, plazma zarı ve endoplazmik retikulumda lokalize olduğu ve beyin, kalp, kemik, lenfoid doku, plasenta, akciğer, karaciğer, pankreas, kan damarları, endometriyum, over ve meme kanseri dokularında eksprese edildiği belirtilmiştir. İlk yapılan çalışmaların çoğu GPER'in endoplazmik retikulum gibi hücre içi membranlara yerleştiğini göstermiştir. GPER lokalizasyonu hakkında farklı fikirler öne sürülmüş ve daha sonraki birçok çalışma hücre içi lokalizasyonu ve nükleer lokalizasyonu olduğunu desteklemiştir (Xu, Yu, Dong, & Lee, 2019). Ayrıca sadece hücre geçirgen E2 türevlerinin veya hücre içi enjekte edilen ligandların hızlı GPER aktivasyonuna yol açabileceğini, GPER'in hücre içi lokalizasyonunu ve işlevselliğini desteklediğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.

Daha yakın tarihli çalışmalarda elde edilen bilgilere göre ise GPER'in, klasik steroid hormon reseptörlerinden farklı olarak hücre zarına bağlı ve G proteinleriyle ilişkili olduğu

ortaya konmuştur. Bu nedenle, östrojenin klasik genomik etkilerinden farklı olarak, GPER aracılığıyla gelişen etkiler hızlı, yani nongenomik özellik taşır. GPER, hücre zarında veya endoplazmik retikulum membranında lokalize olarak östrojenin bağlanmasıyla çeşitli ikinci haberci sistemlerini aktive eder (Heldring ve ark., 2007).

2.2.3. GPER Ligandları ve Sinyalleri

Başlıca steroid hormonlardan biri olarak tanımlanan ve overlerden salgılanan 17β -estradiol (E2), çeşitli üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Olde & Leeb-Lundberg, 2009). E2, biyolojik yönden gerçekleştirdiği fonksiyonlarını genomik ve non-genomik sinyal yollarıyla gerçekleştirir. Östron (E1) ve östriol (E3), özellikle de E3'ün serum seviyeleri gebelik boyunca artmasına rağmen, E1 veya E3'ün GPER'e bağlanma afinitesi E2'ninkinden çok daha düşüktür. GPER, hücre içi sinyal yollarını, klasik ikinci habercileri ve kalsiyum mobilizasyonunu uyarma gibi birçok hızlı yanıtı başlatır. İnsanlarda GPER birçok doku tipinde ifade edilir ve E2'ye yanıt veren dokularla sınırlı değildir (Rouhimoghadam ve ark., 2020).

GPER'in normal fizyolojideki yeri ve sinyalizasyonu hakkında çok az şey bilinmektedir. GPER'in hücre içi bağlanma bölgesi hakkındaki tartışmalar devam etmekte olup, hücre yüzeyini ve nükleer lokalizasyonu gösteren çeşitli raporlar bulunmaktadır. Reseptörün MCF7 hücrelerinin çekirdeğinde, ancak T47D meme kanseri hücrelerinin sitoplazmasında bulunduğu tespit edilmiştir. GPER tarafından aktive edilen sinyal yolları birden fazladır ve birbirine zıt özelliktedir. Yapılan çalışmalar GPER'in in vitro cAMP'yi artırdığını göstermektedir (Kalidhindi ve ark., 2020).

2.2.4. GPER'in Hastalıklarla İlişkisi

Östrojenler menopoz öncesi kadınlarda, kardiyovasküler, metabolik ve nörolojik hastalıklara karşı koruma sağlar. GPER sinyalizasyonunun ve işlevinin moleküler, hücresel ve farmakolojik düzeyde etki gösterdiği, çok sayıda hastalığın terapötik hedefi ve prognoz göstergesi olarak hizmet etme potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Bağışıklık, inflamasyon ve enfeksiyonlar, meme kanseri, gastrointestinal ve karaciğer hastalıkları, obezite ve DM, akciğer hastalıkları, böbrek fizyolojisi ve hastalıkları, kalp

yetmezliği, kan basıncı ve arteriyel hipertansiyon gibi pek çok hastalıkta etkili olduğuna dair çalışmalar vardır (şekil 2.4) (Kalidhindi ve ark., 2020).

2.2.4.1 Kanser

- GPER, strojen duyarlı meme kanserlerinde hücre proliferasyonunu artırabilir. Tamoksifen gibi bazı ilaçlar GPER'i aktive ederek beklenmeyen etkiler oluşturabilir.
- Endometrium, over ve prostat kanserlerinde GPER'in ekspresyonu arttığı ve hücre büyümesini desteklediği bildirimiştir.
- Kolorektal ve akciğer kanserlerinde GPER'in tümör baskılayıcı etkiler gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur (Prossnitz ve Barton, 2023).

2.2.4.2 Kardiyovasküler Hastalıklar

- GPER, arter ve ven elastikiyeti için önemlidir, kan basıncı düzenlenmesi ve anti-inflamatuar etkiler yoluyla koruyucu bir rol oynar. Vazodilatasyonun kontrolünde etkilidir.
- Ateroskleroz ve hipertansiyon gibi durumlarda GPER aktivasyonu oduğu kanıtlanmıştır (Prossnitz ve Barton, 2023).

2.2.4.3. Metabolik Hastalıklar

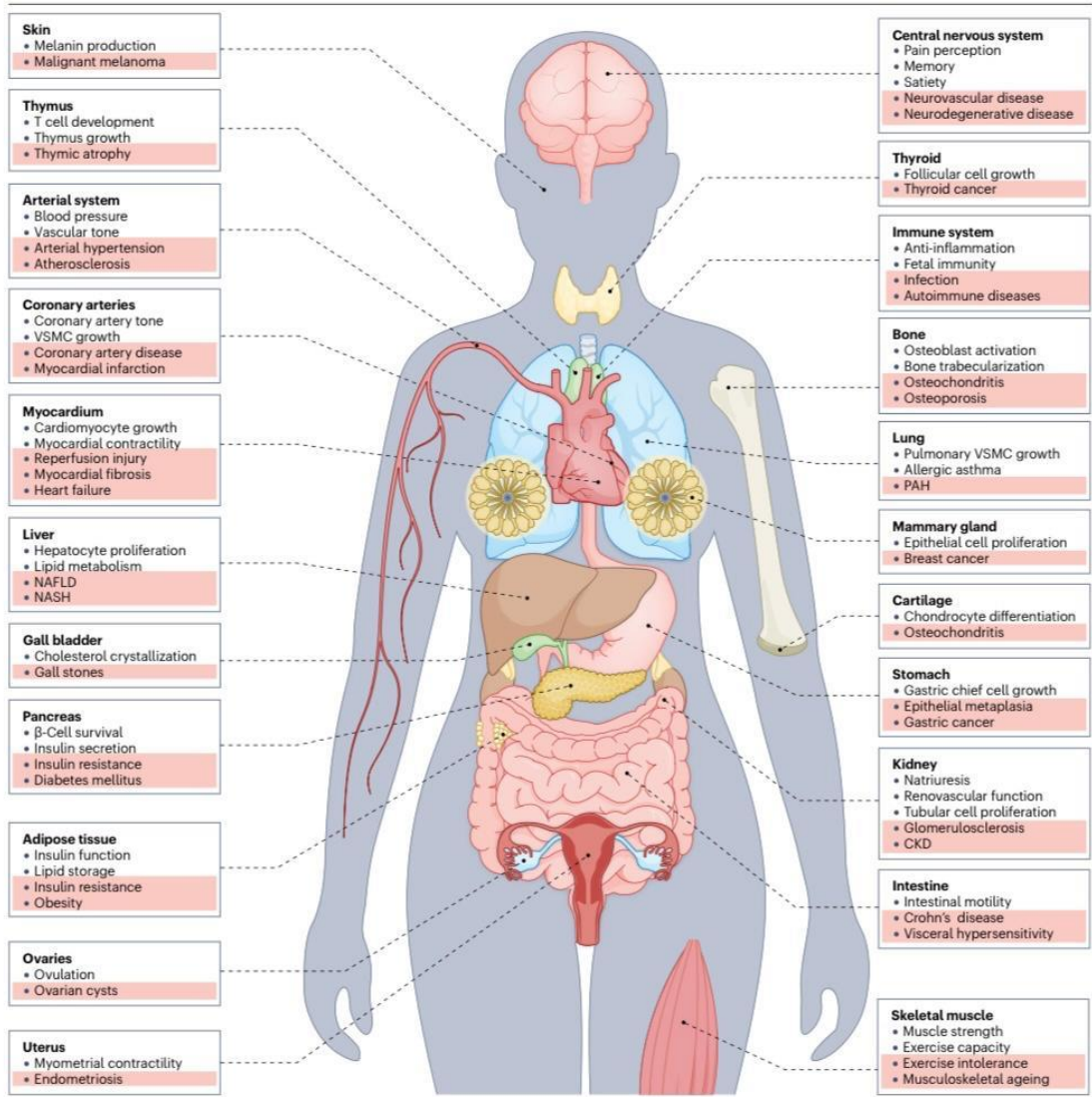
- GPER, glukoz homeostazı ve insülin duyarlılığı üzerinde etkilidir.
- Obezite ve tip 2 diyabet ile ilişkili bazı inflamatuvar süreçlerde GPER'in rol oynadığı gösterilmiştir (Prossnitz ve Barton, 2023).

2.2.4.4 Nörolojik Hastalıklar

- GPER, beyin fonksiyonlarında ve nöroproteksiyonda rol oynar.
- Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda GPER'in koruyucu etkileri olabileceği bildirilmiştir (Prossnitz ve Barton, 2023).

2.2.4.5 Otoimmün Hastalıklar

- GPER'in bağışıklık hücreleri üzerindeki düzenleyici etkileri, romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi durumlarla ilişkilidir (Prossnitz ve Barton, 2023).
- GPER, bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Kalidhindi ve ark., 2020).
- Astım modeli oluşturulan farelerde GPER agonisti G-1 uygulanmasının ardından IL-10 üreten CD4⁺ T hücrelerinin ve Foxp3⁺ düzenleyici T hücrelerinin anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir (Kalidhindi ve ark., 2020).
- GPER'in bağışıklık sisteminde antiinflamatuvar yanıtları desteklediğini ve potansiyel bir immün modülatör olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Prossnitz ve Barton, 2023).



Şekil 2.4 GPER'in Hastalıklarla İlişkisi

(Prossnitz ve Barton, 2023).

2.2.5 GPER ve PKOS

Östrojenlerin, ovaryumda lokal olarak folikül olgunlaşmasını düzenlediği ve baskın folikül büyümesi sırasında granüloza hücrelerinin proliferasyonunu uyardığı düşünülmektedir. Son zamanlarda, GPER ile oosit olgunlaşması arasındaki ilişki bildirilmiştir. PKOS'lu hastalardan alınan kümülüs granüloza hücrelerinde yüksek GPER seviyeleriyle birlikte düşük E2 seviyelerinin insan oosit olgunlaşmasını engelleyebileceğini göstermiştir (Zang ve ark., 2016). Bu durum GPER'lerin oosit olgunlaşmasında önemli bir rol oynayabileceği yolunda yeni veriler oluşturmuştur (Wang ve ark., 2007).

2.2.5.1 Östrojen Sinyal Yolu Bozukluğu

- PKOS hastalarında östrojen düzeyleri genellikle normal ya da yüksektir, ancak doku düzeyinde östrojenin etkileri bozulmuş olabilir.
- GPER, östrojenin hücre dışı sinyallerini ilettiği için, bu reseptördeki işlev bozukluğu hormonal dengeyi etkileyebilir.
- GPER ekspresyonunun PKOS hastalarında değiştiği (azaldığı veya arttığı) bazı çalışmalarda bildirilmiştir, bu da folikül gelişimi ve ovulasyon mekanizmaları üzerinde etkili olabilir (Wang ve ark., 2007).

2.2.5.2 Folikül Gelişimi ve Granüloza Hücreleri

- GPER, yumurtalıklarda granüloza hücrelerinde bulunur ve folikül gelişimi, hücre proliferasyonu ve apoptozis gibi süreçlerde görev alır.
- PKOS hastalarında bu hücrelerdeki GPER aktivitesinin değişmesi, anovulasyon ve folikül arresti (gelişemeyen foliküller) gibi PKOS'un temel belirtilerine katkıda bulunabilir (Wang ve ark., 2007).

2.2.5.3 İnsülin Direnci ve Metabolik Etkiler

- PKOS'ta sık görülen insülin direnci, GPER'in glukoz metabolizmasında oynadığı rollerle de bağlantılı olabilir.
- GPER'in pankreasta insülin sekresyonu ve insülin duyarlılığı üzerine etkileri mevcuttur (Wang ve ark., 2007).

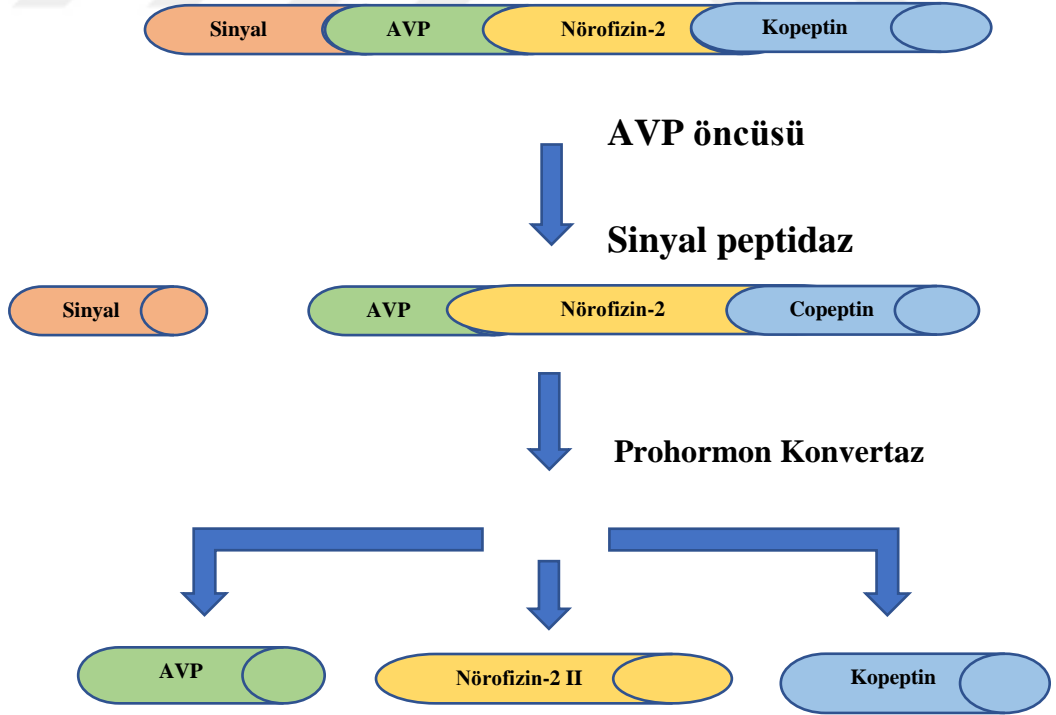
2.2.5.4 Over Mikrosimülasyon Çalışmaları

- Bazı in vitro çalışmalarda, PKOS'lu bireylerden elde edilen hücrelerde GPER'in ekspresyonunun farklı olduğu gösterilmiştir.
- GPER agonistleriyle yapılan deneylerde hücre proliferasyonu ve steroid üretiminde değişiklikler gözlemlenmiştir (Wang ve ark., 2007).

2.3. Kopeptin

Arjinin Vazopressin (AVP) ve Kopeptin, klinik uygulamada ozmotik ve hemodinamik uyarıcılara yanıt olarak eşit miktarlarda dolaşıma salınan, arka hipofiz bezinden salgılanan iki hormondur. Sağlıklı bireylerde AVP, damar tonusunu ve sıvı dengesini düzenleyerek kardiyovasküler sistemin dengesini korur. AVP, böbrek fonksiyonlarını ve damar tonüsünü ayarlayıcı etkilerinin yanında, endokrin, hemostatik ve merkezi sinir sistemlerinin düzenlenmesinde de önemli bir rol oynar (Christ-Crain, 2019). AVP, ozmotik denge, sodyum homeostazi, kan basıncı ve böbrek fonksiyonlarının kontrolünde önemli bir rol oynar. AVP'nin bu etkileri, üç G-protein bağlı reseptör aracılığıyla gerçekleşir bunlar; damar reseptörü (V1aR), ön hipofiz reseptörü (V1bR) ve antidiüretik etkiden sorumlu reseptördür (V2R) (Sparapani ve ark., 2021). RAAS (renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi) ve AVP sistemleri arasında uyumlu bir etkileşim gözlenmiştir. Bu iki sistem, metabolizmanın, kardiyovasküler sistemin ve su-elektrolit dengesinin uygun düzenlenmesini sağlamak üzere birlikte çalışırlar. Dolayısıyla, aynı uyarana yanıt olarak birlikte aktive olabilirler (Szczepanska-Sadowska ve ark., 2018). Klinik uygulamada AVP ölçümleri sınırlıdır çünkü AVP'nin yarı ömrü çok kısadır, -20°C'de depolansa bile moleküler stabilitesi düşüktür ve dolaşımdaki AVP'nin %99'undan fazlası trombositlere bağlıdır, bu da gerçek AVP seviyesinin yanlış tahmin edilmesine yol açar (Łukaszyk ve Małyszko, 2015). AVP ile eşmolar (eşit miktarda) salınması ve yüksek stabilitesi sayesinde kopeptin, AVP salınımını yansıtan bir belirteç olarak kullanılabilir. Günümüzde kopeptin, insanlarda AVP konsantrasyonunun stabil bir temsilci belirteci olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, pulmoner hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalığın prognozunda bir biyobelirteç olarak kullanımı onaylanmıştır (Christ-Crain, 2019). Kopeptin, ilk olarak 1972 yılında Holwerda tarafından domuzların arka hipofiz bezinde tespit edilmiştir. 39 amino asitten oluşan, lösin açısından zengin bir çekirdek bölgesi bulunan glikozillenmiş bir peptittir. Kopeptin, AVP prekürsörünün (pro-AVP) C-terminal kısmında yer alır. Moleküler kütlesi yaklaşık 5 kDa'dır (Holwerda, 1972). AVP'nin V1a, V1b ve V2 reseptörleri aracılığıyla etki ettiği bilinmektedir. V1a reseptörleri üzerindeki etki arteriyel vazokonstriksiyonla, V2 üzerinde antidiüretik etkiyle ve V1b üzerinde adenokortikotropik hormon (ACTH), insülin, glukagon salgılanmasıyla bağlantılıdır. AVP'nin aksine, kopeptinin dolaşımdaki fizyolojik işlevi halen net olarak bilinmemektedir. 1972'de tanımlanmasından sonra, bazı

erken dönem araştırmalar kopeptinin prolaktin salıveren bir faktör olarak işlev görebileceğini öne sürmüş, ancak bu bulgular sonradan yapılan deneyler tarafından doğrulanmamıştır (Pettibone ve ark., 1989). Yeni çalışmalar, kopeptinin AVP'nin katlanması ve proteolitik olgunlaşmasında bir şaperon protein olarak işlev görebileceğini varsaymaktadır (Harris ve ark., 1998). Dolaşımda kopeptinin düzenli bir şekilde bulunması, onun spesifik bir periferik görevi olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, kopeptinin dolaşımdaki spesifik rolünü belirlemek için daha fazla deney yapılması gerekmektedir. Mevcut durumda, kopeptinin strese, ozmotik ve hemodinamik uyarıcılara AVP ile aynı yanıtı verdiği gösterilmiştir. AVP ile eşit miktarda üretilmesi, kopeptin testini AVP bozukluklarıyla ilişkili hastalıkların tanı ve prognozunda işlevsel kılmaktadır. Kopeptinin dolaşımdan nasıl atıldığına dair spesifik bir mekanizma henüz tanımlanmamış olsa da böbrek yoluyla atılabileceği düşünülmektedir çünkü kopeptin idrarda da ölçülebilmektedir (Roussel ve ark., 2014). Kopeptin üretimi, pro-AVP prekürsörünün enzimatik yıkımı sonucunda gerçekteşir (şekil 2.59) (Abdelmageed ve Güzelgöl, 2023).



şekil 2.5 Kopeptin Sentezi

(Abdelmageed ve Güzelgöl, 2023).

Pro-AVP prekürsörü, hipotalamusta üretilir. Pro-AVP'nin hipotalamustan salınması iki farklı mekanizma aracılığıyla gerçekleşir. İlk mekanizma, arka hipofiz salınım mekanizmasıdır. Bu mekanizmada, pro-AVP, hipotalamik supraoptik (SON) ve paraventriküler (PVN) çekirdeklerin magnoselüler nöronlarında üretilir. Pro-AVP daha sonra endoplazmik retikulumda işlenir; burada sinyal peptidi uzaklaştırılır ve bir karbonhidrat zinciri eklenir. Sonrasında arka hipofiz bezine aksonal taşınım gerçekleşir ve burada, Pro-AVP'nin enzimatik yıkımı sonucunda kopeptin, AVP ve nörofizin-2 üretilir (Şekil 2.5) (Abdelmageed ve Güzelgöl, 2023). Bu üç peptit, nörohipofizde depolanır ve hemodinamik veya ozmotik uyarılara yanıt olarak salınırlar. Diğer mekanizma ise pro-AVP'nin, hipotalamusun parvoselüler nöronlarında sentezlenip işlendiği yoldur. Bu bölgede aynı zamanda kortikotropin salıverici hormon (CRH) de üretilir. AVP, ardından hipofiz portal sistemine taşınır ve burada CRH ile iş birliği içinde, ön hipofiz bezinden ACTH salınımını uyarır. ACTH ise, böbreküstü bezinden kortizol salınımını tetikler (Sparapani ve ark., 2021).

AVP gibi, kopeptinin dolaşımdaki düzeyleri de kan basıncı, stres ve ozmolalite değişikliklerine yanıt verir. Sağlıklı bireylerde, kopeptinin plazma ozmolalitesiyle AVP'ye kıyasla daha fazla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Sağlıklı kontrollerde, kopeptin düzeylerinin ozmolalite değişiklikleriyle güçlü bir ilişki gösterdiği, susuzluk sırasında hızla yükseldiği ve sıvı alımından sonra hızla düştüğü bulunmuştur. Ayrıca, kopeptin, fizyolojik stres düzeylerini belirlemede kortizolden daha etkili olabilir. Kortizolün serbest hormon olarak ölçülmesi zordur (Morgenthaler ve ark., 2007).

Sağlıklı bireylerde normal kopeptin düzeyleri 1.70–11.25 pmol/L arasında bulunmuştur. Normal koşullarda, nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, erkeklerin kopeptin düzeylerinin kadınlara göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Erkeklerdeki daha yüksek kopeptin düzeylerinin, daha fazla ozmolar madde alımına bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Kopeptine benzer şekilde, AVP düzeyleri de erkeklerde kadınlardan daha yüksek bulunmuştur. Ancak, AVP düzeyleriyle ilgili cinsiyet farklarına dair doğrudan bir kanıt bulunmamaktadır. AVP düzeylerinin günlük ritim gösterdiği bildirilmiş olsa da kopeptin için düzenli bir sirkadiyen değişkenlik rapor edilmemiştir. Ayrıca, yaş farklarının kopeptin düzeyleri üzerindeki etkisine dair herhangi bir bilgi de rapor edilmemiştir (Dobša ve Cullen Edozien, 2012).

Bununla birlikte, fiziksel egzersizin kopeptin düzeylerini artırabileceği gözlemlenmiştir. 6.801 katılımcıdan oluşan büyük bir kohort çalışmasında, yaşam tarzı ve sigara, alkol kullanımı, sıvı ve sodyum alımı gibi diyetle ilişkili faktörlerle kopeptin düzeyleri arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, kopeptinin yüksek sistolik kan basıncı, yüksek böbrek sodyum ve üre atılımı ve düşük 24 saatlik idrar hacmi ile ilişkili olduğu da sağlıklı bireylerde gözlemlenmiştir (Mammen ve ark., 2014).

2.3.2. Kopeptin ve PKOS

Son yıllarda PKOS tanısı alan kadınlarda serum kopeptin düzeylerini belirlemek adına yapılan çeşitli klinik ve epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar, AVP sisteminin PKOS patofizyolojisindeki olası rolüne ortaya koymaya yöneliktir. PKOS'lu bireylerde artmış kopeptin düzeyleri, özellikle IR, obezite ve metabolik sendrom gibi eşlik eden durumlarla ilişkili bulunmuştur (Roh ve ark., 2018). PKOS'lu kadınlarda IR, sendromun en sık rastlanan metabolik bozukluklarından biri olup, artmış kopeptin düzeyleriyle korelasyon göstermektedir. AVP'nin periferik insülin duyarlılığı üzerinde doğrudan etkili olabileceği düşünülmektedir; dolayısıyla kopeptin düzeylerinin yükselmesi, bozulmuş glukoz metabolizmasının ve IR'nin biyobelirteci olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte, kopeptin artışı yalnızca IR ile sınırlı kalmayıp, aynı zamanda hipertansiyon ve abdominal obezite gibi diğer kardiyometabolik risk faktörleriyle de anlamlı düzeyde ilişkilendirilmiştir (Turan ve ark., 2020). Obezite, PKOS'un hem nedeni hem de sonucu olabilen yaygın bir klinik bileşendir ve kopeptin düzeylerinin artışında belirleyici bir rol oynayabilir. Kopeptin ile viseral yağ dokusu artışı, sistemik inflamasyon ve adipokin dengesizlikleri arasında pozitif ilişkiler saptanmıştır (Jansen ve ark., 2017). Tüm bu bulgular ışığında, kopeptin düzeylerinde, ilerleyen dönemlerde tabloya eklenen hastalıklar neticesinde ortaya çıkan anlamlı değişimlerin görülebilmekte olduğu hem metabolik hem de kardiyovasküler risklerin öngörülmesinde potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceği öngörülmektedir. Literatürdeki bazı çalışmalar, yüksek kopeptin düzeylerinin, PKOS'lu bireylerde IR, obezite ve kardiyovasküler hastalık gelişme riskini 12 kata kadar artırabileceğini ileri sürmektedir. Bu nedenle, kopeptin düzeylerinin klinik izlemi, risk sınıflandırması ve tedavi stratejilerinin bireyselleştirilmesinde önemli katkılar sağlayabilir (Kahraman ve ark., 2021).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyaller

3.1.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

- Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fischer Scientific İnvitrogen PureLink, ABD) (Lot. 2918392)
- Agarose (Agaroz) (BioShop, Canada, Lot. 4C86758)
- TBE (Tris bazı/ Borik asit/EDTA) (Thermo Scientific, Lot. 01091115)
- Solis BioDyne Tetra-primer ARMS PCR Kit (Lot No: 14251250430.1, Solis BioDyne, Estonya)
- Human CPP (Copeptin) ELISA Kit (Cat. no. E1129Hu). (BT LAB)
- Human ELISA Kit (GPER) Code. EH1361 Size: 96T Bath No. FN240514 8Fine Test)

3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

- Soğutmalı mikrosantrifüj (Hettich Micro 22)
- Soğutmalı satntrifüj (Hettich Rotana 460 R)
- Derin dondurucu (Haier Bio-medical)
- Etüv (Memmert)
- Spektrofotometre (Techcomp UV1000)
- Hassas terazi (AND GR200)
- Buzdolabı (UĞUR)
- Vortex (VELP)
- Mikro santrifüj (Stratagene PicoFuge II)
- Su Banyosu / Water Bath (Medingen SWB 20)
- Mikro pipet (Thermo Fisher P10-P100-P1000)
- Mikro plaka okuyucu / Microplate Reader (Organon Technika Microwell system)
- Cam malzemeler (balon joje, deney tüpü, beher, mezür)
- Shaker (IKA KS 130 basic)
- Mıknatıslı Karıştırıcı / Magnetic Stirrer (Yellow line MSH basic)
- PCR Cihazı (Termal Cyclers) (Techne, TC 4000, TC 412)

- Elektroferez Tankı (Clever Scientific, MSCHOICE)
- Elektroferez Güç Kaynağı (Thermo Scientific EC 300 x L)
- Jel Görüntüleme Sistemi (QUANTUM ST-4, 1000/20M, 09200806)

3.2. METOD

3.2.1. Çalışma Tasarımı

Çalışmamız Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulundan alınan 24-KAEK-058 nolu izin sonrasında gerçekleştirildi. Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı bünyesinde gerçekleştirilen çalışmamıza, Eylül 2024 ve Şubat 2025 tarihleri arasında Nıksar Devlet Hastanesi Kadın Doğum Polikliniği'ne başvuran "Polikistik Over Sendromu" tanılı 40 olgu ve 40 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Rutin jinekolojik muayene için gelen olgular kontrol grubunu oluştururken, PKOS tanısı alan hastalar çalışma grubu olarak belirlendi. Tüm hastalardan çalışmaya dair bilgilendirme içeren yazılı onam alındı. Başvuran hastalardan PKOS ile ilişkili şikayetlerle başvuranlar Rotterdam kriterlerine göre değerlendirildi. Çalışmaya 18-35 yaş arasında kadınlar dahil edildi.

Yapılan G*Power analizine göre çalışmanın örneklem büyüklüğü, istatistiksel gücün yeterliliğini sağlamak amacıyla G*Power 3.1 yazılımı kullanılarak hesaplandı. Tip I hata (α) değeri 0.05, istatistiksel güç ($1-\beta$) değeri 0.80 olarak belirlendi. Etki büyüklüğü (effect size) orta düzeyde ($d=0.5$) varsayıldı. Bu parametreler doğrultusunda, her grup için en az 34 katılımcının çalışmaya dahil edilmesi gerektiği belirlendi. Bu örneklem büyüklüğü, istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılması için yeterli kabul edildi. Kan örnekleri sabah saat 8:00-10:00 aralığında alındı. ELISA testi ve biyokimyasal analizler için her katılımcıdan jelli tüplere 5 ml, gen çalışmaları için EDTA'lı tüplere 3 ml tam kan örneği alındı. Biyokimyasal analizler için kan örnekleri laboratuvara ulaştırıldıktan sonra 4.000 rpm'de 15 dk. süreyle Hettich Zentrifügen Rotanta 460R (Germany) soğutmalı santrifüj ile ayrıştırıldı, serum kısmı ayrıldı ve mikrotüplere aktarıldı. Tüm serum örnekleri, analiz zamanına kadar -80°C 'de saklandı; bu saklama koşulu ile örneklerin bütünlüğü korunarak protein yapısının bozulması önlenmiş oldu. EDTA'lı tüpler 4 kez yavaşça karıştırılarak çalışma gününe kadar +4 derecede saklandı.

Çalışmada kullanılan dışlama kriterleri olarak 18'den küçük ya da 35'ten büyük yaş, ovaryen cerrahi öyküsü olması, muayenede adneksiyel kitle saptanması, herhangi bir over tümörü, neoplazm öyküsü varlığı, pelvik radyoterapi/sistemik kemoterapi öyküsü, alkol ve sigara kullanımı olarak belirlenmiştir.

3.2.2 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel veriler IBM SPSS Statistics 20 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerin dağılımının normalliğini değerlendirmek amacıyla Shapiro-Wilk testi uygulanmıştır. Normal dağılım gösteren parametreler parametrik testler ile analiz edilerek ortalama \pm standart sapma (SS) şeklinde ifade edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen parametreler ise medyan ve minimum-maksimum aralıkları ile ifade edilerek non-parametrik testler ile analiz edilmiştir.

GPER'in, PKOS'lu hastalar ile sağlıklı kontrolleri ayırt etmedeki tanısal yeteneğini değerlendirmek amacıyla ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi gerçekleştirildi. ROC analizi, biyobelirteçlerin özgüllük (Spesifite) ve duyarlılık (sensitivite) değerleri arasındaki ilişkiyi inceleyerek ayırt edicilik performansını ortaya koymaktadır. ROC analizinde istatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Allel ve genotip frekanslarının analizinde SPSS 16.0, WinPepi (Sürüm 11,65) ve OpenEpi (Sürüm 3.01) istatistik yazılımları kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarındaki genotip ve allel frekansları Ki-kare (χ^2) testi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tanısal performans açısından eğri altında kalan alan (AUC), duyarlılık, özgüllük ve kesim (cut-off) değerleri dikkate alınarak değerlendirildi.

3.3 Biyokimyasal Analizler

3.3.1 Rutin Biyokimya Analizleri

Kan glukozu (mg/dl), alanin aminotransferaz (ALT) (U/L), aspartat aminotransferaz (AST)(U/L), trigliserit (TG) (mg/dl), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) (mg/dl), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) (mg/dl), çok düşük yoğunluklu lipoprotein

(VLDL)(mg/dl), ferritin, C-reaktif protein (CRP) (mg/dl), kan üre azotu (BUN) (mg/dl) ve D vitamini (ng/ml) düzeyleri, Tokat Niksar Devlet Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda ROCHE Cobas 6000/c501/e601 kimya analizörü kullanılarak analiz edildi.

3.3.2 Enzim Bağlantılı İmmünoabsorbent Analiz (ELISA) Prensi

ELISA, bir antijen–antikor etkileşimine dayanır. Bu etkileşim bir enzime bağlanmış antikor aracılığıyla gözlenebilir hale getirilir. Enzim Bağlantılı İmmünoabsorbent Analiz (ELISA) yöntemi, belirli bir hedef molekül (örneğin bir protein veya hormon) tespit etmek ve miktarını belirlemek için kullanılan bir immünoassay (bağışıklık temelli test) tekniğidir. Bu yöntemin temel prensibi, iki farklı antikorun aynı antijene bağlanması esasına dayanır.

Çalışmamızda 96 kuyucuklu plaka, yakalayıcı antikor ile önceden kaplandı. Biotinin konjuge edildiği antikor, tespit antikoru olarak kullanıldı. Standartlar, test örnekleri ve biyotin konjugeli tespit antikoru sırasıyla kuyucuklara eklendi, ardından yıkama tamponu (Wash Buffer) ile yıkama işlemi uygulandı.

Daha sonra, Horseradish Peroxidase-Streptavidin (HRP-Streptavidin) eklenmiş ve bağlanmamış konjugatların uzaklaştırılması için tekrar yıkama tamponu kullanıldı. HRP enziminin reaksiyonunu görünür hale getirmek için Tetrametilbenzidin (TMB) peroksidaz substratları kullanıldı. TMB, HRP tarafından katalize edilerek mavi renkli bir ürün oluşturuldu. Asidik durdurma solüsyonu eklendiğinde bu mavi renk sarıya dönüştü. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plaka üzerinde yakalanan hedef örnek miktarıyla orantılıdır.

3.3.3. GPER Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

Plazma GPER düzeyi, Human ELISA Kit (GPER) (Code. EH1361 Size: 96T Bath No. FN240514 8 Fine Test) kullanılarak, sandviç enzim bağlantılı immünoabsorbent analiz (ELISA) teknolojisi ile ölçüldü. Optik yoğunluk (O.D.) absorbansı, 450 nm dalga boyunda ORGANON TEKNİKA 12 420 mikropilaka okuyucu ile okunmuştur. GPER düzeyi, pikogram/mililitre (pg/mL) cinsinden ifade edilmiştir. Hesaplamalar Microsoft Excel 2016 programı kullanılarak yapıldı.

- **Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması**

Tüm reaktifler ve örnekler, deneyden 20 dakika önce oda sıcaklığında bekletildi.

- **Örnek Hazırlama:**

Örnekler 1:3 oranında seyreltilmiştir; 75 µl örnek, 25 µl örnek seyreltme tamponu ile karıştırılarak homojen hale getirildi.

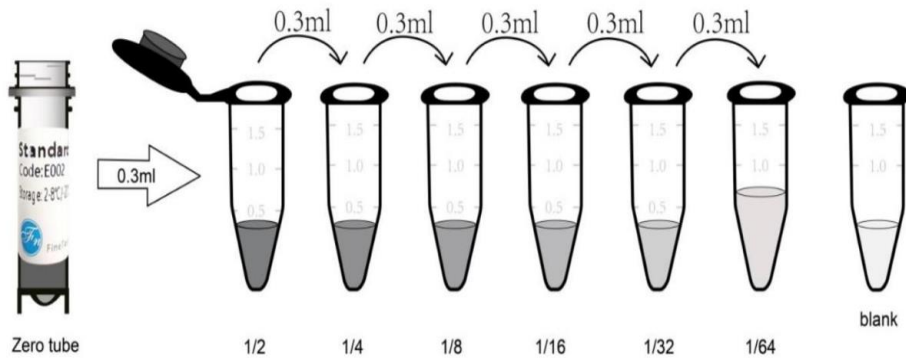
- **Yıkama Tamponu Hazırlama:**

30 ml yoğunlaştırılmış Yıkama Tamponu (25X), distile su kullanılarak 750 ml'ye seyreltildi.

- **Standartların Hazırlanması:**

1 ml örnek seyreltme tamponu, sıfır numaralı olarak etiketlenmiş bir standart tüpüne eklendi. Tüp, oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra iyice karıştırıldı. 7 adet Eppendorf tüpü 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 ve boş (blank) olarak etiketlendi.

Her bir tüpe 0.3 ml örnek seyreltme tamponu eklendi ve devamında sıfır numaralı tüpten 0.3 ml alınıp 1/2 etiketli tüpe aktarıldı ve iyice karıştırıldı. Ardından bu tüpten 0.3 ml alınıp bir sonraki tüpe aktarıldı ve bu işlem 1/64'e kadar aynı şekilde devam ettirildi. Boş tüpe herhangi bir solüsyon eklenmedi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. GPER Testine Ait Standart Solüsyonların Konsantrasyonlar

• **Biyotin ile işaretlenmiş Antikor Çalışma Solüsyonu Hazırlığı:**

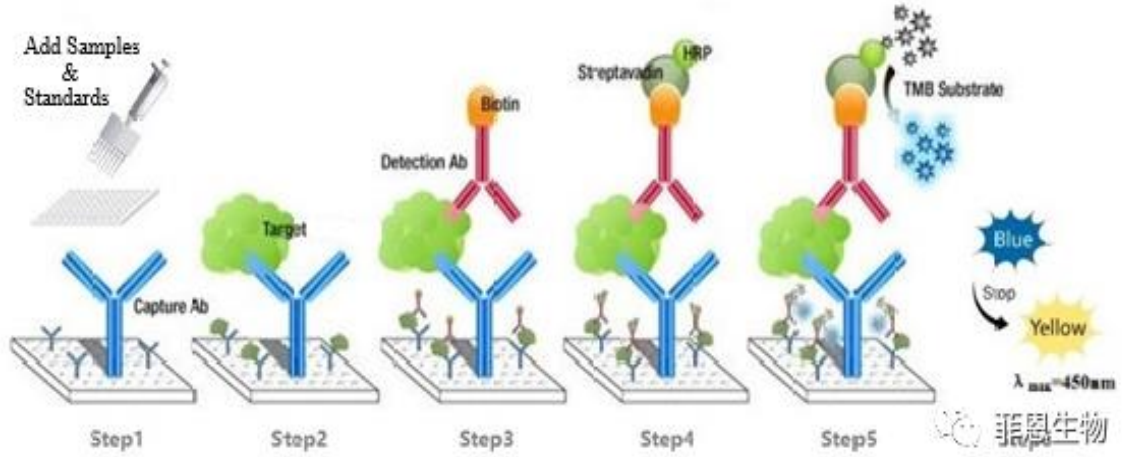
Biyotin-tespit antikoru, antikor seyreltme tamponu ile 1:100 oranında seyreltilmiş ve testten 1 saat önce iyice karıştırıldı.

• **HRP-Streptavidin Konjugat (SABC) Çalışma Solüsyonu Hazırlığı:**

SABC solüsyonu, SABC seyreltme tamponu ile 1:100 oranında seyreltilmiş ve testten 30 dakika önce iyice karıştırıldı.

Test Prosedürü

- 96 kuyucuklu mikrotitre plaka etiketlendi, 7 kuyucuk standartlar için, kalan 80 kuyucuk ise örnekler için ayrıldı.
- Her bir standart kuyucuğuna 100 µl standart solüsyon, her bir örnek kuyucuğuna ise 100 µl (75 µl örnek + 25 µl seyreltme tamponu) eklendi.
- Plaka kapatıldı ve 37 °C’de 90 dakika inkübe edildi. Plaka içeriği boşaltılmış ve her kuyucuğa 350 µl yıkama tamponu eklenerek iki kez yıkandı.
- Her kuyucuğa 100 µl biyotinli antikor çalışma solüsyonu eklendi, plaka kapatıldı, hafifçe vurularak karıştırılmış ve 37 °C’de 60 dakika inkübe edildi.
- Plaka boşaltıldı ve 3 kez yıkandı.
- Her kuyucuğa 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklenmiş, plaka tekrar kapatılıp hafifçe vurularak karıştırılmış ve 37 °C’de 30 dakika inkübe edildi.
- Plaka içeriği boşaltılmış ve 5 kez yıkandı.
- Karanlık bir ortamda, her kuyucuğa 90 µl TMB substratı eklenmiş, plaka kapatılmış, hafifçe karıştırılmış ve 37 °C’de 15 dakika karanlıkta inkübe edildi.
- Renk değişimi gözlendikten sonra, her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklenmiş ve renk anında sarıya döndü (Şekil 3.2).
- Optik yoğunluk (O.D.) 450 nm dalga boyunda mikrotitre plaka p kuyucu ile hemen okundu.



Şekil 3.2. ELISA Yönteminin Basamakları (GPER testi uygulama prosedürünün özet bölümünden alınmıştır).

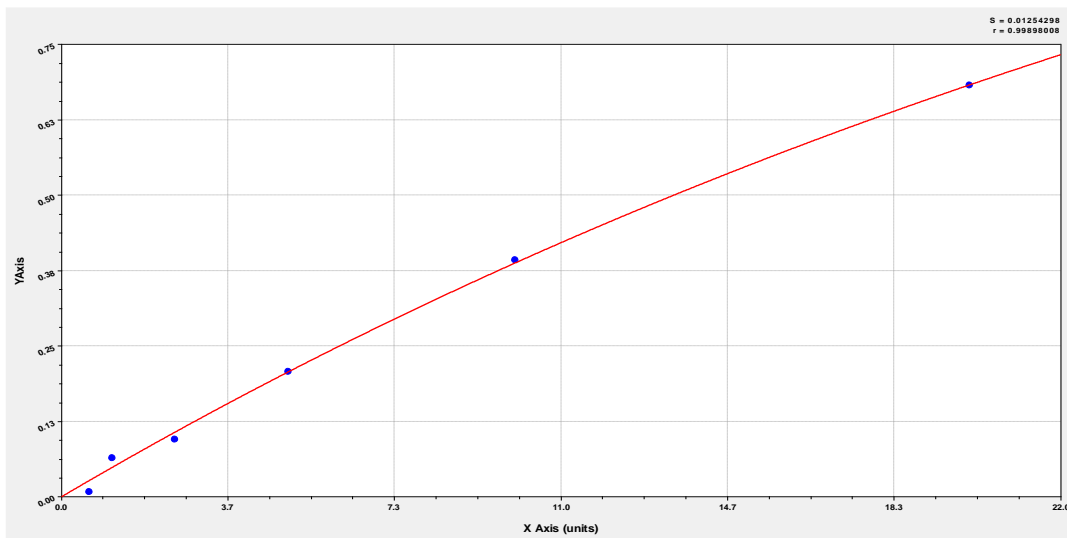
• Hesaplamalar

O.D. = Her bir kuyucuğun O.D. değeri – Boş (blank) kuyucuğun O.D. değeri

Standart eğri, Microsoft Excel 2016 programı kullanılarak çizildi.

Burada;

- Y eksenini, her bir standart solüsyonun O.D. değerini
- X eksenini, ilgili konsantrasyonu temsil etti (Şekil 3.3).



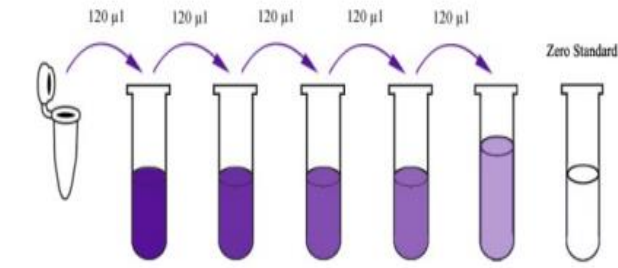
Şekil 3.3. GPER Standart Eğri Grafiği

3.3.4 Kopeptin Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi (CPP)

- **Çalışma Çözeltilerinin Hazırlanması**

Tüm reaktifler ve numuneler testten önce 20 dk oda sıcaklığında bekletildi.

- **Standartların Hazırlanması**



Standart Konsantrasyon	Standart No.5	Standart No.4	Standart No.3	Standart No.2	Standart No.1
24 ng/ml	12 ng/ml	6 ng/ml	3 ng/ml	1,5 ng/ml	0,75 ng/ml

Şekil 3.4. Standart Konsantrasyonları

Plazma kopeptin düzeyi, Human CPP (Kopeptin) ELISA Kiti (BT LAB, Cat. no. E1129Hu) kullanılarak, sandviç enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) teknolojisi ile ölçüldü. Optik yoğunluk (O.D.) absorbansı, 450 nm dalga boyunda ORGANON TEKNİKA 12 420 mikroparka okuyucu ile okutuldu. Kopeptin düzeyi, pikogram/mililitre (pg/mL) cinsinden ifade edilmiştir. Hesaplamalar Microsoft Excel 2016 programı kullanılarak yapıldı.

- **Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz (ELISA) Prensibi**

96 kuyucuklu plaka, yakalayıcı antikor ile önceden kaplanmıştır. Biotinin konjuge edildiği antikor, tespit antikoru olarak kullanıldı. Standartlar, test örnekleri ve biyotin konjugeli tespit antikoru sırasıyla kuyucuklara eklenmiş, ardından yıkama tamponu (Wash Buffer) ile yıkama işlemi uygulandı.

Daha sonra, Horseradish Peroxidase-Streptavidin (HRP-Streptavidin) eklendi ve bağlanmamış konjugatların uzaklaştırılması için tekrar yıkama tamponu kullanıldı.

HRP enziminin reaksiyonunu görünür hale getirmek için Tetrametilbenzidin (TMB) peroksidaz substratları kullanıldı. TMB, HRP tarafından katalize edilerek mavi renkli bir ürün oluşturdu. Asidik durdurma solüsyonu eklendiğinde bu mavi renk sarıya dönüşür. Oluşan sarı rengin yoğunluğu, plaka üzerinde yakalanan hedef örnek miktarıyla orantılıdır.

• **Biyotin ile işaretlenmiş Antikor Çalışma Solüsyonu Hazırlığı:**

Biyotin-tespit antikorunu, Antikor Seyreltme Tamponu ile 1:100 oranında seyreltilmiş ve testten 1 saat önce iyice karıştırıldı.

• **HRP-Streptavidin Konjugat (SABC) Çalışma Solüsyonu Hazırlığı:**

SABC solüsyonu, SABC Seyreltme Tamponu ile 1:100 oranında seyreltilmiş ve testten 30 dakika önce iyice karıştırıldı.

Test Prosedürü

- 96 kuyucuklu mikrotitre plaka etiketlenmiştir; 7 kuyucuk standartlar için, kalan 80 kuyucuk ise örnekler için ayrıldı.
- Her bir standart kuyucuğuna 100 µl standart solüsyon, her bir örnek kuyucuğuna ise 100 µl (75 µl örnek + 25 µl seyreltme tamponu) eklendi.
- Plaka kapatıldı ve 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Plaka içeriği boşaltılmış ve her kuyucuğa 350 µl Yıkama Tamponu eklenerek iki kez yıkandı.
- Her kuyucuğa 100 µl biyotinli antikor çalışma solüsyonu eklendi, plaka kapatıldı, hafifçe vurularak karıştırıldı ve 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Plaka boşaltıldı ve 3 kez yıkandı.
- Her kuyucuğa 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklendi, plaka tekrar kapatılıp hafifçe vurularak karıştırıldı ve 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.
- Plaka içeriği boşaltıldı ve 5 kez yıkandı.
- Karanlık bir ortamda, her kuyucuğa 90 µl TMB substratı eklendi, plaka kapatıldı. Çalkalamadan hafifçe karıştırıldı ve 37 °C'de 15 dakika karanlıkta inkübe edildi.

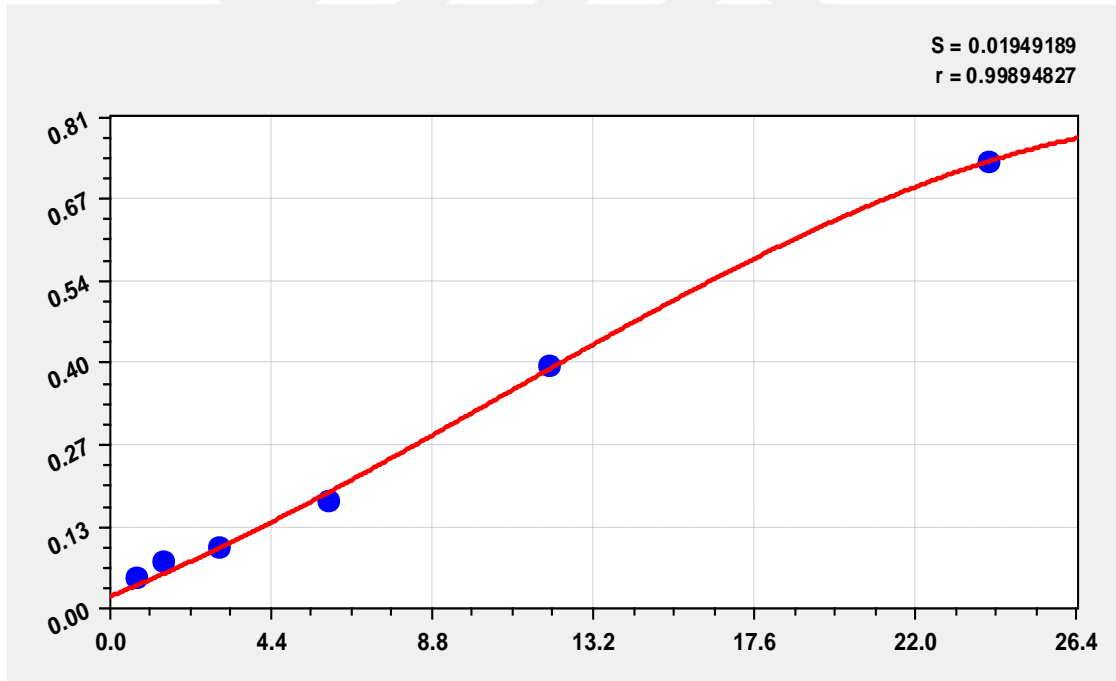
- Renk değişimi gözlemlendikten sonra, her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve renk anında sarıya döndü.
- Optik yoğunluk (O.D.) 450 nm dalga boyunda mikrotitre plaka okuyucu ile hemen okundu.

• Hesaplamalar

O.D. = Her bir kuyucuğun O.D. değeri – Boş (blank) kuyucuğun O.D. değeri

Standart eğri, Microsoft Excel 2016 programı kullanılarak çizildi ve burada

- Y eksenini, her bir standart solüsyonun O.D. değerini,
- X eksenini, ilgili konsantrasyonu temsil etmiştir.



Şekil 3.5 Kopeptin Standart Eğri Grafiği

3.4 GENOTİP ANALİZ

3.4.1 DNA İzolasyonu

Hastalardan 3 ml venöz kan örneği EDTA'lı tüplere alınarak, bir kaç kez alt üst edildikten sonra çalışma gününe kadar geçen sürede +4 °C'de saklandı. Invitrogen PureLink Genomic DNA Kiti (Lot No: 2918392, Kat No: 182002) kullanılan DNA izolasyonunun aşamaları aşağıda belirtilen sıralamaya göre gerçekleştirildi.

Lizat Hazırlama:

- ✓ İlk olarak wash buffer solüsyonlarına istenilen oranlarda su tutucu özelliği ve çökelme sağlaması amacıyla etanol eklendi. (Wash Buffer I'e 96 ml, Wash Buffer II'ye 100ml) Su banyosu 55 °C'ye ayarlandı.
- ✓ Steril eppendorf tüplerine (hasta sayısı adedince numaralandırılarak) 200 µl kan eklendi. Üzerine 20 µl Proteinaz K ve 20 µl RNase A eklenerek vortekslendi ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi. Üzerlerine hücre çeperini parçalamak amacı ile 200 µl Lysis/binding buffer eklenerek homojen bir karışım elde etmek amacıyla vortekslendi.
- ✓ 10 dk. 55 °C'de inkübe edilerek proteinlerin parçalanması sağlandı.
- ✓ Lizatın üzerine 200 µl etanol eklenerek homojen bir karışım elde etmek için 5 saniye vortekslendi. Hemen bağlama aşamasına geçildi.

- **Spin Kolonlar Kullanılarak Saflaştırma Prosedürü**

Steril 1.5 ml'lik santrifüj tüpleri kullanıldı. Tüm santrifüj aşamaları oda sıcaklığında uygulandı. Başlamadan önce Wash Buffer I ve Wash Buffer II'ye belirtilen miktarda %96 -100'lük etanol eklenip iyice karıştırıldı ve etanol eklendi olarak işaretlendi. Her etanol eklenmiş yıkama tamponu oda sıcaklığında muhafaza edildi.

- **Bağlama Aşaması**

Toplama tüpleri ve içindeki kolonlar çıkartıldı. Toplam hacmi 640 µl olan lizat spin kolonlara eklendi. Kolonlar oda sıcaklığında 10.000 devirde 1 dakika santrifüj edildi. Tek kullanımlık olan toplama tüpleri atıldı ve spin kolonlar yeni toplama tüplerine yerleştirildi.

- **Yıkama Aşaması**

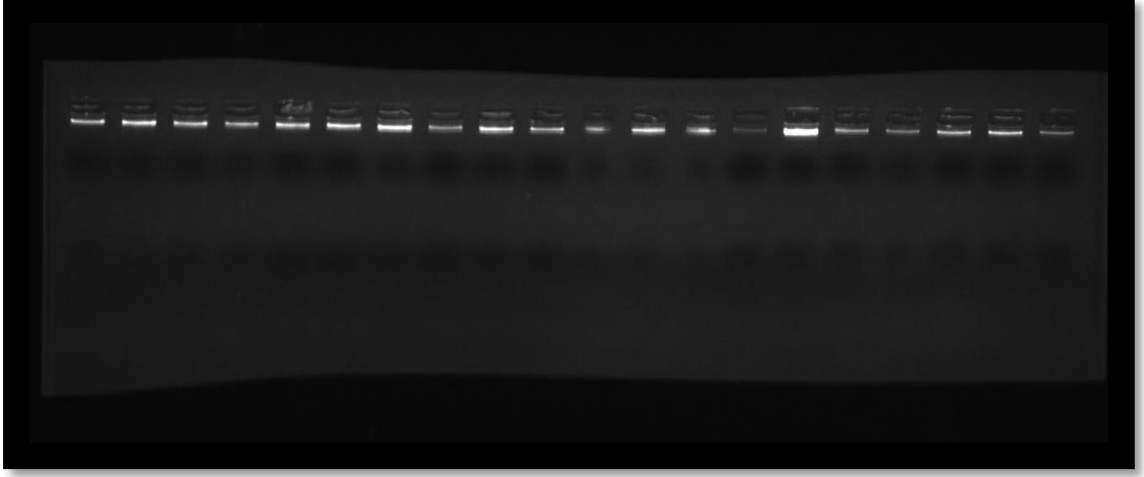
Kolonlara 500 µl Wash Buffer I eklendi. Kolonlar oda sıcaklığında 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpleri atıldı ve spin kolonlar yeniden farklı bir toplama tüpüne yerleştirildi. Kolona 500 µl Wash Buffer II eklendi. Kolon oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifüj edildikten sonra toplama tüpleri atıldı.

- **DNA Eldesi**

Spin kolonlar steril olan 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi. Kolonların üzerine 25-200 µl Elution Buffer eklendi. Kolonlar oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. Kolonlar oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi. Spin kolonlar atılarak saflaştırılmış DNA'yı içeren tüpler analiz süreci öncesi -20 °C'de saklandı.

3.4.2 DNA'nın Kalitatif Tayini

DNA kalitatif tayininde standart görüntüleme oranı olan %1'lik hazırlanan agaroz jel kullanıldı. Ortalama olarak 1 gram agaroz 100 ml TBE içerisinde çözdürüldü. 60 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 3 µl Etidyum Bromür eklendi. Sıvı halde bulunan jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroferez kabına dökülerek donmaya bırakıldı. 1 µl DNA toplam hacim 5 µl olacak şekilde boyar madde ile (Bromophenol Blue) ile muamele edilerek jeldeki kuyucuklara yüklendi. 120 voltta 15 dk. yürütüldükten sonra jel UV altında incelendi ve genomik DNA analize hazır hale getirildi (Şekil 5.1).



Şekil 3.6. Genomik DNA

3.4.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniği

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), 1983 yılında Nobel ödülüne layık görülmüş olan, Kary Mullis tarafından geliştirilmiştir. PCR, Taq polimerazı olarak bilinen *Thermus aquaticus*'tan izole edilen DNA polimeraz I enzimini kullanarak DNA'nın kısa segmentlerini denatüre ve renatüre etmek için kullanılan bir nükleik asit amplifikasyon tekniğidir. Çok az miktarda bulunan DNA'yı milyonlarca kopya haline getiren bu moleküler biyoloji tekniği belirli aşamalardan oluşmaktadır. PCR, temel olarak denatürasyon (94–96 °C'de 30-90 sn), bağlanma (50-65 °C'de 30-120 sn), uzama (72 °C'de 60-180 sn) aşamalarının birbirini tekrar eden döngülerinden oluşmaktadır. Reaksiyona özel kullanılan primer dizileri hedef DNA'nın çoğaltılmasını sağlar ve bu aşama ortalama 25-40 döngü boyunca tekrarlanır. Tekrarlama işlemi sonucunda DNA sayısı katlanarak artar. Döngü sonunda n döngü sayısı kabul edilirse 2^n miktarda DNA elde edilir. PCR'de kullanılan kalıp DNA, çoğaltılacak örnek DNA'dır, Taq DNA polimeraz yüksek sıcaklığa dayanıklı DNA'yı sentezleyen enzimdir ve her bir döngüde nükleotitleri kullanarak DNA'nın çoğaltılması işlevini görür. Primerlerin bağlandığı yerden yeni DNA zinciri sentezler. $MgCl_2$ enzim aktivitesi için gerekli kofaktörü içerir. Primerler, PCR'de hedef DNA bölgesine özgü olarak bağlanan, DNA polimerazın senteze başlamasını sağlayan kısa DNA dizileridir. Buffer reaksiyon ortamını dengede tutmak için su ise enzim aktivitesi için gerekli ortamı sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (Lorenz, 2012).

3.4.4 Tetra-Primer Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (TETRA ARMS-PCR)

Tetra-primer amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi-polimeraz zincir reaksiyonu (ARMS-PCR) SNP değişikliklerini genotiplemek için kullanılan basit ve ekonomik bir yöntemdir. Bu teknik, DNA üzerinde SNP'leri ayırt etmek için kullanılır. ARMS-PCR'nin geliştirilmiş halidir. Bu teknikte 4 farklı primer kullanılır, iki dış primer (dış çevreleyici) ve iki iç primer (alel-spesifik).

İç primerler, SNP'nin bulunduğu lokustaki spesifik alele özgü olarak tasarlanır. İki iç primerden biri mutant allele, diğeri ise normal allele özgüdür. Bu sayede her alel için farklı boyutta ampikon (PCR ürünü) oluşur.

- ✓ 2 iç primer (allele-spesifik)
- ✓ 2 dış primer (kontrol ve amplifikasyon için)

Tetra ARMS-PCR SNP'lerin tespitinde yüksek özgüllük ve hassasiyet sağlayan bir moleküler biyoloji yöntemidir. Bu teknikte yabancıl tip (wild type) ve mutant alelleri aynı anda hedefleyebilmek amacıyla kullanılan iki çift primer mevcuttur. Primerler, alel-spesifik amplifikasyonun eşzamanlı olarak karşıt yönlerde gerçekleşmesini sağlar. Geleneksel ARMS-PCR yönteminden farklı olarak, primer dizilimindeki uyumsuzluk iç primerlerin ortasında konumlandırılmıştır.

Sistem, dış ileri primer, iç ileri primer (yabancıl tipe özgü), dış ters primer ve iç ters primer (mutant alele özgü) olmak üzere dört primerden oluşmaktadır. PCR reaksiyonu esnasında, optimum amplifikasyon için iki farklı sıcaklık döngüsü uygulanmaktadır. Dış primerlerin mutasyon bölgesinden farklı uzaklıklara yerleştirilmesi sonucunda, heterozigot örneklerde üç farklı PCR ürünü elde edilir: iki küçük alel-spesifik parça ile bir büyük kontrol parçası. Elde edilen PCR ürünlerinin ayrımı ve analizi, agaroz jel elektroforezi yöntemiyle gerçekleştirilir (Ye ve ark., 2012).

Zincir Reaksiyonu (TETRA ARMS-PCR) Avantajları

- ✓ Hızlı ve ekonomiktir.
- ✓ Mutasyonların tespiti oldukça hassastır,
- ✓ Sadece bir PCR tüpünde genotipleme yapılabilir,
- ✓ Agaroz jel elektroforezi ile kolayca sonuç alınabilir.
- ✓ Agaroz jel elektroforezi ile PCR ürünleri ayrılır; farklı bant boyları hangi alelin mevcut olduğunu gösterir.
- ✓ Klasik ARMS PCR'nin tersine primer tasarımı daha karmaşıktır çünkü dört primer aynı reaksiyonda birlikte kullanılmalıdır; ancak verim ve analiz kolaylığı açısından avantaj sağlar (Tetra-primer ARMS-PCR ve ark., 2015).

Bu avantajlar, Tetra-primer ARMS-PCR yönteminin, modern genomik araştırmanın beklentilerini karşılama ve tercih edilmesini sağlar. SNP'lerin ortalama olarak 250-1000 bp'de bir kez meydana geldiği ve insan genomundaki DNA dizisi varyantlarının yaklaşık %90'ını oluşturduğu tahmin edilmektedir (Azziz ve ark., 2016), (Collins ve ark., 1998) SNP'ler yüksek yoğunluğu ve mutasyonel kararlılığı nedeniyle genlerin haritalanması için yararlıdır (Kwok ve ark., 1996).

3.4.4.1. PCR Aşamaları

Bu çalışmada, GPER gen polimorfizmini içeren GPER rs3808350 bölgesinin amplifikasyonu, Tetra ARMS-PCR yöntemi ile gerçekleştirildi. Bu gen, östrojen hormonunun hücre içi sinyalleşmesinde önemli rol oynayan reseptörü kodlar.

Primerler;

(P1; 5-CTATTTTAAAGTGACATGTCGCA-3),

(P2; 5-ATAAAAATTCAAACCTTGAAATATCC-3),

(P3; 5-CAGTACAAGTTACTTACCCGCC-3)

(P4; 5-ATATGTACCTTTTGTATTTGGATGATA-3)

Tablo 3.1 Outher ve İinner Primerler

OUTER PRİMER	İINNER PRİMER
Outher -1 450 bp	A-205 bp
Outher -2 450 bp	G-294 bp

• **Bileşenler**

1. Primerler:

- ✓ İç Primer (İinner) A.....1 µl
- ✓ İç Primer (İinner) G.....1 µl
- ✓ Dış Primer (Outher) 1.....1 µl
- ✓ Dış Primer (Outher) 2.....1 µl

2. dH₂O.....13 µl

3. Kalıp DNA 3,0 µl

Toplam20 µl

PCR uygulamasında kullanılacak olan 0.2 ml'lik tüplere tüm bileşenler eklendi ve pipetleme yöntemi ile homojen hale getirilip ardından kısa süreli santrifüj işlemi uygulandı. Ardından tüpler termal döngü cihazına (Thermal cycler MiniAmp Plus) yerleştirildi.

- **PCR Protokolü**

Tetra ARMS-PCR reaksiyonu aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerden oluşan program kullanılarak gerçekleştirildi:

- ✓ Başlangıç denatürasyonu: 94 °C'de 10 dakika
- ✓ Amplifikasyon döngüleri (12 döngü):
 - Denatürasyon: 94 °C'de 30 saniye
 - Primer bağlanması (annealing): 55-65 °C'de 30 saniye
 - Uzama: 72 °C'de 1 dk.
- ✓ Final uzama: 72 °C'de 5 dakika olarak gerçekleştirildi ve ardından;
- ✓ Amplifikasyon döngüleri (28 döngü):
 - Denatürasyon: 94 °C'de 30 saniye
 - Primer bağlanması (annealing): 65 °C'de 30 saniye
 - Uzama: 72 °C'de 1 dk.
 - ✓ Final uzama: 72 °C'de 5 dakika (1 döngü)
 - ✓ Saklama: 4 °C'de bekletildi.

3.4.4.2 Agaroz Jel Elektroforezi ile PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi

Tetra ARMS-PCR reaksiyonu işlemi sonrasında elde edilen ürünler, %2 agaroz jel içerisinde elektroforez yöntemiyle analiz edildi. Jel yürütme işlemi 120 volt altında 20 dakika boyunca gerçekleştirildi ve referans olarak 100 bp'lik DNA Ladder (Genesta™) kullanıldı. (Şekil 3.7) Jel, Etidyum Bromür (EtBr) ile boyandı ve UV transillüminatör altında görüntülendi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 18-35 yaş aralığında 40 PKOS olgusu ve 40 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 40 birey dahil edilmiştir. Kontrol grubu ile PKOS tanısı almış olan hasta grubu, çalışma parametreleri açısından analiz edilmiş, normal dağılım göstermeyen parametreler için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Çalışmaya ait parametrelerin ortalama ya da medyan değerlerinin anlamlılığını belirlemek için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır ve $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmamızda yaş ($p=0,099$) ve VKİ ($p=0,065$) her iki değişkende de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum, hasta ve kontrol gruplarının yaş ve VKİ'ye göre uygun ve karşılaştırılabilir olduğunu göstermiştir. D Vitamini (ng/ml) ($p=0,279$) hasta grubunda median düzey daha yüksek bulunmuştur. Ferritin (ng/ml) ($p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Hasta grubunda ferritin düzeyleri anlamlı şekilde daha düşüktür. AMH (ng/ml) değeri PKOS grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

Analizler sonucunda gruplar arasında anlamlı bulunması beklenen ve Elisa yöntemi ile bakılan GPER ($p<0,001$) hasta grubunda anlamlı şekilde yüksekken, Kopeptin ($p=0,557$) değerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 4.1)

Buna karşın, Glikoz (mg/dL), HbA1c %, TSH (μ IU/mL), Prolaktin (ng/ml), Estradiol (mIU/ml) FSH (mIU/ml), LH (mIU/ml) düzeyleri arasında tablo 6.1'e bakıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.1).

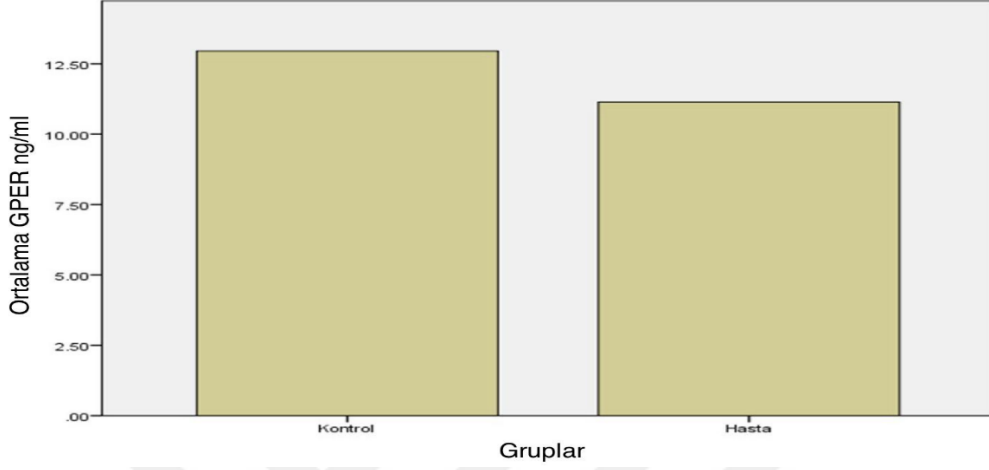
Tablo 4.1. Kontrol ve Hasta Gruplarının Karşılaştırılması

	Kontrol n= 40	Hasta n= 40	P-Değeri
Yas	26,7±3,5	28,0±3,1	0,099*
VK	23,4±1,6	24,1±1,9	0,065*
Glukoz mg/dl	91,7±7,0	92,5±8,3	0,656*
ALT U/L	15,1±2,0	15,5±2,8	0,473*
AST U/L	16,1±2,8	16,9±3,1	0,390*
Urea mg/dl	19,4±4,0	17,9±3,9	0,107*
Kreatinin mg/dl	0,8 (0,6 – 2,6)	0,8 (0,6 – 1,2)	0,933**
HbA1C %	5,6±0,3	5,6±0,3	0,893*
Dvitamin ng/ml	22,7 (7,7 – 56,7)	27,2 (2,7 – 98,6)	0,279**
Ferritin ng/ml	36,0 (2,7-98,6)	15,7 (5,5 – 20,8)	<0,001**
TSH uIU/ml	1,5 (0,4 – 3,5)	1,5 (0,4 – 5,0)	0,795**
Estradiol mIU/ml	24,9 (16,2 – 89,2)	26,5 (15,2 – 111,0)	0,889**
FSH mIU/ml	7,0±1,6	6,7±1,6	0,489*
LH mIU/ml	5,8 (2,1 – 12,5)	5,8 (2,2 – 12,1)	0,916**
Prolaktin ng/ml	17,5 (9,6 – 24,5)	15,9 (6,9 – 65,4)	0,171**
AMH ng/ml	2,0 (1,5 – 3,0)	5,9 (4,1 – 7,6)	<0,001**
GPER ng/ml	4,9 (3,0 – 31,9)	8,4 (5,0 – 16,1)	<0,001*
Kopeptin ng/ml	7,8 (1,9 – 55,9)	7,7 (2,6 – 55,9)	0,557**

*Independent samples t-test, $p<0,05$ (Bağımsız örneklem t-testi, $p<0,05$)

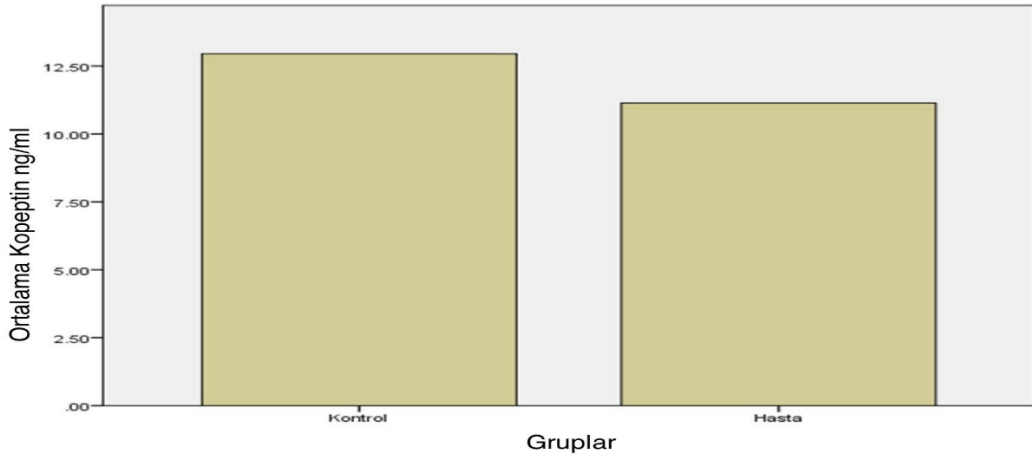
**Mann-Whitney U Testi, $p<0,05$

PKOS ve kontrol grubuna ait GPER düzeylerinin grafiksel gösterimi Şekil 4.1'deki gibidir. Hasta grubunda GPER düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Şekil 4.1)



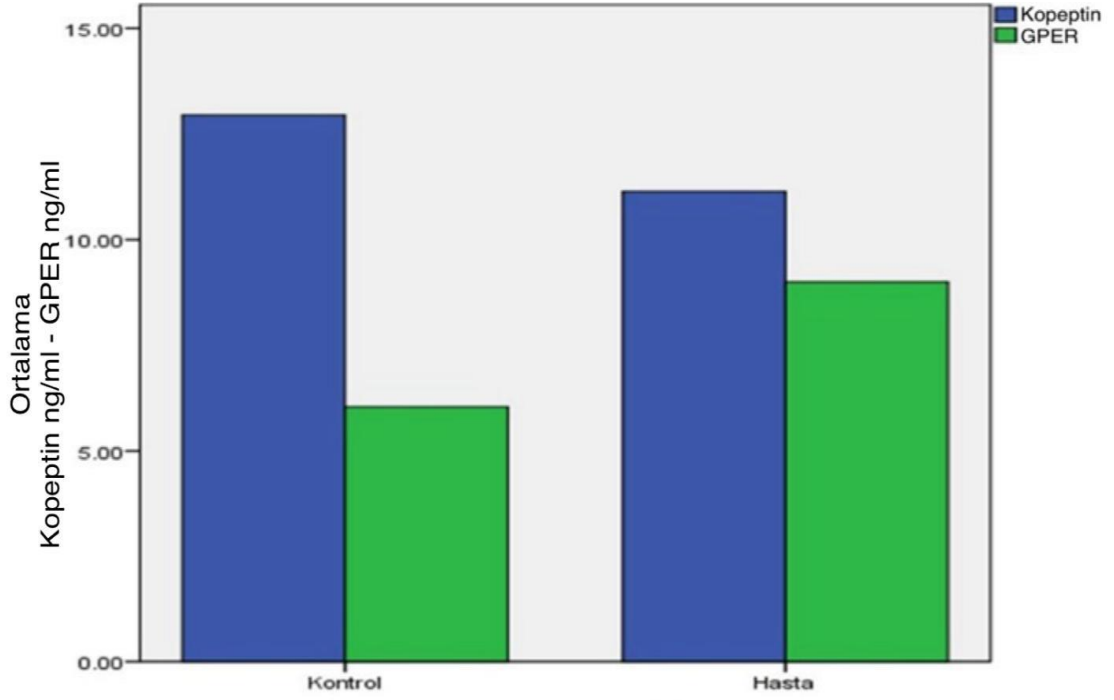
Şekil 4.1 GPER Düzeylerinin Gruplara Göre Dağılımı

Kontrol grubunda kopeptin (ng/ml) düzeylerinin, hasta grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir ancak p-değeri 0,557 göz önünde bulundurulduğunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



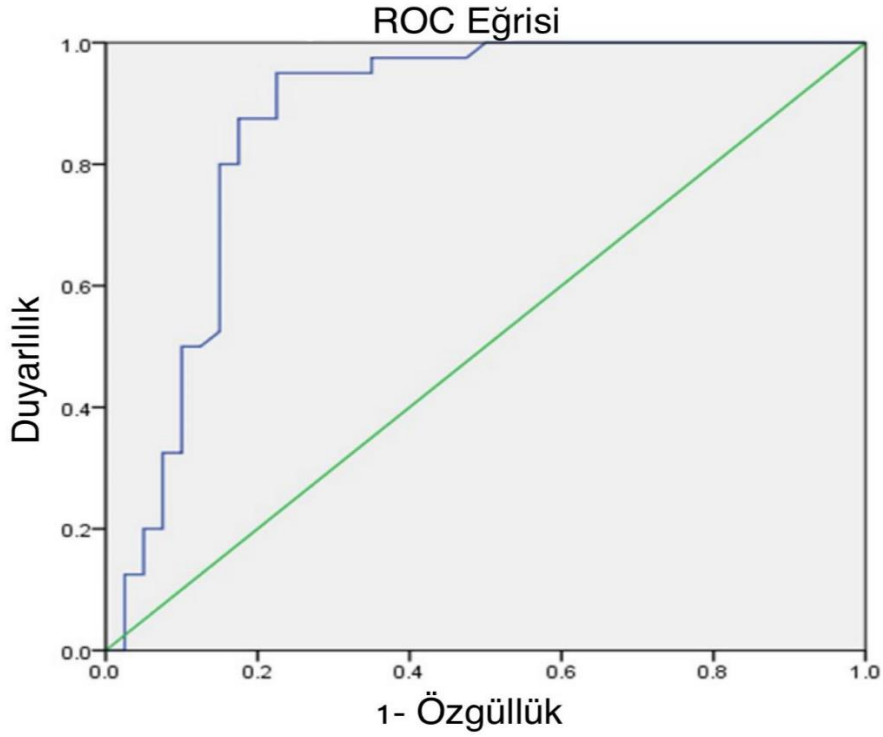
Şekil 4.2 Kopeptin Düzeylerinin Gruplara Göre Dağılım

Bir sonraki aşamada PKOS tanısı alan grup ve kontrol grubu kopeptin ve GPER (ng/ml) düzeyleri yönünden karşılaştırılmıştır. Kopeptin (ng/ml) düzeyleri her iki grupta da yüksek olmakla birlikte, kontrol grubunda hasta grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. GPER (ng/ml) düzeylerinin ise hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Hasta ve Kontrol Gruplarında Kopeptin ve GPER Düzeylerinin Karşılaştırılması

Şekil 4.4'te bulunan ROC eğrileri incelendiğinde, GPER, istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p < 0,001$) ve eğri altında kalan alan (AUC) 0,871 olarak bulunmuştur ve 6,52 kesim noktasında (95% güven aralığı: 0,784 – 0,957), duyarlılık %95,0, özgüllük ise %77,5 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 GPER (ng/ml) Biyobelirtecine Ait ROC Eğrileri ile Tanısal Performansın Karşılaştırılması

Çalışmamızın ikinci basamağında olguların GPER gen polimorfizmi TETRA ARMS PCR yöntemi belirlenmiştir. Çalışmaya 34 PKOS tanısı almış kadın hasta ve 36 sağlıklı kadın (kontrol grubu) olmak üzere toplamda 70 olgu dahil edilmiştir. PKOS ve kontrol grubu arasındaki parametrelerin karşılaştırılması OR, olasılık oranı (odds ratio) değerler n (%) şeklinde gösterilmiştir. GPER (rs3808350) gen polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları hasta (n=34) ve kontrol (n=36) grupları arasında yaptığımız TETRA ARMS PCR ile PKOS ve sağlıklı kontrol grubunun GPER geninin rs3808350 polimorfizmi genotiplendirilmesi Tablo 6.2'de sunulmuştur. Genotip dağılımları incelendiğinde, PKOS hastaları ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Hasta grubunda AA genotipi %5,8 AG genotipi %32,4 ve GG genotipi %61,8 oranında tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise AA %36,1, AG %36,1 ve GG %27,8 oranında gözlenmiştir.

Alel frekansları açısından değerlendirildiğinde, A aleli hasta grubunda %22,06 kontrol grubunda ise %54,17, G aleli hasta grubunda %77,94, kontrol grubunda %45,83 oranında saptanmış bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Dominant model (AA+AG:GG) analizinde $p=0.24$ ve resesif model (AA vs AG+GG) analizinde $p=0.04$ bulunmuştur (Tablo 4.2).

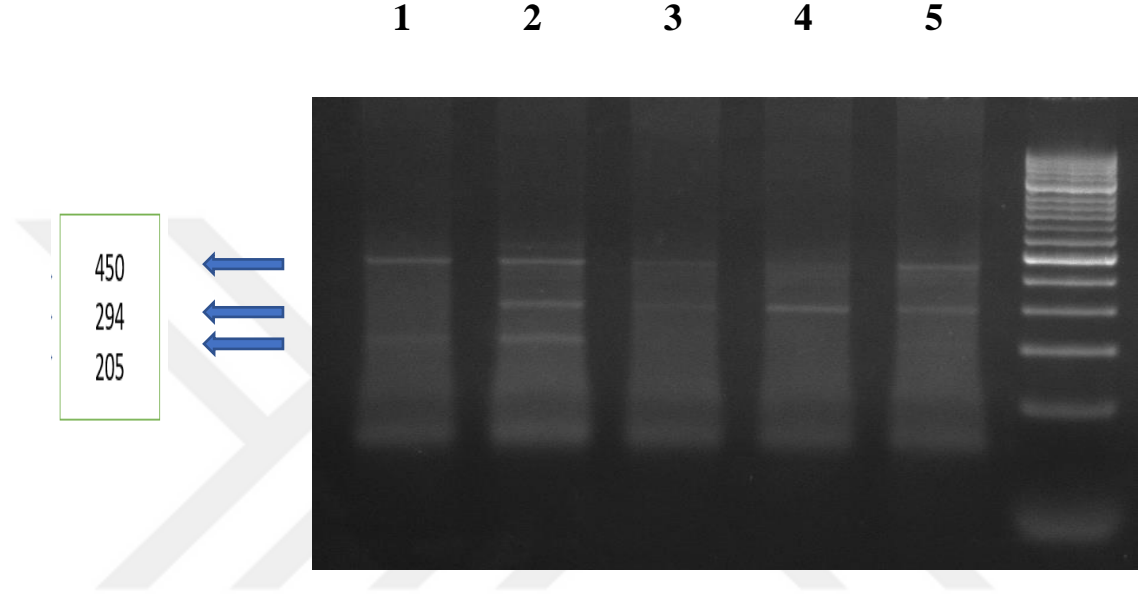
Tablo.4.2 GPER (rs7799039) Polimorfizminin Genotip ve Alel Dağılımının PKOS ve Normal Bireylerde Karşılaştırılması

Gen Polimorfizmi	Total Hasta n=34(%)	Kontrol n=36 (%)	<i>p</i>	OR (95% CI)
(GPER (rs3808350)				
Genotip				
AA	2 (% 5,8)	13 (%36,1)		
AG	11 (% 32,4)	13(%36,1)	$p=0,0015$	
GG	21 (%61,8)	10 (%27,8)		
Allel				
A	15 (%22,06)	39 (%54,17)	$p = 0,000$	0,24(0,11-0,50)
G	53 (%77,94)	33 (%45,83)		
AA+AG:GG	13:21	26:10	$p=0,008$	0,24 (0,08-0,72)
AA:AG+GG	2:32	13:23	$p=0,000$	0,04 (0,01-0,16)

Sonuç itibariyle sırasıyla $p=0,0015$, $p=0,000$. AA, AG, GG frekansı PKOS hastalarında anlamlı fark göstermiştir. A aleli ve AA genotipi hastalarda kontrol grubuna göre daha az bulunmuştur. GG genotipi ve G aleli, PKOS hastalarında daha sık görülmüştür. Odds ratio (OR) değerleri PKOS ile ilişkiyi kuvvetli biçimde destekliyor. Özellikle A aleli koruyucu, G aleli risk faktörü olarak düşünülebilir (Tablo 4.2).

TETRA-ARMS PCR yöntemiyle hedeflenen gen bölgesine ait polimorfizmin genotip tayini gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri, %2'lik agaroz jelde elektroforez ile

ayrıştırılmış ve UV transillüminatör altında floresan boya aracılığıyla görüntülenmiştir. Jel üzerinde gözlemlenen bant desenleri, her bir örneğin ilgili polimorfizme ait genotipini belirlemek amacıyla değerlendirilmiştir (Şekil 4.5). DNA merdiveni (marker) kullanılarak bant boyutlarının doğruluğu teyit edilmiştir. Sonuç olarak, elde edilen jel elektroforez görüntüsü, TETRA-ARMS PCR yönteminin genotip tayininde yüksek özgüllüğe ve ayırt ediciliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil.4.5. TETRA ARMS PCR ile Elde Edilen Bant Boyları Görüntüsü.

(A aleli → 205 bp (iç primer ürünü), G aleli → 294 bp (iç primer ürünü) Dış primer → 450 bp (kontrol bandı) olarak değerlendirildiğinde; sadece 205 ve 450 bp bantları → Homozigot AA sadece 294 ve 450 bp bantları → Homozigot GG ve sadece 205, 294 ve 450 bp bantları → Heterozigot AG olduğu gözlenmektedir.)

GPER (rs13808350) polimorfizmine ait TETRA ARMS PCR sonuçları incelendiğinde, bireyler AA (n=15), AG (n=24) ve GG (n=31) genotiplerine göre gruplandırılmış ve ilgili klinik ve biyokimyasal parametreler arasında anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirilmiştir. Her bir parametre için medyan (min–maks) değerleri verilmiş ve gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Kreatinin (mg/dl) düzeyleri, genotip grupları arasında anlamlı farklılık göstermiştir (p=0,022). Ferritin (mg/dl) düzeyleri de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir (p=0,007). Ferritin düzeyinin GG grubunda belirgin şekilde daha

düşük olduğu gözlemlenmiştir. GPER (ng/ml) düzeyleri açısından da gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,021). Yaş, glukoz (mg/dl), ALT (U/L), AST (U/L), HbA1c %, D vitamini (ng/ml), TSH (uIU/ml), estradiol (mIU/ml), FSH (mIU/ml), LH (mIU/ml), prolaktin (ng/ml) ve AMH (ng/ml) gibi parametrelerde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0,05). Ayrıca VKİ açısından gruplar arasında fark sınırda anlamlı bulunmuştur (p=0,050). Sonuç olarak, bu analiz genotipin bazı biyokimyasal parametreler (özellikle kreatinin, ferritin ve GPER) üzerinde etkili olabileceğini ortaya koymuştur (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Çalışma Parametrelerinin AA, AG ve GG Grupları Arasında Karşılaştırılması

	AA n= 15 (Kontrol= 13 Hasta= 2)	AG n= 24 (Kontrol= 13 Hasta= 11)	GG n= 31 (Kontrol= 10 Hasta= 21)	P-Değeri
Yas	24,0 (20,0 – 30,0)	24,5 (18,0 – 34,0)	25,0 (18,0 – 34,0)	0,768*
VKİ	23,0 (21,0 –26,0)	22,0 (19,0 – 28,0)	24,0 (20,0 – 28,00)	0,050*
Glukoz mg/dl	92,4 (88,0 – 101,0)	92,3 (78,6 – 105,1)	92,6 (75,6 – 111,0)	0,873*
ALT U/L	15,0 (11,0 – 18,0)	16,0 (10,0 – 22,0)	15,1 (10,0 – 19,1)	0,094*
AST U/L	17,0 (14,0 – 20,0)	16,0 (10,0 – 22,0)	16,2 (10,0 – 23,0)	0,716*
Urea mg/dl	19,0 (12,6 – 22,6)	17,6 (12,6 – 27,8)	18,6 (12,6 – 29,1)	0,450*
Kreatinin mg/dl	0,8 (0,8 – 1,5)	0,7 (0,6 – 1,4)	0,8 (0,6 – 2,6)	0,022*
HbA1C %	5,6 (5,4 – 6,1)	5,6 (4,9 – 6,1)	5,6 (4,9 – 6,1)	0,818*
D vit ng/ml	19,8 (7,7 – 40,1)	29,0 (14,7 – 85,6)	22,7 (2,7 – 98,6)	0,086*
Ferritin ng/ml	35,6 (8,9- 59,2)	20,7 (8,5 – 66,6)	15,9 (5,5 – 66,6)	0,007*
TSH uIU/ml	1,5 (0,9 – 5,0)	1,7 (0,4 – 2,9)	1,2 (0,4 – 3,5)	0,273*
Estradiol mIU/ml	25,1 (16,5 – 34,3)	24,2 (16,2 – 42,2)	26,6 (15,2 – 111,0)	0,347*
FSH mIU/ml	7,4 (4,7 – 9,1)	6,8 (4,1 – 9,8)	6,4 (4,1 –9,4)	0,361*
LH mIU/ml	5,8 (3,0 – 10,6)	5,4 (2,2 – 12,5)	6,1 (3,9 – 12,1)	0,166*
Prolaktin ng/ml	17,5 (9,5 – 24,5)	16,0 (7,0 – 23,5)	17,3 (11,5 – 65,4)	0,244*
AMH ng/ml	2,1 (1,9 – 4,6)	6,0 (1,9 – 7,6)	4,9 (1,5 – 6,5)	0,162*
GPER ng/ml	4,9 (3,0 – 9,5)	6,7 (3,5 – 16,1)	7,8 (3,2 – 14,01)	0,021*
Kopeptin ng/ml	6,8 (2,2 – 41,2)	9,6 (1,9 – 36,8)	7,6 (4,1 – 55,9)	0,248*

*Kruskal Wallis Test, p<0,05.

AA (n=15) ve AG (n=24) genotipine sahip bireyler arasında yapılan karşılaştırmada, çoğu klinik ve biyokimyasal parametrede istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.4). Kreatinin (mg/dl) düzeyi, AG grubunda AA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur (p=0,009). D vitamini (mg/dl) düzeyleri AG grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır (p=0,015). ALT (U/L) düzeyi AG grubunda daha yüksek olmasına rağmen fark sınırdan anlamlılık göstermiştir (p=0,066). GPER (ng/ml) düzeyleri, AG grubunda daha yüksek olup anlamlılık sınırına yaklaşmıştır (p = 0,059). Kopeptin (ng/ml) düzeyi, AG grubunda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,081). Diğer parametreler yaş, VKİ, glukoz (mg/dl), AST (U/L), HbA1c %, ferritin (ng/ml), TSH (uIU/ml), estradiol (mIU/ml), FSH (mIU/ml), LH (mIU/ml), prolaktin (ng/ml), AMH (ng/ml) açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05). AA ve AG genotipleri arasında özellikle kreatinin ve D vitamini düzeyleri açısından anlamlı farklar gözlenmiştir. Ayrıca ALT U/L, GPER (ng/ml) ve Kopeptin (ng/ml) düzeylerinde anlamlılığa yakın farklar tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. AA ve AG Genotip Grupları Arasında Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması

	AA n= 15	AG n= 24	P-Değeri
Yas	24,0 (20,0 – 30,0)	24,5 (18,0 – 34,0)	0,921*
VKİ	23,0 (21,0 – 26,0)	22,0 (19,0 – 28,0)	0,875*
Glukoz mg/dl	92,4 (88,0 – 101,0)	92,3 (78,6 – 105,1)	0,786*
ALT U/L	15,0 (11,0 – 18,0)	16,0 (10,0 – 22,0)	0,066*
AST U/L	17,0 (14,0 – 20,0)	16,0 (10,0 – 22,0)	0,399*
Urea mg/dl	19,0 (12,6- 22,6)	17,6 (12,6 – 27,8)	0,202*
Kreatinin mg/dl	0,8 (0,8 – 1,5)	0,7 (0,6 – 1,4)	0,009*
HbA1C %	5,6 (5,4 – 6,1)	5,6 (4,9 – 6,1)	0,558*
Dvitamin ng/ml	19,8 (7,7 – 40,1)	29,0 (14,7 – 85,6)	0,015*
Ferritin ng/ml	35,6 (8,9- 59,2)	20,7 (8,5 – 66,6)	0,352*
TSH uIU/ml	1,5 (0,9 – 5,0)	1,7 (0,4 – 2,9)	0,399*
Estradiol mIU/ml	25,1 (16,5 – 34,3)	24,2 (16,2 – 42,2)	0,679*
FSH mIU/ml	7,4 (4,7 – 9,1)	6,8 (4,1 – 9,8)	0,618*
LH mIU/ml	5,8 (3,0 – 10,6)	5,4 (2,2 – 12,5)	1,0*
Prolaktin ng/ml	17,5 (9,5 – 24,5)	16,0 (7,0 – 23,5)	0,172*
AMH ng/ml	2,1 (1,9 – 4,6)	6,0 (1,9 – 7,6)	0,147*
GPER ng/ml	4,9 (3,0 – 9,5)	6,7 (3,5 – 16,1)	0,059*
Kopeptin ng/ml	6,8 (2,2 – 41,2)	9,6 (1,9 – 36,8)	0,081*

*Mann-Whitney U Testi, p<0,05.

Çalışma kapsamında AA (n=15) ve GG (n=31) genotipine sahip bireyler arasında yapılan karşılaştırmada, bazı biyokimyasal parametrelerde anlamlı farklar saptanmıştır. Ferritin (ng/ml) düzeyi, GG grubunda AA grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur (p=0,009). GPER (ng/ml) düzeyi, GG grubunda belirgin şekilde daha yüksek saptanmıştır (p = 0,005). VKİ açısından GG grubunda daha yüksek bir eğilim gözlenmiş olmakla birlikte, fark istatistiksel anlamlılık sınırında kalmıştır (p=0,068). Yaş, glukoz (mg/dl), ALT (U/L), AST (U/L), üre (mg/dl), kreatinin (mg/dl), HbA1c, D vitamini (ng/ml), TSH (uIU/ml), estradiol (mIU/ml), FSH (mIU/ml), LH (mIU/ml), prolaktin (ng/ml), AMH (ng/ml) ve kopeptin (ng/ml) düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p >0,05). Bu bulgu, GG ve AA genotiplerinin genel biyokimyasal ve hormonal profil açısından büyük ölçüde benzer özellikler gösterdiğini ortaya koymaktadır. AA ve GG genotip grupları arasında özellikle ferritin düzeylerinde anlamlı bir azalma ve GPER düzeylerinde belirgin bir artış saptanmıştır (Tablo 4.5)

Tablo 4.5. AA ve GG Genotip Grupları Arasında Klinik ve Biyokimya Parametrelerinin Karşılaştırılması

	AA n= 15	GG n= 31	P-Değeri
Yas	24,0 (20,0 – 30,0)	25,0 (18,0 – 34,0)	0,310*
VKİ	23,0 (21,0 – 26,0)	24,0 (20,0 – 28,00)	0,068*
Glukoz mg/dl	92,4 (88,0 – 101,0)	92,6 (75,6 – 111,0)	0,590*
ALT U/L	15,0 (11,0 – 18,0)	15,1 (10,0 – 19,1)	0,554*
AST U/L	17,0 (14,0 – 20,0)	16,2 (10,0 – 23,0)	0,715*
Urea mg/dl	19,0 (12,6- 22,6)	18,6 (12,6 – 29,,1)	0,354*
Kreatinin mg/dl	0,8 (0,8 – 1,5)	0,8 (0,6 – 2,6)	0,178*
HbA1C %	5,6 (5,4 – 6,1)	5,6 (4,9 – 6,1)	0,654*
Dvitamin ng/ml	19,8 (7,7 – 40,1)	22,7 (2,7 – 98,6)	0,426*
Ferritin ng/ml	35,6 (8,9- 59,2)	15,9 (5,5 – 66,6)	0,009*
TSH uIU/ml	1,5 (0,9 – 5,0)	1,2 (0,4 – 3,5)	0,105*
Estradiol mIU/ml	25,1 (16,5 – 34,3)	26,6 (15,2 – 111,0)	0,418*
FSH mIU/ml	7,4 (4,7 – 9,1)	6,4 (4,1 – 9,4)	0,205*
LH mIU/ml	5,8 (3,0 – 10,6)	6,1 (3,9 – 12,1)	0,136*
Prolaktin ng/ml	17,5 (9,5 – 24,5)	17,3 (11,5 – 65,4)	0,972*
AMH ng/ml	2,1 (1,9 – 4,6)	4,9 (1,5 – 6,5)	0,114*
GPER ng/ml	4,9 (3,0 – 9,5)	7,8 (3,2- 14,01)	0,005*
Kopeptin ng/ml	6,8 (2,2 – 41,2)	7,6 (4,1 – 55,9)	0,246*

*Mann-Whitney U Testi p<0,05.

Bu çalışmada AG (n=24) ve GG (n=31) genotipine sahip bireyler arasında biyokimyasal, hormonal ve klinik parametreler açısından yapılan karşılaştırmada, anlamlı farklılık gösteren bazı parametreler tespit edilmiştir. Ferritin (ng/ml) düzeyleri, GG grubunda AG grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur (p = 0,012). VKİ, GG grubunda daha yüksek bulunmuş ve fark istatistiksel anlamlılık sınırında seyretmiştir (p = 0,064) (Tablo 4.6).

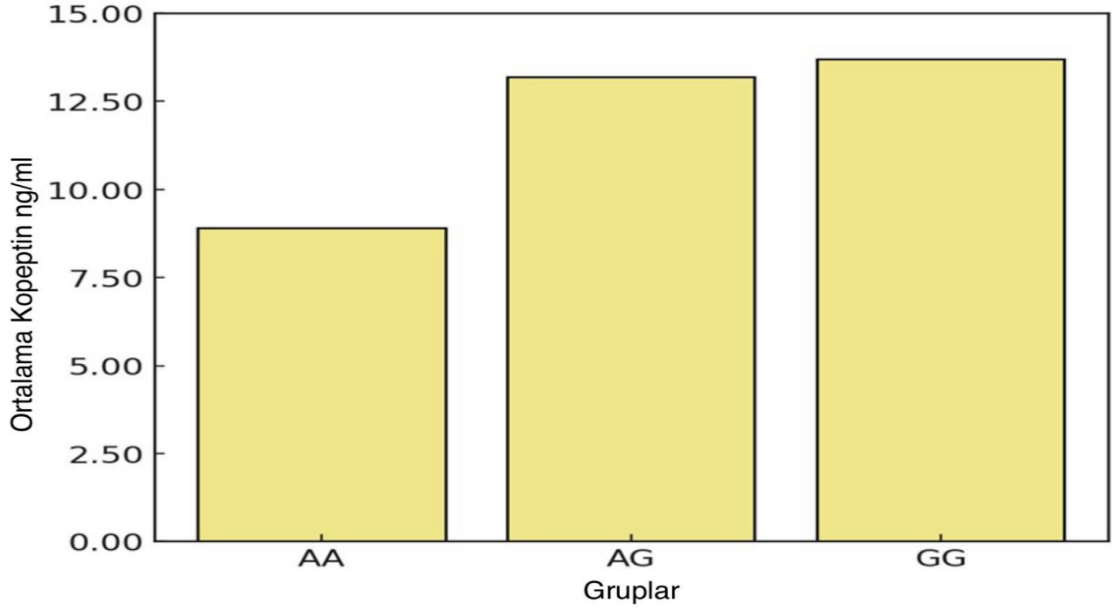
Bu durum, GG genotipinin VKİ ile ilişkili olabileceği yönünde bir eğilim göstermektedir. ALT (U/L) düzeyi, AG grubunda daha yüksek olup anlamlılığa yakın bir fark saptanmıştır (p = 0,072). Kreatinin (mg/dl) düzeyi, GG grubunda daha yüksek saptanmış olup fark anlamlılığa yakın düzeydedir (p = 0,078). Yaş, glukoz mg/dl, AST (U/L), üre (mg/dl), HbA1c %, D vitamini (ng/ml), TSH (uIU/ml), estradiol (mIU/ml), FSH (mIU/ml), LH (mIU/ml), prolaktin (ng/ml), AMH (ng/ml), GPER (ng/ml) ve kopeptin (ng/ml) düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p >0,05) (Tablo 4.6)

Tablo 4.6. AG ve GG Genotip Grupları Arasında Klinik ve Biyokimya Analizi Parametrelerinin Karşılaştırılması

	AG n= 24	GG n= 31	P-Değeri
Yas	24,5 (18,0 – 34,0)	25,0 (18,0 – 34,0)	0,939*
VK	22,0 (19,0 – 28,0)	24,0 (20,0 – 28,0)	0,064*
Glukoz mg/dl	92,3 (78,6 – 105,1)	92,6 (75,6 – 111,0)	0,825*
ALT U/L	16,0 (10,0 – 22,0)	15,1 (10,0 – 19,1)	0,072*
AST U/L	16,0 (10,0 – 22,0)	16,2 (10,0 – 23,0)	0,657*
Urea mg/dl	17,6 (12,6 – 27,8)	18,6 (12,6 – 29,1)	0,721*
Kreatinin mg/dl	0,7 (0,6 – 1,4)	0,8 (0,6 – 2,6)	0,078*
HbA1C %	5,6 (4,9 – 6,1)	5,6 (4,9 – 6,1)	0,785*
Dvitamin ng/ml	29,0 (14,7 – 85,6)	22,7 (2,7 – 98,6)	0,206*
Ferritin ng/ml	20,7 (8,5 – 66,6)	15,9 (5,5 – 66,6)	0,012*
TSH uIU/ml	1,7 (0,4 – 2,9)	1,2 (0,4 – 3,5)	0,455*
Estradiol mIU/ml	24,2 (16,2 – 42,2)	26,6 (15,2 – 111,0)	0,156*
FSH mIU/ml	6,8 (4,1 – 9,8)	6,4 (4,1 – 9,4)	0,304*
LH mIU/ml	5,4 (2,2 – 12,5)	6,1 (3,9 – 12,1)	0,101*
Prolaktin ng/ml	16,0 (7,0 – 23,5)	17,3 (11,5 – 65,4)	0,135*
AMH ng/ml	6,0 (1,9 – 7,6)	4,9 (1,5 – 6,5)	0,319*
GPER ng/ml	6,7 (3,5 – 16,1)	7,8 (3,2- 14,01)	0,441*
Kopeptin ng/ml	9,6 (1,9 – 36,8)	7,6 (4,1 – 55,9)	0,641*

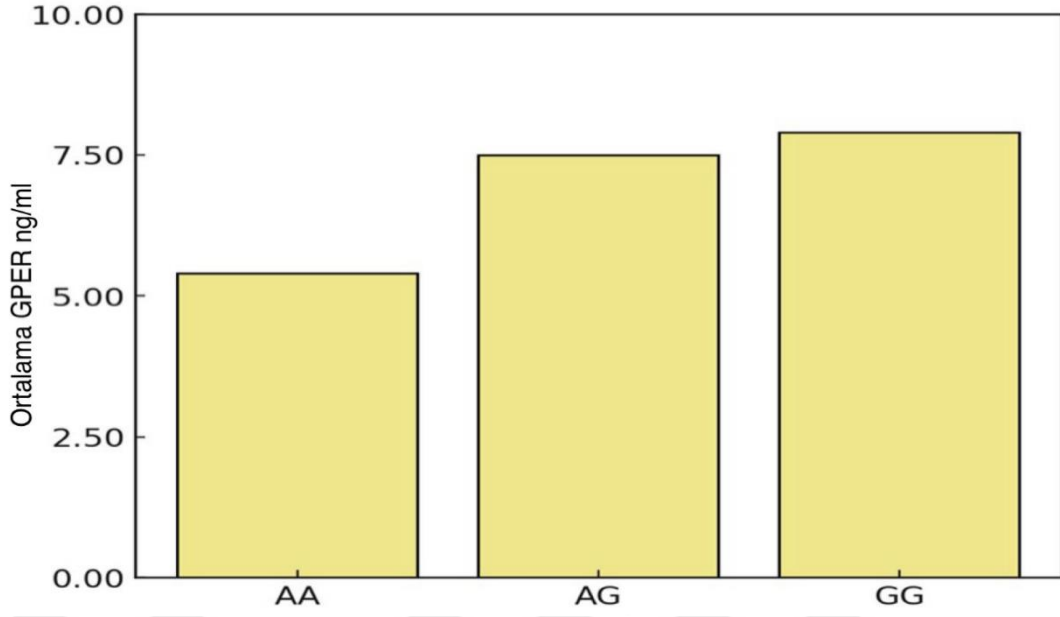
*Mann-Whitney U Testi, p<0,05.

Kopeptin düzeylerinin ortalama değerleri AA, AG ve GG genotiplerine göre Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Buna göre AA grubunda kopeptin düzeyi en dŐuk ortalamaya sahiptir. AG ve GG gruplarında kopeptin düzeyleri daha yüksektir. GG grubunda kopeptin düzeyi en yüksek ortalama değere ulaŐmıŐtır. Özellikle AA grubuna kıŐıla AG ve GG gruplarında belirgin bir artış gözlenmektedir (Şekil 4.6)



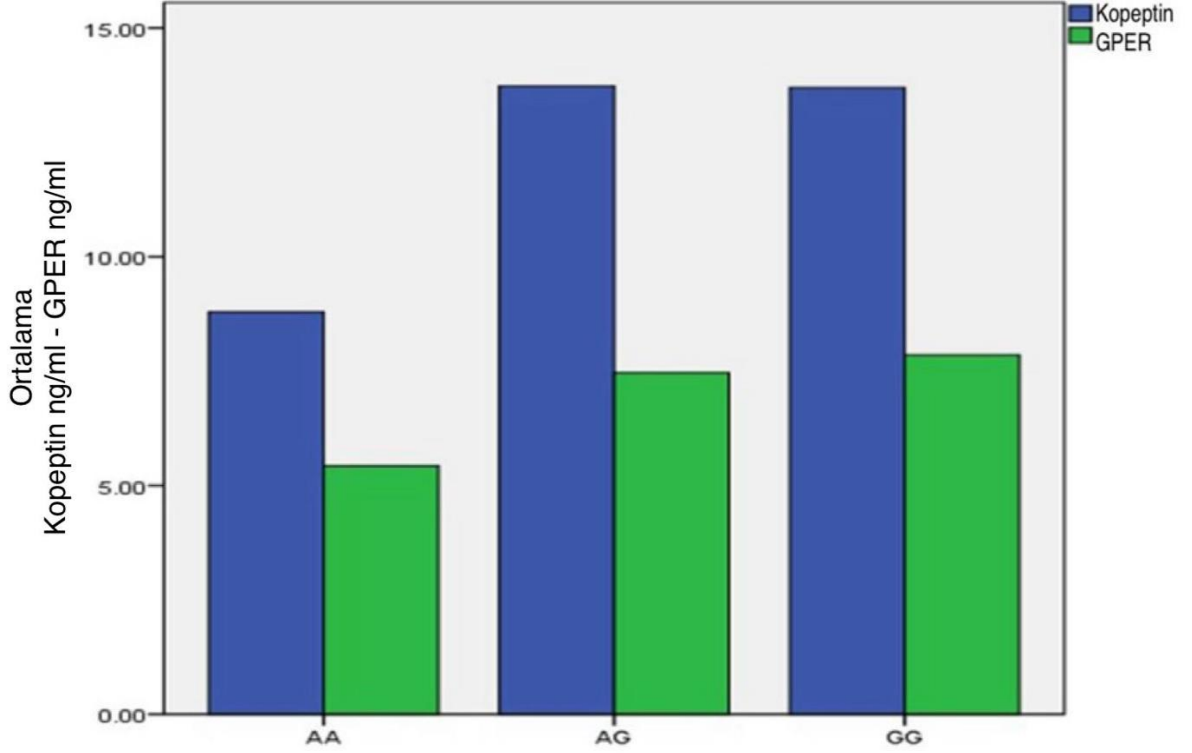
Şekil 4.6 Kopeptin Düzeylerinin Genotip Gruplarına Göre Karşılaştırılması

Şekil 4.7'te GPER düzeylerinin genotip gruplarına göre ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bulgular Őu Őekildedir: AA grubunda GPER düzeyi ortalama olarak en dŐuktur. AG grubunda GPER düzeyi AA'ya kıyasa belirgin Şekilde artış göstermektedir. GG grubunda ise GPER düzeyi en yüksek ortalama değere sahiptir. AA – GG karşılaştırmasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p = 0,005$) (Şekil 4.7)



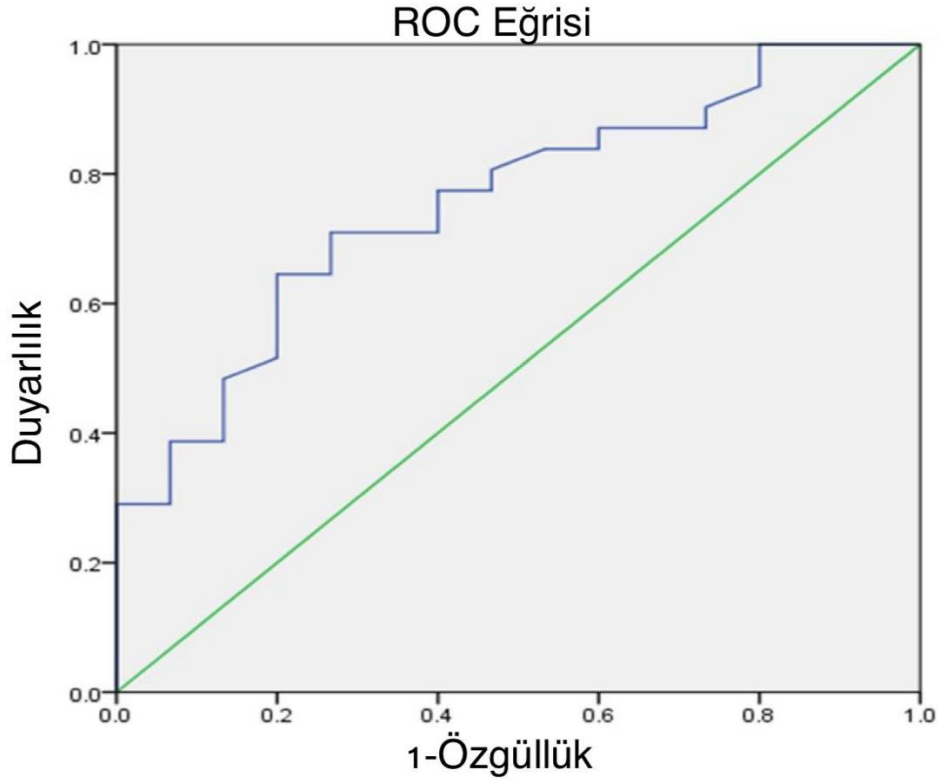
Şekil 4.7. GPER Düzeylerinin Genotip Gruplarına Göre Karşılaştırılması

Şekil 4.8’de Kopeptin ve GPER düzeylerinin genotip gruplarına (AA, AG, GG) göre ortalama değerleri sunulmuştur. AA grubunda, her iki parametrenin de ortalama düzeyleri en düşüktür. AG grubunda hem kopeptin hem de GPER düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. GG grubunda, Kopeptin düzeyi AG ile benzer seviyede kalırken GPER düzeyi AG’ye göre hafif artış göstermiştir. GPER düzeyleri açısından genotipler arasında anlamlı farklılık mevcuttur (AA – GG karşılaştırmasında $p = 0,005$). Kopeptin düzeyleri açısından ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (AA – GG $p = 0,246$) (Şekil 4.8)



Şekil 4.8. Genotiplere Göre Kopeptin ve GPER Düzeylerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması

GPER'in AA ve GG gruplarını ayırt etmedeki tanısal yeteneğini değerlendirmek amacıyla ROC analizi gerçekleştirildi. GPER, istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdi ($p=0,005$) ve eğri altında kalan alan (AUC) 0.756 olarak bulundu. 6,8 kesim noktasında (%95 güven aralığı: 0,612 – 0,899), duyarlılık %64,5, özgüllük ise %80,0 olarak belirlendi (Şekil 4.9)



Şekil 4.9. GPER'in AA ve GG Gruplarını Ayırt Etmedeki Tanısal Yeteneğini Değerlendirmek Amacıyla Yapılan ROC Analizi

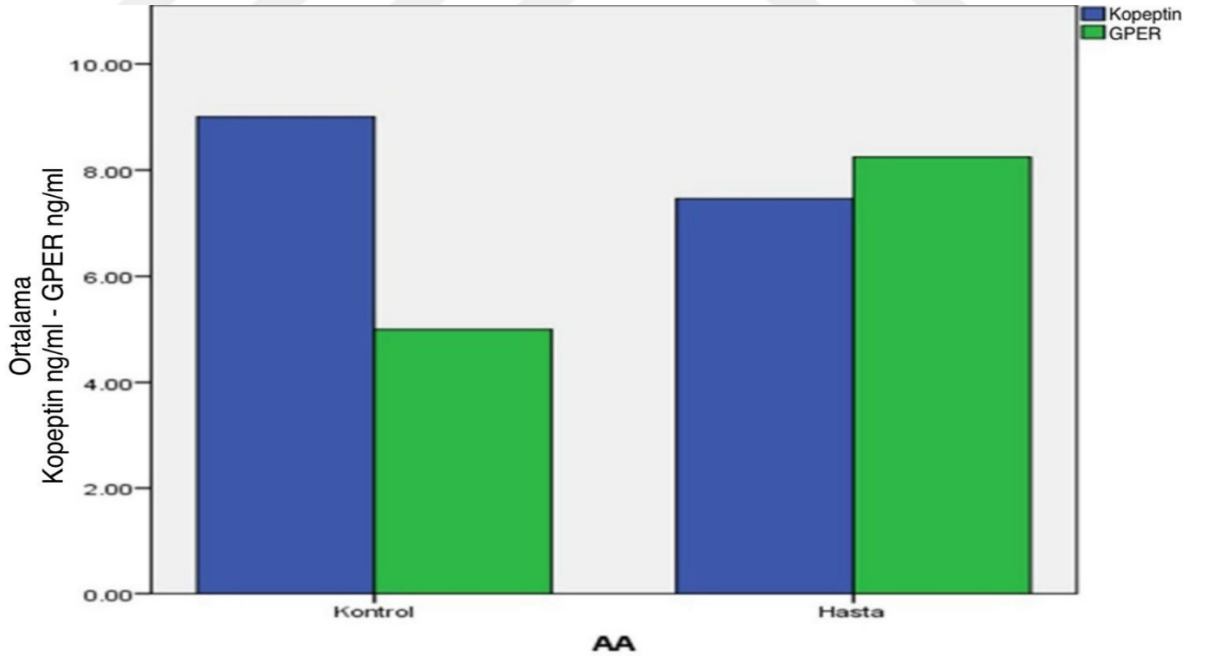
GPER (rs3808350) polimorfizmine sahip bireyler arasında yalnızca AA genotipine sahip olanlar dikkate alındığında, PKOS hastaları (n=2) ile sağlıklı kontrol bireyleri (n=13) arasında Kopeptin ve GPER düzeyleri açısından yapılan analizde, kopeptin düzeyleri, PKOS grubunda 7,4 ng/ml (4,1–10,8), kontrol grubunda ise 6,7 ng/ml (2,2–41,8) olarak ölçülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p = 0,933$). GPER düzeyleri, PKOS grubunda 8,2 (7,8–8,6), kontrol grubunda ise 4,7 ng/ml (3,0–9,5) olarak bulunmuştur. GPER düzeyi PKOS hastalarında daha yüksek olmasına rağmen bu fark da istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0,076$). AA genotipine sahip PKOS hastalarında GPER düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Kopeptin düzeylerinde ise anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4.7)

Tablo 4.7. AA Genotip Grubunda Yer Alan PKOS Hastaları ile Sağlıklı Bireyler Arasında Kopeptin ve GPER Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Kontrol n= 13	Hasta n= 2	P-Değeri
Kopeptin ng/ml	6,7 (2,2 – 41,8)	7,4 (4,,1 – 10,8)	0,933*
GPER ng/ml	4,7 (3,0 – 9,5)	8,2 (7,8 – 8,6)	0,076*

*Mann-Whitney U Testi, $p < 0,05$.

Şekil 4.10'de AA Genotipine Sahip PKOS Hastaları ve kontrol gruplarında kopeptin ve GPER ortalama düzeylerini karşılaştırılmıştır. Bu grafikte, GPER rs3808350 polimorfizmine sahip AA genotipli bireylerde kopeptin ve GPER ortalama düzeyleri hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırılmıştır. PKOS grubunda GPER düzeyleri daha yüksek görünmekle birlikte, fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p = 0,076$). Kopeptin düzeyleri ise her iki grup arasında benzer bulunmuştur ($p = 0,933$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. AA Genotipine Sahip PKOS Hastaları ve Kontrol Gruplarında Kopeptin ve GPER Ortalama Düzeylerinin Karşılaştırılması

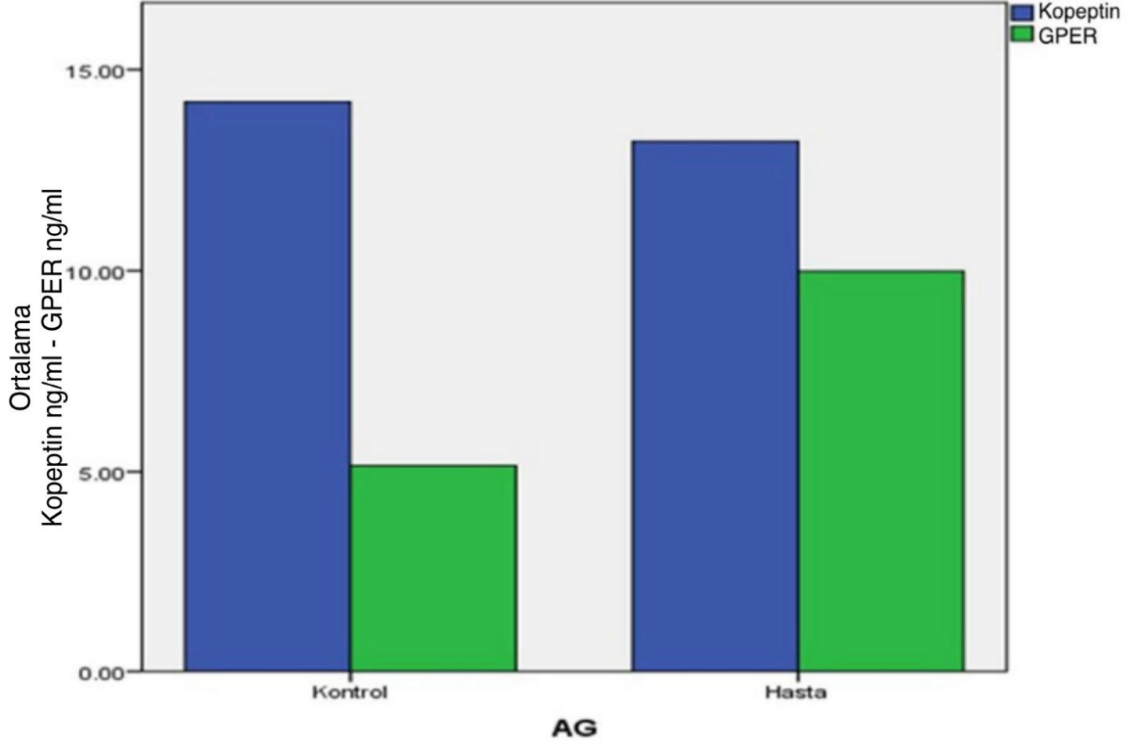
GPER (rs3808350) geni AG genotipine sahip olan bireyler arasında yapılan değerlendirmede, PKOS tanılı hastalar (n = 11) ile sağlıklı kontroller (n = 13) arasında Kopeptin ve GPER düzeyleri karşılaştırılmıştır. Kopeptin düzeyleri, hasta grubunda 9,5 ng/ml (2,6–36,8), kontrol grubunda ise 9,7 ng/ml (2,0–36,0) olarak ölçülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p = 0.820). GPER düzeyleri, hasta grubunda 9,2 ng/ml (5,7–16,1), kontrol grubunda ise 4,7 ng/ml (3,5–8,3) olarak belirlenmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p <0.001). Bu bulgular, AG genotipine sahip PKOS hastalarında GPER düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğunu, ancak Kopeptin düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmadığını göstermektedir (Tablo 4.8)

Tablo 4.8. AG Genotip Grubunda Yer Alan PKOS Hastaları ile Sağlıklı Bireyler Arasında Kopeptin ve GPER Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Kontrol n= 13	Hasta n= 11	P-Değeri
Kopeptin ng/ml	9,7 (2,0 – 36,00)	9,5 (2,6 – 36,8)	0,820*
GPER ng/ml	4,7 (3,5 – 8,3)	9,2 (5,7 – 16,1)	<0,001*

*Mann-Whitney U Testi, p<0,05.

Şekil 4.11’de GPER rs3808350 polimorfizmine sahip AG genotipli bireylerde kopeptin ve GPER ortalama düzeyleri hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılmıştır. Kopeptin düzeyleri her iki grup arasında benzer düzeylerde bulunmuştur (p = 0,820). Buna karşın, GPER düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p <0,001) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 AG Genotipine Sahip PKOS Hastaları ve Kontrol Gruplarında Kopeptin ve GPER Ortalama Düzeylerinin Karşılaştırılması

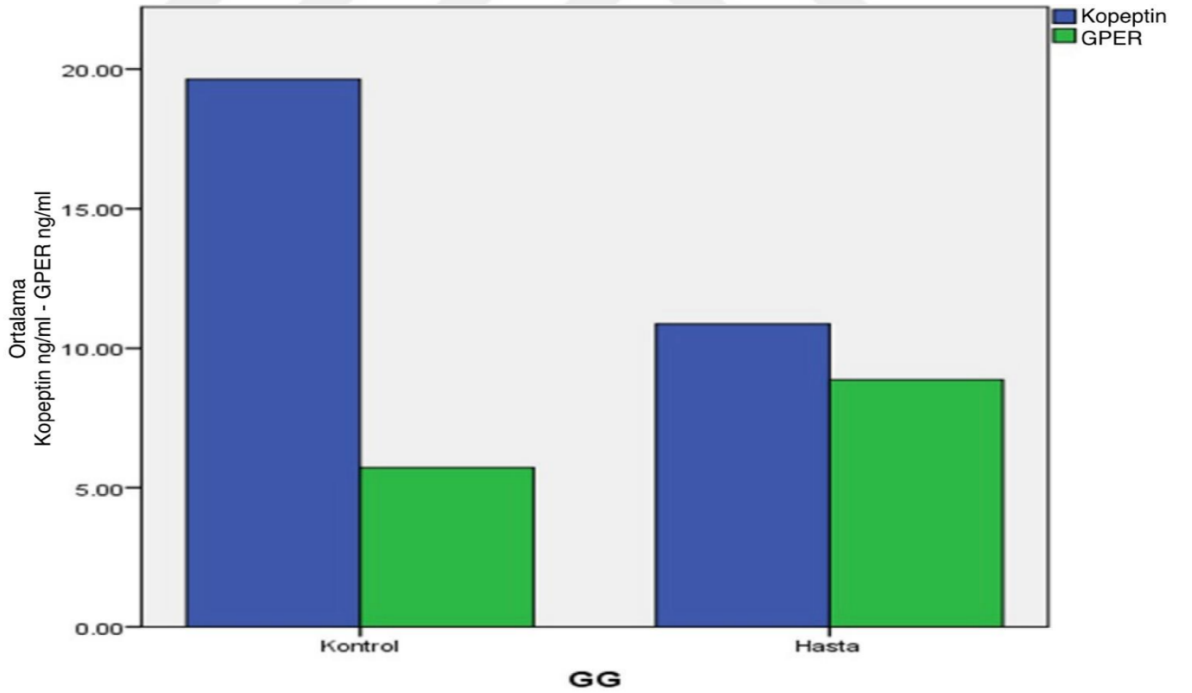
GPER (rs3808350) polimorfizmine sahip bireyler arasında GG genotipini taşıyan PKOS hastaları (n = 21) ile sağlıklı kontroller (n = 10) arasında Kopeptin ve GPER düzeyleri karşılaştırılmıştır. Kopeptin düzeyleri, hasta grubunda 7,6 ng/ml (3,9–32,0), kontrol grubunda ise 11,1ng/ml (2,5–56,0) olarak ölçülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p = 0,287). GPER düzeyleri, hasta grubunda 8,5ng/ml (5,0–14,1), kontrol grubunda ise 4,9 ng/ml (3,2–11,4) olarak belirlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p = 0,005). Bu bulgular, GG genotipine sahip bireylerde, PKOS tanılı kadınlarda GPER düzeylerinin anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu ancak kopeptin düzeylerinde anlamlı bir farklılık olmadığını göstermektedir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. GG Genotip Grubunda Yer Alan PKOS Hastaları ile Sağlıklı Bireyler Arasında Kopeptin ve GPER Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Kontrol n= 10	Hasta n= 21	P-Değeri
Kopeptin ng/ml	11,1 (2,5 – 56,0)	7,6 (3,9 – 32,0)	0,287*
GPER ng/ml	4,9 (3,2 – 11,4)	8,5 (5,0 – 14,1)	0,005*

*Mann-Whitney U Testi, $p < 0.05$.

GPER rs3808350 polimorfizmine sahip GG genotipli bireylerde kopeptin ve GPER ortalama düzeyleri hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılmıştır. Kopeptin düzeyleri, hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,287$). Öte yandan, GPER düzeyleri PKOS hastalarında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p = 0,005$) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. GG Genotipine Sahip PKOS Hastaları ve Kontrol Gruplarında Kopeptin ve GPER Ortalama Düzeylerinin Karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

PKOS, kadınlarda en yaygın görülen endokrinopatilerden biri olup, üreme çağındaki bireylerin hem metabolik sağlığını hem de psikososyal yaşam kalitesini etkileyen, heterojen klinik semptomlar ve biyokimyasal düzensizliklerle seyreden, multifaktöriyel kökenli bir hormonal ve metabolik bozukluktur (Teede ve ark., 2019).

Bu çalışmada, GPER geninin rs3808350 polimorfizmi ile serum GPER ve kopeptin düzeylerinin PKOS ile ilişkisi incelendi. Kontrol ve hasta grupları seçilirken, yaş ve VKİ açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına özen gösterildi. Bu grupların homojenliğini ve sonuçların güvenilirliğini destekleyen önemli bir bulgudur. Tablo 4.1’de hasta ve kontrol grubuna ait karşılaştırmalar yer almaktadır. Hasta grubunda GPER düzeyinin medyan olarak daha yüksek (hasta: 8,4 ng/ml, kontrol: 4,9 ng/ml) ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,001$). GPER düzeylerinin PKOS grubunda anlamlı derecede yüksek bulunması ($p < 0,001$), bu reseptörün PKOS’un patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Tablo 4.1). Özellikle östrojen aracılı sinyallemenin PKOS’taki hormonal dengesizliklere katkıda bulunduğu düşünüldüğünde, GPER’in bu süreçte aktif bir rol oynayabileceği öne sürülebilir. Bu sonuç, Zang ve arkadaşlarının PKOS’taki granüloza hücrelerinde GPER ifadesinin yüksek olduğunu gösteren çalışmasıyla uyumludur (Zang ve ark., 2016). Xu ve arkadaşları, GPER’in östrojen aracılı nongenomik yollar üzerinden folikül gelişimini etkileyerek oosit mayozunu inhibe ettiğini ve PKOS patofizyolojisine katkıda bulunduğunu bildirmiştir (Xu ve ark., 2022). Öte yandan, GPER’in sadece üreme sistemiyle sınırlı kalmayıp, metabolik süreçlerde de rol oynadığı bildirilmiştir. Abdul Hamid ve arkadaşları, GPER ekspresyonunun PKOS gibi endokrin bozukluklarda artış gösterdiğini ve bu durumun glikoz ve lipid homeostazında bozulmalara neden olabileceğini ifade etmişlerdir. Deneysel fare modellemesinde GPER geninin baskılanma sonucunda GPER eksikliğinin glikoz metabolizmasını olumsuz etkilediği ve insülin duyarlılığında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Bu bulgular, çalışmamızda elde edilen yüksek GPER düzeylerinin, PKOS’un hem hormonal hem de metabolik bileşenleriyle olan ilişkisini desteklemektedir (Abdul Hamid ve ark., 2022). Bununla birlikte, yapılan kapsamlı literatür taramalarında PKOS’ta GPER düzeylerinin anlamlı derecede düşük olduğunu bildiren bir çalışma

bulunmamaktadır. Bu durum, GPER'in PKOS patofizyolojisindeki rolünün genellikle artmış reseptör aktivitesi üzerinden değerlendirildiğini göstermektedir. Dolayısıyla, çalışmamızdaki GPER düzeylerinin artışı, mevcut literatürle uyumludur ve bu bulgu PKOS'un hormonal ve metabolik mekanizmalarında GPER'in önemli bir etkisi olduğunu desteklemektedir. Aynı zamanda PKOS ve kontrol gruplarına ait GPER düzeylerinin dağılımını grafiksel olarak incelendiğinde hasta grubunda GPER düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Bu bulgu, GPER düzeylerinin PKOS patofizyolojisinde rol oynayabileceğini desteklemektedir (Şekil 4.1).

Yaptığımız ROC eğrisi analizi sonucunda GPER düzeylerinin tanısal değerinin yüksek olduğu görülmüştür (AUC: 0,871). %95,0 duyarlılık ve %77,5 özgüllük ile GPER, PKOS'un tanısında potansiyel bir biyobelirteç olabilir. Bu bulgu, GPER düzeylerinin sadece tanı değil, aynı zamanda hastalık şiddetinin öngörülmesinde de kullanılabilceğini akla getirmektedir (Şekil 4.9).

Çalışmamızda, PKOS tanılı hastalar ile kontrol grubunun serum kopeptin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,557$) (Tablo 4.1). Bu sonuç, literatürde bildirilen bulgularla uyumludur. Altinkaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PKOS'lu bireylerin serum kopeptin düzeyleri ile sağlıklı kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Altinkaya ve ark., 2016). Benzer şekilde, Çetinkaya ve arkadaşları da kopeptin seviyelerinin PKOS'ta metabolik parametrelerle anlamlı bir ilişki göstermediğini rapor etmiştir (Çetinkaya ve ark., 2018). Bazı küçük örneklemlerli çalışmalar veya farklı popülasyonlarda, PKOS hastalarında kopeptin düzeylerinde hafif ama anlamlı artış bildirilmiştir. Bu artış genellikle insülin direnci veya inflamasyonla ilişkilendirilmektedir (Maneenil ve ark., 2019). Bu çalışmalar ışığında, kopeptinin PKOS patofizyolojisinde doğrudan belirleyici bir biyobelirteç olmadığı, ancak metabolik ve inflamatuvar süreçlerde dolaylı etkilerinin olabileceği düşünülebilir. Nitekim yakın tarihli bazı derlemelerde kopeptinin PKOS tanısında özgül bir rolü olmadığı ancak metabolik risk faktörlerinin belirlenmesinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir. Mirabel Coelho ve arkadaşları 2024 yılında yaptıkları çalışmada, serum kopeptin düzeylerinin PKOS tanısında spesifik bir biyobelirteç olarak kullanılmasının uygun olmadığını ancak metabolik parametrelerin değerlendirilmesinde kopeptinin faydalı olabileceğini rapor etmişlerdir (Mirabel Coelho ve ark., 2024). Bu bulgular, çalışmamızda serum kopeptin

düzelelerinde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunmaması ile uyumludur. Bu bağlamda değerlendirildiğinde, çalışmamızda kopeptin düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamış olması mevcut literatürle örtüşmektedir ve kopeptinin PKOS'un temel patofizyolojisinde ikincil bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Kopeptin düzeylerinin dağılımı grafiksel olarak Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda kopeptin düzeylerinin hasta grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0,557$) (Şekil 4.2).

PKOS hasta grubunda ferritin düzeylerinin medyan olarak 15,7 ng/ml (5,5 – 20,8) olduğu kontrol grubunda ise 36,0 ng/ml (2,7 – 98,6) seviyelerinde saptandığı ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,001$). Bu sonuç, PKOS'lu hastalarda ferritin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşük olduğunu göstermektedir (Tablo 4.1) Liu ve arkadaşları ise 2020 yılında yaptıkları çalışmada 2,173 PKOS'lu ve 1,897 kontrol olgusu incelenmiş, PKOS'lu bireylerde serum ferritin düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Obez ve fazla kilolu PKOS'larda ferritin artışı daha belirgindi. Normal ağırlıktaki PKOS'larda artış daha düşük düzeydeydi ve anlamlı değildi. Yine Liu ve arkadaşlarının 2020 tarihli meta-analizinde, PKOS'lu kadınlarda serum ferritin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu (SMD = 1,17; 95 % CI: 0,27–2,07) görülmüştür, bu artış özellikle obez bireylerde belirgindir ve ferritin, PKOS için AUC = 0,71 değerine sahip potansiyel bir tanı biyobelirteci olarak öne çıkmaktadır (Liu ve ark., 2019). Literatürde PKOS'ta ferritin düzeyleri ile ilgili farklı sonuçlar bildirilmiştir. Örneğin, Panidis ve arkadaşları, PKOS hastalarında ferritin düzeylerinin artış gösterdiğini ve bunun insülin direnci ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızdaki düşük ferritin bulgusu, PKOS'un heterojen klinik yapısına bağlı olarak demir metabolizmasının değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir. Ferritin düzeylerindeki bu düşüklük, PKOS'ta inflamatuvar süreçlerin yanı sıra demir eksikliği veya diğer metabolik faktörlerin etkisiyle ortaya çıkabilir. Dolayısıyla, PKOS hastalarında ferritin düzeylerinin değerlendirilmesi, hastalığın metabolik ve inflamatuvar durumunun anlaşılması açısından önem taşımaktadır (Panidis ve ark., 2012).

AMH değerinin hasta grubundaki medyan değeri 5,9 ng/ml (4,1 – 7,6) olarak bulunmuş, kontrol grubunda ise 2,0 ng/ml (1,5 – 3,0) seviyesinde saptanmıştır. Hasta ve kontrol

grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$) (Tablo 4.1). AMH over rezervinin ve foliküler aktivitenin güvenilir bir biyobelirteci olup, PKOS hastalarında sıklıkla artış göstermektedir. Literatürde Dewailly ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada AMH'nin PKOS'ta yüksek bulunması, anovulasyon ve foliküler disfonksiyonun göstergesi olarak kabul edilmektedir (Dewailly ve ark., 2014). Çalışmamızdaki bulgular, Pigny ve arkadaşlarının PKOS'lu olgularda AMH düzeylerinin anlamlı düzeyde yüksek olduğunu gösteren çalışmasıyla paralellik göstermektedir (Pigny ve ark., 2003). Aynı şekilde, Fong ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen meta-analizde de PKOS tanılı bireylerde AMH düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla 2–3 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Fong ve ark., 2013). Bu bulgular, çalışmamızdaki AMH düzeylerinin hasta grubunda anlamlı artış göstermesini desteklemekte ve AMH'nin PKOS tanı ve izlemi açısından önemli bir biyobelirteç olduğunu göstermektedir.

Bu sonuçlar, çalışmamızdaki AMH düzeylerinin hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmasıyla uyumludur.

D vitamini düzeyleri hasta grubunda, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (medyan: PKOS = 27,2 ng/ml; kontrol = 22,7 ng/ml; $p = 0,279$) (Tablo 4.1). Bu bulgu, literatürdeki bazı çalışmalarla uyumsuz görünmektedir. He ve arkadaşları tarafından yapılan bir meta-analiz çalışmasında, PKOS'lu kadınlarda D vitamini düzeylerinin genellikle düşük olduğu ve bu durumun insülin direnci ve metabolik bozukluklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Zerrouki ve arkadaşları ise PKOS'lu bireylerin yaklaşık %40'ında D vitamini eksikliği saptamış ve bu bireylerde metabolik risklerin daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Buna durum ile bazı çalışmalarda D vitamini düzeylerinin PKOS'ta belirgin bir fark göstermediği veya hastalığın alt fenotiplerine göre değişkenlik gösterdiği vurgulanmıştır. Örneğin, Tóth ve arkadaşları D vitamini düzeyleri arttıkça ovulasyon sıklığında artış gözlemlemiş ancak hormonal parametrelerde anlamlı bir değişiklik saptamamıştır. Yu ve arkadaşları tarafından yapılan 2025 çalışması, gibi daha güncel meta-analizlerde, D vitamini desteğinin PKOS hastalarında özellikle açlık glukozu, insülin düzeyleri, trigliserid ve LDL kolesterol üzerinde olumlu etkileri olabileceği belirtilmiştir (Yu ve ark., 2025), (Tóth ve ark., 2025). Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasa da D vitamini düzeylerinin bireysel ve metabolik farklılıklar

açısından önemli bir belirteç olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, D vitamini eksikliğinin PKOS'un patogenezindeki rolünü netleştirmek amacıyla daha geniş örneklemlili çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca glikoz(mg/dL), HbA1c %, TSH (μ IU/mL), Prolaktin (ng/ml), Estradiol (mIU/ml) FSH (mIU/ml), LH (mIU/ml) düzeylerine bakıldığında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.1).

Çalışmamızın ikinci aşamasında, 34 PKOS hastası ile 36 sağlıklı birey olmak üzere toplam 70 katılımcının GPER (rs3808350) gen polimorfizmi TETRA ARMS PCR yöntemi kullanılarak genotip çalışması yapılmıştır (Tablo 4.2).

PKOS grubunda AA genotipi %5,8, AG genotipi %32,4, GG genotipi ise %61,8 olarak tespit edilirken, kontrol grubunda sırasıyla %36,1, %36,1 ve %27,8 oranları gözlenmiştir. Alel frekanslarına bakıldığında ise hasta grubunda A alleli %22,06, G alleli %77,94; kontrol grubunda ise A alleli %54,17, G alleli %45,83 oranında bulunmuştur. Bu dağılımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır ($p=0,0015$ genotip için; $p=0,000$ alel frekansı için). Dominant model (AA+AG:GG) analizinde $p=0,008$, resesif model (AA vs AG+GG) analizinde ise $p=0,000$ olarak bulunmuş ve OR değerleri sırasıyla 0,24 (95% CI: 0,08–0,72) ve 0,04 (95% CI: 0,01–0,16) olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, G allelinin PKOS için risk faktörü, A allelinin ise koruyucu olabileceğini göstermektedir (Tablo 4.2).

Tablo 4.3'te gösterildiği üzere, katılımcılar AA (n=15), AG (n=24) ve GG (n=31) genotiplerine göre gruplandırılarak yaş, VKİ, glukoz, ALT, AST, kreatinin, HbA1c %, D vitamini, ferritin, TSH, estradiol, FSH, LH, prolaktin, AMH, GPER ve kopeptin düzeyleri açısından karşılaştırılmıştır.

Yaş dağılımında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,768$). VKİ değerleri AA genotipli bireylerde median 23,0 iken, AG ve GG genotiplerinde sırasıyla 22,0 ve 24,0 olarak bulunmuş ve bu parametrede anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p=0,050$). Kreatinin ($p=0,022$), ferritin ($p=0,007$) ve GPER ($p=0,021$) parametrelerinde de genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Diğer parametrelerde (glukoz, ALT, AST, üre, HbA1c %, D vitamini, TSH, estradiol, FSH, LH,

prolaktin, AMH, kopeptin gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Bu sonuçlar, GPER genotiplerinin bazı biyokimya parametreleri üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Özellikle ferritin ve GPER düzeylerindeki farklılıklar, genotiplerin PKOS patofizyolojisindeki rolünü desteklemektedir. Çalışmamızda, GPER (rs3808350) genotiplerine göre ferritin, kreatinin, VKİ ve GPER düzeylerinde anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Özellikle GG genotipine sahip bireylerde ferritin ve GPER düzeylerinin daha yüksek, VKİ değerlerinin ise diğer genotiplere göre belirgin olduğu saptanmıştır (Tablo 4.3).

Benzer şekilde, Jiang ve arkadaşları Çinli kadınlarda yaptıkları çalışmada GPER gen polimorfizmlerinin hormonal düzeyler ve metabolik parametreler üzerinde etkili olduğunu bildirmiş, özellikle belirli genotiplerin demir metabolizmasıyla ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür. Huang ve arkadaşları ise PKOS hastalarında GPER gen varyantlarının insülin direnci ve vücut kitle indeksi ile korelasyon gösterdiğini belirtmiştir (Jiang ve ark., 2018). (Huang ve ark., 2019). Bu bulgular, bizim VKİ ve ferritin düzeylerinde gözlemlediğimiz genotip etkileri ile paralellik taşımaktadır. Bununla birlikte, Wang ve arkadaşları 2019'da GPER polimorfizmlerinin bazı biyokimyasal parametrelerde anlamlı farklılıklar oluşturduğu, ancak FSH, LH ve prolaktin gibi diğer hormonlar üzerinde belirgin etkilerinin olmadığını rapor etmiştir (Wang ve ark., 2019). Bu da bizim sonuçlarımızdaki benzerlikleri desteklemektedir.

Özetle literatürdeki mevcut verilerle uyumlu olarak, GPER genotiplerinin PKOS'un biyokimyasal ve metabolik profili üzerinde etkili olduğu ancak etkilerin parametreye ve popülasyona göre değişkenlik gösterdiği söylenebilir. Çalışmamız, bu alandaki literatüre katkı sağlaması açısından önem taşımaktadır. GPER rs3808350 gen polimorfizminin PKOS hastalarında anlamlı farklılık gösterdiği ve özellikle G alelinin hastalık için risk faktörü olarak öne çıktığı bulunmuştur (Tablo 4.2). Mevcut literatür incelendiğinde, GPER genindeki rs3808350 polimorfizmi ile PKOS arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Literatürde bu SNP'ye ilişkin genetik varyasyonların PKOS üzerindeki etkilerini doğrudan değerlendiren ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşan özgün ve güvenilir yeterince çalışma bulunmamaktadır.

Bazı araştırmalarda GPER genine ait farklı polimorfizmler çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiş olsa da rs3808350 varyantının PKOS'a yatkınlık üzerindeki rolü henüz net olarak ortaya konmamıştır. PKOS'un genetik altyapısına yönelik güncel araştırmalar, ağırlıklı olarak FSHR, INSR, THADA, DENND1A ve benzeri genler üzerine odaklanmaktadır (Goodarzi ve ark., 2011).

Dolayısıyla GPER rs3808350 polimorfizminin PKOS patofizyolojisindeki olası rolünü aydınlatmak amacıyla yapılacak yeni ve geniş katılımlı genetik çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ

İlk kez yapılan bu çalışmada, PKOS patogeneğinde G proteinine bağılı östrojen reseptörü (GPER) rs3808350 gen polimorfizmi ile GPER ve Kopeptin serum düzeylerinin ilişkisi araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, PKOS hastalarında serum GPER düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, GPER genotip dağılımlarında belirgin farklılıklar saptanmış; özellikle GG genotipi ve G allelinin PKOS hastalarında daha sık, AA genotipi ve A allelinin ise kontrol grubunda daha yaygın olduğu bulunmuştur. Bu durum, GPER rs3808350 polimorfizminin PKOS'a genetik yatkınlıkta önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Genotip grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda, VKİ, kreatinin, ferritin ve serum GPER düzeylerinde anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Bu sonuçlar, GPER polimorfizminin yalnızca genetik yatkınlığı değil, aynı zamanda hastalığın metabolik ve biyokimyasal profilini de etkileyebileceğine işaret etmektedir. Özellikle ferritin düzeyindeki farklılıklar, demir metabolizması ve inflamasyon süreçlerinin PKOS patofizyolojisinde GPER aracılığıyla etkilenebileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, kopeptin düzeylerinde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark gözlenmemesi, bu biyobelirtecin PKOS tanısında sınırlı değere sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular ışığında, GPER hem PKOS'un moleküler mekanizmalarının anlaşılmasında hem de hastalıkta potansiyel bir biyolojik hedef olarak önem arz etmektedir. Gen polimorfizimleri ile klinik parametreler arasındaki ilişki, PKOS'un heterojen yapısını açıklamada katkı sağlayabilir ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine zemin hazırlayabilir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, farklı etnik grupları içeren geniş örneklemlili kohortların incelenmesi, GPER gen polimorfizmlerinin PKOS üzerindeki etkilerinin daha net ortaya konmasını sağlayacaktır. Ayrıca, GPER'in hüresel ve moleküler işlevlerinin detaylı mekanistik çalışmalara aydınlatılması, PKOS tedavisinde yeni farmakolojik hedeflerin belirlenmesine katkı sunabilir. Kopeptin gibi diğer biyobelirteçlerin rolünün değerlendirilmesi için ise farklı metabolik durumları içeren multidisipliner çalışmalar yapılması önem taşımaktadır. Sonuç olarak, GPER'in PKOS'un tanı, prognoz ve tedavisinde önemli bir yer edinebileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abdul Hamid, F., et al. (2022). Role of sex hormone receptors in female reproductive diseases. *Biomedicines*, 10(7)1705. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071705>
- Ajmal, N., Khan, S. Z., & Shaikh, R. (2019). Polycystic ovary syndrome (PCOS) and genetic predisposition: A review article. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 3, 100060. <https://doi.org/10.1016/j.eurox.2019.100060>
- Anderson, R. A., & Su, H. I. (2020). Clinical utility and interpretation of anti-Müllerian hormone levels in women with cancer. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 574263. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.574263>
- Aversa, A., et al. (2020). Fundamental concepts and new directions in polycystic ovary syndrome: Expert consensus decisions. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 516. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00516>
- Azziz, R., Carmina, E., Dewailly, D., Diamanti-Kandarakis, E., Escobar-Morreale, H. F., Futterweit, W., et al. (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. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.06.035>
- Azziz, R., et al. (2016). The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: The complete task force report. *Fertility and Sterility*, 91(2), 456–488. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.01.037>
- Bjonnes, A. C., Saxena, R., & Welt, C. K. (2016). Association between polycystic ovary syndrome and ancestry in European Americans. *Fertility and Sterility*, 106(7), 1772–1777. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.09.026>
- Bulsara, J., Patel, P., Soni, A., & Acharya, S. (2021). Bir inceleme: Polikistik over sendromuna kısa bir bakış. *Endocrinology and Metabolic Science*, 3, 100085. <https://doi.org/10.1016/j.endmts.2021.100085>
- Caprio, S. (1999). Insulin: The other anabolic hormone of puberty. *Acta Paediatrica*, 88(433), 84–87. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1999.tb14410>
- Carmina, E., Guastella, E., & Longo, R. A. (2016). Advances in the diagnosis and treatment of PCOS. *Current Pharmaceutical Design*, 22(36), 5508–5514. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160720150041>
- Chun, S. (2020). The relationship between early follicular phase serum estrogen levels and other hormonal or ultrasonographic parameters in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, 36(2), 143–147. <https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1709472>

- Christ-Crain, M. (2019a). Vasopressin and copeptin in health and disease. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 20(3), 283–294. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09501-8>
- Christ-Crain, M. (2019b). Vasopressin and copeptin in health and disease. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 20, 283–294. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09501-8>
- Collins, F. S., Brooks, L. D., & Chakravarti, A. (1998). A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Research*, 8(12), 1229–1231. <https://doi.org/10.1101/gr.8.12.1229>
- Coffey, S., & Mason, H. (2003). The effect of polycystic ovary syndrome on health-related quality of life. *Gynecological Endocrinology*, 17(5), 379–386. <https://doi.org/10.1080/09513590312331290268>
- Corbould, A., et al. (2005). Insulin resistance in skeletal muscle of women with PCOS involves intrinsic and acquired defects in insulin signaling. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 288(5), E1047–E1054. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00327.2004>
- DeVane, G. W., Czekala, N. M., Judd, H. L., & Yen, S. S. C. (1975). Polikistik over hastalığında dolaşan gonadotropinler, östrojenler ve androjenler. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 121(4), 496–500. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(75\)90081-2](https://doi.org/10.1016/0002-9378(75)90081-2)
- Dewailly, D., Andersen, C. Y., Balen, A., et al. (2014). The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Human Reproduction Update*, 20(3), 370–385. <https://doi.org/10.1093/humrep/det009>
- Diamanti-Kandarakis, E., & Dunaif, A. (2012). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: An update on mechanisms and implications. *Endocrine Reviews*, 33(6), 981–1030. <https://doi.org/10.1210/er.2011-1034>
- Diamanti-Kandarakis, E., Christakou, C., Palioura, E., et al. (2008). Does polycystic ovary syndrome start in childhood? *Pediatric Endocrinology Reviews*, 5, 904–911.
- Dobša, L., & Cullen Edozien, K. (2012). Copeptin and its potential role in diagnosis and prognosis of various diseases. *Biochemia Medica*, 23(2), 172–190. <https://doi.org/10.11613/BM.2013.021>
- Doh, E. (2016). The relationship between obesity and insulin sensitivity in African women with polycystic ovary syndrome: A clamp study. *International Journal of Endocrinology*, 2016, 9201701. <https://doi.org/10.1155/2016/9201701>
- De Loos, A. D., Hund, M., Buck, K., Meun, C., Sillman, J., & Laven, J. S. (2021). Anti-Müllerian hormone to determine polycystic ovary morphology. *Fertility and Sterility*, 116, 1149–1157. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.05.094>

- Fong, Y. H., Yew, T. L., & ark. (2013). Anti-Müllerian hormone levels in women with and without polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta- analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *11*, 28.
- Ferriman, D., & Gallwey, J. D. (1961). Clinical assessment of body hair growth in women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *21*, 1440–1447. <https://doi.org/10.1210/jcem-21-11-1440>
- Gimenez-Peralta, I., Lilue, M., Mendoza, N., Tesarik, J., & Mazheika, M. (2022). Application of a new ultrasound criterion for the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 915245. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.915245>
- Goodarzi, M. O., Azziz, R., & Knowler, W. C. (2011). Polycystic ovary syndrome: Etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nature Reviews Endocrinology*, *7*(4), 219–231. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.217>
- Goodarzi, M. O., Dumesic, D. A., Chazenbalk, G., & Azziz, R. (2011). Polycystic ovary syndrome: Etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nature Reviews Endocrinology*, *7*(4), 219–231. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.217>
- Hannon, T. S., Janosky, J., & Arslanian, S. A. (2006). Longitudinal study of physiological insulin resistance and metabolic changes during puberty. *Pediatric Research*, *60*(6), 759–763. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000240420.04743.01>
- Heldring, N., Pike, A., Andersson, S., Matthews, J., Cheng, G., Hartman, J., Tujague, M., Ström, A., Treuter, E., Warner, M., & Gustafsson, J. Å. (2007). Estrogen receptors: How do they signal and what are their targets. *Physiological Reviews*, *87*(3), 905–931. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2006>
- Holwerda, D. A. (1972). A glycopeptide from the posterior lobe of pig pituitaries: 1. Isolation and characterization. *European Journal of Biochemistry*, *28*(3), 334–339. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1972.tb02249.x>
- Huang, A., Brennan, K., & Azziz, R. (2010). Prevalence of hyperandrogenemia in the polycystic ovary syndrome diagnosed by the National Institutes of Health 1990 criteria. *Fertility and Sterility*, *93*(6), 1938–1941. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.12.138>
- Huang, L., & ark. (2019). Genetic variants of GPER and their association with metabolic in PCOS. *Endocrine Connections*, *8*(9), 1223–1232.
- Jansen, T., Böhmer, T., Hahn, S., Mann, K., & Obermüller, N. (2017). Relationship between copeptin levels, visceral adiposity, and inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *Obesity*, *25*(3), 553–560. <https://doi.org/10.1002/oby.21755>

- Jiang, W., ve ark. (2018). GPER polymorphisms and their effect on ovarian function and hormone levels in Chinese women with PCOS. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 6(4), 583–590.
- Kalidhindi, R. S. R., Chen, W., Filler, R., Filardo, E. J., & Panettieri, R. A. (2020). G-protein-coupled estrogen receptor regulates allergic airway inflammation in mice and human asthma. *Frontiers in Immunology*, 11, 2013. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02013>
- Kahsar-Miller, M. D., Nixon, C., Boots, L. R., Go, R. C., & Azziz, R. (2001). Prevalence of polycystic ovary syndrome (PCOS) in first-degree relatives of patients with PCOS. *Fertility and Sterility*, 75(1), 53–58. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)01662-9](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)01662-9)
- Kahraman, S., Turan, S., Kara, M., Yildiz, B., & Celik, O. (2021). Elevated copeptin levels predict metabolic and cardiovascular risks in women with polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology*, 94(5), 737–745. <https://doi.org/10.1111/cen.14472>
- Kwok, P. Y., Deng, Q., Zakeri, H., Taylor, S. L., & Nickerson, D. A. (1996). Increasing the information content of STS-based genomic maps: Identification of polymorphisms in mapped STSs. *Genomics*, 31(1), 123–126. <https://doi.org/10.1006/geno.1996.0271>
- Legro, R. S., Driscoll, D., Strauss, J. F., Fox, J., & Dunaif, A. (1998). Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(25), 14956–14960. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.25.14956>
- Legro, R. S., Kusanman, A. R., & Dunaif, A. (1998). Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(1), 165–169. <https://doi.org/10.1210/jc.84.1.165>
- Liu, Y., Zhang, Y., Li, Y., Liu, X., Wang, X., Zhang, C., Hao, C., & Deng, S. (2019). Regulation of follicular development and differentiation by intra-ovarian factors and endocrine hormones. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 24, 983–993. <https://doi.org/10.2741/4763>
- Lorenz, T. C. (2012). Polymerase chain reaction: Basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, (63), e3998. <https://doi.org/10.3791/3998>
- Lv, P.-P., Jin, M., Rao, J.-P., Chen, J., Wang, L.-Q., Huang, C.-C., Yang, S.-Q., Yao, Q.-P., Feng, L., Shen, J.-M., et al. (2020). Role of anti-Müllerian hormone and testosterone in follicular growth: A cross-sectional study. *BMC Endocrine Disorders*, 20, 101. <https://doi.org/10.1186/s12902-020-00569-6>

- Mammen, C., Matsell, D. G., & Lemley, K. V. (2014). The importance of clinical pathways and protocols in pediatric nephrology. *Pediatric Nephrology*, 29(11), 1903–1914. <https://doi.org/10.1007/s00467-014-2865-4>
- Medical B. (2022). How do G protein-coupled receptors work? *Weblographic*. <https://tr.weblographic.com/how-do-g-protein-coupled-receptorswor>
- Mirabel Coelho, J., Widecka, J., ve ark. (2024). Serum copeptin as a biomarker of polycystic ovarian syndrome. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 18(7), QC01–QC05.
- Moolhuijsen, L. M., & Visser, J. A. (2020). AMH in PCOS: Controlling the ovary, placenta, or brain? *Current Opinion in Endocrinology & Metabolic Research*, 12, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.04.006>
- Olde, B., & Leeb-Lundberg, L. M. (2009). GPR30/GPER1: Searching for a role in estrogen physiology. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 20(8), 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.04.006>
- Panidis, D., Tziomalos, K., Papadakis, E., et al. (2012). Serum ferritin concentrations in patients with polycystic ovary syndrome: Relationship with insulin resistance and body mass index. *European Journal of Endocrinology*, 167(1), 41–47.
- Pasquali, R., & Gambineri, A. (2018). New perspectives on the definition and management of polycystic ovary syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation*, 41(10), 1123–1135. <https://doi.org/10.1007/s40618-018-0832-1>
- Pasquali, R., & Gambineri, A. (2018). Polikistik over sendromunun tanımı ve yönetimine ilişkin yeni perspektifler. *Endokrinolojik Araştırma Dergisi*, 41(10), 1123–1135. <https://doi.org/10.1007/s40618-018-0832-1>
- Pettibone, D. J., Clineschmidt, B. V., Anderson, P. S., Freidinger, R. M., Lundell, G. F., Koupal, L. R., Schwartz, C. D., Williamson, J. M., Goetz, M. A., & Hensens, O. D. (1989). A structurally unique, potent, and selective oxytocin antagonist derived from *Streptomyces silvensis*. *Endocrinology*.
- Pierre, A., Taieb, J., Giton, F., Grynberg, M., Touleimat, S., El Hachem, H., Fanchin, R., Monniaux, D., Cohen-Tannoudji, J., Di Clemente, N., et al. (2017). Dysregulation of the anti-Müllerian hormone system by steroids in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102, 3970–3978. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00308>
- Prossnitz, E. R., & Barton, M. (2011). The G protein coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(12), 715–726. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.210>

- Prossnitz, E. R., & Barton, M. (2023). The G protein-coupled oestrogen receptor GPER in health and disease: An update. *Nature Reviews Endocrinology*, *19*(5), 284–299. <https://doi.org/10.1038/s41574-023-00810-9>
- Roh, S., Kim, J. H., Choi, Y. M., Yang, S. H., Kang, B. M., Lim, H., & Park, J. Y. (2018). Serum copeptin levels are elevated in women with polycystic ovary syndrome and correlate with insulin resistance and metabolic syndrome. *Clinical Endocrinology*, *88*(3), 348–355. <https://doi.org/10.1111/cen.13492>
- Rouhimoghadam, M., Lu, A. S., Salem, A. K., & Filardo, E. J. (2020). Therapeutic perspectives on the modulation of G protein-coupled estrogen receptor GPER function. *Frontiers in Endocrinology*, *11*, 591217. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.591217>
- Schomberg, D. W., Couse, J. F., Mukherjee, A., Lubahn, D. B., Sar, M., Mayo, K. E., & Korach, K. S. (1999). Targeted disruption of the estrogen receptor-alpha gene in female mice: Characterization of ovarian responses and phenotype in adults. *Endocrinology*, *140*(6), 2733–2744. <https://doi.org/10.1210/endo.140.6.6851>
- Seow, K. M., Juan, C. C., Hsu, Y. P., Hwang, J. L., Huang, L. W., & Ho, L. T. (2007). Improvement of insulin resistance in women with PCOS after laparoscopic ovarian electrocauterization through reduction of insulin receptor substrate-1 Ser312 phosphorylation. *Human Reproduction*, *22*(4), 1003–1010. <https://doi.org/10.1093/humrep/del466>
- Sparapani, S., Millet-Boureima, C., Oliver, J., Mu, K., Hadavi, P., Kalostian, T., Ali, N., Avelar, C. M., Bardies, M., & Barrow, B. (2021). The biology of vasopressin. *Biomedicines*, *9*(1), 89. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9010089>
- Teede, H. J., Deeks, A. A., & Moran, L. J. (2019). Polycystic ovary syndrome: A complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Medicine*, *17*(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1256-1>
- Teede, H. J., Misso, M. L., Costello, M. F., Dokras, A., Laven, J., Moran, L., Piltonen, T., & Norman, R. J. (2018). Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*, *33*, 1602–1618. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey256>
- Turan, S., Kara, M., Yildiz, B., Uygur, D., & Celik, O. (2020). Elevated serum copeptin levels are associated with insulin resistance and cardiovascular risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, *36*(8), 686–690. <https://doi.org/10.1080/09513590.2020.1748653>
- Wang, C., Prossnitz, E. R., & Roy, S. K. (2007). Expression of G protein-coupled receptor 30 in the hamster ovary: Differential regulation by gonadotropins and steroid hormones. *Endocrinology*, *148*(10), 4853–4864. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0392>

- Wang, J., Liu, Y., Zhang, X., & Chen, S. (2019). The association of GPER gene polymorphisms with metabolic parameters and reproductive hormones in women with polycystic ovary syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 17(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12958-019-0496-2>
- Zang, L., Wang, Y., Yu, X., Yu, L., & Guo, H. (2016). Expression and significance of G-protein coupled estrogen receptor (GPER) in polycystic ovary syndrome. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 36(6), 552–556.
- Zerrouki, D., & ark. (2024). Vitamin D deficiency in women with PCOS. *International Journal of Fertility & Sterility*.
- Yu, M., & ark. (2025). Impact of vitamin D supplementation on metabolic parameters in women with PCOS: A meta-analysis. *BMC Endocrine Disorders*.
- Tóth, B. E., & ark. (2025). Effects of Vitamin D3 treatment on ovulation in PCOS women. *Nutrients*.



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 83116987 - 094
Konu : Etik Kurul Kararı
Toplantı Tarihi : 29.02.2024
Toplantı No : 2024/03
Proje No : 24-KAEK-058

29.02.2024

Sayın, Dr. Öğretim Üyesi Figen GÜZELGÜL

Etik Kurulumuzun 29.02.2024 tarihli toplantısında görüşülen 24-KAEK-058 kayıt numaralı **“Polikistik Over Sendromu Olan Hastalarda Serum GPER, Kopeptin ve ZIP-9 Düzeyleri ve GPER Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi”** başlıklı çalışmanız gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.

İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmeliğin 14-4. maddesi ve yönergemizin 18-3. maddesine göre çalışmanız tamamlandıktan sonra sonuç raporunun tarafımıza en geç 90 gün içerisinde bildirilmesi gerekmektedir.

Bilgilerinizi rica ederim.

9.ÖZGEÇMİŞ

