

**POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA *CYP 17* GEN
POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ**

Yağmur ÖNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NİSAN 2013

ANKARA

Yağmur ÖNER tarafından hazırlanan “POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA CYP 17 GEN POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Leyla AÇIK
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Reyhan ÇOLAK
Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Leyla AÇIK
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Sibel SÜMER
Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 10/04/2013

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Yağmur ÖNER

**POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA *CYP 17* GEN POLİMORFİZMİNİN
BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Yağmur ÖNER

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Nisan 2013

ÖZET

Polikistik over sendromu (PKOS), kronik yumurtlayamama ve buna bağlı adet düzensizlikleri, serumda androjen seviyelerinin yüksek olması ve ultrason görüntüsünde polikistik yumurtalıkların varlığı ile teşhis edilen, bununla birlikte artmış insülin düzeyi ve insülin direnci ile karakterize çok faktörlü bir hastalıktır. PKOS pek çok endokrin bozukluğu içerdiği için gelişiminde genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. *CYP 17* geninin kodladığı P450c17 α enzimi androjen sentez metabolizmasında görev alır. Bu sebeple bu gende meydana gelen bir bozukluğun PKOS tablosunda yer alan aşırı androjen seviyesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızın amacı, Türk toplumunda görülen PKOS'un, *CYP 17* gen polimorfizmi ile arasındaki ilişkiyi incelemektir. Bunun yanı sıra sağlıklı bireyler ile PKOS hastası bireyler arasında ve PKOS hastası bireylerin farklı genotipleri arasında biyokimyasal parametrelerin fark gösterip göstermediğini tespit etmektir.

Çalışmamızda hasta grubunu 119 PKOS teşhisi konulmuş kişi temsil ederken, kontrol grubunu 136 sağlıklı birey oluşturmuştur. PKOS grubunda *CYP 17* geni TC genotipine sahip 27, TT genotipine sahip 92 birey tespit edilmişken; kontrol grubunda TC genotipine sahip 5, TT genotipine sahip 131 kişi bulunmuştur. Kontrol ve hasta gruplarında CC genotipine sahip birey bulunmamıştır. Hasta grubunda T allel sıklığı %77,32, C allel sıklığı %22,68 olarak tespit edilmiştir.

Kontrol grubunda ise T allel sıklığı %96,3, C allel sıklığı %3,7 değerlerinde bulunmuştur. Genotip ve allel dağılımları Ki-Kare (χ^2) testi ile değerlendirilmiş ve *CYP 17* geni C/T polimorfizmi ile PKOS arasında istatistiksel olarak ilişki bulunduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bütün gruplarda biyokimyasal parametre olarak çeşitli hormon ölçümleri yapılmış ve HOMA indeksi hesaplanmıştır. Gruplar arasında biyokimyasal değerler bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunup bulunmadığına Nonparametric Mann-Whitney U Testi ile bakılmıştır. PKOS'lu kadınların LH, FSH, Total Testosteron, Serbest Testosteron, Serbest T3, DHEA-S (Dihidroepiandrosteron sülfat), Estradiol, Progesteron, Prolaktin, Açlık kan şekeri düzeyi, Açlık İnsülin düzeyi, Trigliserit, LDL Kolesterol ve HOMA düzeyleri ortalaması, kontrol grubundaki kadınlara göre daha yüksek değerde bulunmuştur. İstatistiksel olarak LH, Total Testosteron, DHEA-S, açlık kan şekeri düzeyi, açlık insülin düzeyi, Trigliserit, Total Kolesterol, HDL Kolesterol, LDL Kolesterol ve HOMA değerleri bakımından anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubundaki TC ve TT genotipine sahip iki grup arasında biyokimyasal parametreler bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Hasta grubunda ise TC genotipine sahip kadınlarda Açlık kan şekeri düzeyi, LH, FSH, TSH, Serbest T4 ve Estradiol değerleri ortalamaları TT genotipine sahip kadınlara göre yüksek düzeyde bulunmuştur. Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonucuna göre; LH, Estradiol ve DHEA-S parametreleri birbiriyle kıyaslandığında PKOS grubundaki TC ve TT genotipine sahip iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Sonuç olarak, *CYP 17* geni C/T polimorfizmi ile PKOS arasında bir ilişki tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 203.1.046
Anahtar Kelimeler : PKOS, *CYP 17*, gen polimorfizmi
Sayfa Adedi : 67
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Leyla AÇIK

**DETERMINATION OF CYP 17 GENE POLYMORPHISM IN POLYCYSTIC
OVARY SYNDROME**

(M. Sc. Thesis)

Yağmur ÖNER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

March 2013

ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a multifactorial diseases that is diagnosed by anovulation and related menstrual disorders, hiperandrogenism and the presence of polycystic ovaries on ultrasonographic image, characterized by increased insulin levels and insulin resistance. The development of genetic and environmental factors are thought to be effective in PCOS because of this include in many of endocrinologic disorders. *CYP 17* gene encodes P450c17 α enzyme, which involve in the metabolism of androgen synthesis. Therefore, it is thought to be a defect in this gene that in the statement of PCOS is responsible for the excessive androgen levels. The aim of our study is that examine the relationship polymorphism of *CYP 17* gene between PCOS in Turkish society. As well as to determine whether showing the difference biochemical parameters of healty people between PCOS patients and among different genotips of PCOS patients. In our study, 119 people diagnosed with PCOS have created of patient group, while 136 healty people have created of control group. It was identified 27 people have TC genotip, 92 people have TT genotip in PCOS group while 5 people have TC genotip, 131 people have TT genotip in control group. It wasn't identified people have CC genotip in control and PCOS group. It has found that the frequency of T allele 77,32%, the frequency of C allele 22,68% in the patient group. However, the frequency of T allele has been 96.3%, the C allele frequency has been 3.7% in value in the control group.

Genotype and allele distributions have evaluated by chi-square (χ^2) test and between C/T polymorphysm of *CYP 17* gene and PCOS has been determined that a correlation ($p<0.05$). In all groups, the hormone measurements have made in a variety of biochemical parameters and HOMA index has calculated. In respect biochemical parameters, whether exist of significant statistical different of among groups through the Nonparametric Mann-Whitney U test. The average level of LH, FSH, total testosterone, free testosterone, free T3, DHEA-S (dehydroepiandrosterone sulfate), estradiol, progesterone, prolactin, fasting blood glucose level, trigliserid, LDL cholesterol and HOMA has determined of women with PCOS higher than women in the control group. Statistically, between biochemical parameters of PCOS group and healty group in terms of LH, total testosterone, DHEA-S, fasting blood glucose level, fasting insulin level, trigliserid, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and HOMA, significant difference has detected($p<0.05$). In respect biochemical parameters, statistically between the two groups with TC and TT genotypes in the control group significant difference has not detected ($p>0.05$). While in PCOS group, the mean values of fasting blood glucose level, LH, FSH, TSH, free T4 and estradiol of women have TC genotip higher than women have TT genotip. Nonparametric Mann-Whitney U test showed that LH, estradiol and DHEA-S parameters TC and TT genotype group with PCOS compared with each other between the two groups was statistically significant difference was found ($p<0.05$). In conclusion, we found that *CYP 17* gene polymorphysm associated with PCOS.

Science Code : 203.1.046
Key Words : PCOS, *CYP 17*, gene polymorphism
Page Number : 67
Advisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince benimle bilgi ve deneyimlerini paylaşan, her türlü desteğiyle daima yanımda olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a, Çalışmam süresince gerekli materyalleri temin etmemde yardımcı olan; Ankara Numune Araştırma ve Eğitim Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Klinik şefi sayın Doç. Dr. Ferit SARAÇOĞLU ile Dr. Nezih DURMAZLAR'a, Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Klinik bölümünden sayın Doç. Dr. Kazım Emre KARAŞAHİN'e, Laboratuvar çalışmalarım boyunca deneyimlerini paylaşarak, beni hep cesaretlendiren Emel AKYÜZ'e, deney çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Fatma AYDIN'a, Nagehan RAMAZANOĞLU'na ve Nigar TAŞDEMİROĞLU'na, Maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olup daima bana güvenen canım babam Erdoğan ÖNER ve canım annem Halise ÖNER'e ve destekleriyle hep yanımda olan kıymetli arkadaşım Bilal KONAL'a,

En içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. POLİKİSTİK OVER SENDROMU	2
2.1. Tanım	2
2.1.1. Endokrinolojik anormallikler	5
2.1.2. Klinik belirtiler.....	9
2.2. Polikistik Over Sendromu ile İlişkili Olduğu Düşünülen Genler	11
2.2.1. <i>AR (androjen reseptör) geni</i>	12
2.2.2. <i>Nos3 (nitrik oksit sentetaz) geni</i>	12
2.2.3. <i>ER-β (östrojen reseptör β) geni</i>	13
2.2.4. <i>SHBG (cinsiyet hormonu bağlayıcı globulin) geni</i>	13
2.2.5. <i>İnterlökin (IL) 6 geni</i>	14
2.2.6. <i>ACE (anjiotensin dönüştürücü enzim) geni</i>	14
2.2.7. <i>CYP11A geni</i>	15
2.2.8. <i>İnsülin reseptör (INSR) geni</i>	15

Sayfa

2.2.9. <i>Calpain</i> 10 ailesi	16
2.2.10. <i>CYP</i> 19 geni	17
2.2.11. <i>CYP</i> 17 geni	18
3. MUTASYON ANALİZLERİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER	20
3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	20
3.2. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	22
3.3. Agaroz Jel Elektroforezi	23
4. MATERYAL VE METOT	25
4.1. Materyal	25
4.1.1. Kan örneklerinin toplanması.....	25
4.1.2. Kimyasal maddeler.....	26
4.2. Metot	26
4.2.1. DNA izolasyonu.....	26
4.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR).....	27
4.2.3. Agaroz jel elektoreze.....	28
4.2.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) - restriksiyon fragment uzunluk polimorfizm analizi (RFLP).....	28
4.3. İstatistiksel Analizler.....	30
5. BULGULAR.....	31
5.1. Klinik ve Laboratuar Bulguları	31
5.2. <i>CYP17</i> Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Çoğaltılması ve Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP).....	32
5.3. <i>CYP</i> 17 Genotipi ve Allel Dağılımı	34

Sayfa

6. TARTIŞMA VE SONUÇ	47
KAYNAKLAR	50
EKLER.....	57
EK- 1. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu'nun tez projesi hakkındaki kararı.....	58
EK- 2.Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu	59
ÖZGEÇMİŞ	67

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. NIH 1990, Rotterdam 2003 ve AE-PCOS 2006 Kriterlerine Göre PKOS tanısı konulabilecek fenotipler.....	4
Çizelge 2.2. Pkos'lu kadınlarda görülen klinik belirtilerin oranları.....	5
Çizelge 2.3. Hiperandrojenizmin Klinik Semptomları ve işaretleri.....	7
Çizelge 4.1. <i>CYP 17</i> gen polimorfizmini belirlemek amacıyla kullanılan primer çifti.....	28
Çizelge 4.2. <i>CYP 17</i> genini çoğaltmak için kullanılan PZR programı	28
Çizelge 4.3. <i>CYP 17</i> geni PZR ürünü dizisi.....	29
Çizelge 5.1. Kontrol grubu ve polikistik over sendromlu (PCOS) hastaların klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması (ortalama \pm SS) ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi Sonuçları	32
Çizelge 5.2. PCOS ve kontrol grubunun TT ve TC % genotip dağılımları	35
Çizelge 5.3. PCOS ve kontrol grubunun T ve C % allel dağılımları	35
Çizelge 5.4. Kontrol grubu <i>CYP 17</i> geni TC ve TT genotipi klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları	36
Çizelge 5.5. PCOS grubu <i>CYP 17</i> geni TC ve TT genotipi klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları	38
Çizelge 5.6. <i>CYP 17</i> geni polimorfizmi bakımından incelen PCOS ve Kontrol grubuna ait bireylerin mutasyon listesi.....	39

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İnsülin artışı ve LH'nin tekal hücrelerdeki yanıtı: Hiperandrojenizm.....	8
Şekil 2.2. Vücudun değişik bölgelerinde PKOS'a bağlı kıllanmanın gelişimi	10
Şekil 2.3. Yumurtalıkta boncuk şeklinde dizilmiş foliküllerin ultrason görüntüsü.....	11
Şekil 2.4. Yumurtalıklardaki polikistik yapılar: A: cerrahi operasyonla çıkarılmış yumurtalık, B: yumurtalık içinde dizilmiş polikistik yapı	11
Şekil 3.1. PZR'nin üç basmağı.....	21
Şekil.3.2. <i>CYP 17</i> geni PZR ürünlerinin <i>MspAI</i> I enzimi ile kesilmesi M: 100 bçlik marker, 6,12,13,20,68: TT homozigot normal birey, 11,24: CC homozigot mutant birey, 4,7,8,18,19,22,32: TC heterozigot mutant birey 22	22
Şekil 3.3. Sırasıyla; elektroforez güç kaynağı, jel tabağı ve yürütme tankı.....	24
Şekil 5.1. <i>CYP 17</i> geni PZR Ürünü.....	33
Şekil 5.2. <i>MspAI</i> I enzimi ile kesim sonuçlarının % 2'lik agaroz jeldeki görüntüsü M: 100 bç'lik Marker, 1: Kesim yapılmamış PZR ürünü; 2,5,6,7,10,13: TC genotipli heterozigot bireyler; 3,4,8,9,11,12 : TT genotipli homozigot yabancı bireyler	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
χ^2	Ki-kare
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
AES	Androgen Excess Society
ASRM	Amerikan Üreme Hekimliliği Topluluğu
bç	Baz çifti
CAPN 10	Calpain 10- Kalsiyum ile Aktive olmuş Nötral Proteinaz 10
CYP 11a	Sitokrom P450 family 1, subfamily A polipeptid
CYP 17	Sitokrom P450, 17-hidroksilaz
CYP 19	Sitokrom P450, 19-hidroksilaz
DHEAS	Dihidroepiandrosteron sülfat
DHT	Dihidrottestosteron
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ESHRE	Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Topluluğu (European Society of Human Reproduction and Embryology)
FSH	Folikül uyarıcı hormon
HCl	Hidroklorik asit
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HOMA	Homeostasis model assesment
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LH	Lüteinize Hormon

Simgeler	Açıklama
NIH	Amerikan Ulusal sağlık enstitüsü
PKO	Polikistik Over
PKOS	Polikistik Over Sendromu
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SDS	Sodyum Dodesil sülfat
SHBG	Cinsiyet hormonu bağlayan globulin
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
SS	Standart Sapma
STE	Sodyum Klorid Tris EDTA
ST3	Serbest Triiodothyronine
ST4	Serbest Tiroksin
TAE	Tris Asetat Edta
TE	Tris Edta
TSH	Tiroit Uyarıcı Hormon
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus

1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS), ultrason görüntüsünde polikistik yumurtalıkların varlığı, oligomonorhea veya amonerhea klasik semptomlarından birinin gözlenmesi, obezite ve hiperandrojenizm (akne, erkeksi kıllanma, kellik) ile seyreden heterogenetik bir bozukluk olarak tanımlanmaktadır [8, 53]. PKOS'un üreme çağındaki kadınların en az %5-%15'ini etkilediği ve bu yüzden dünya çapındaki en yaygın endokrin anormallik olduğu tahmin edilmektedir [48]. Polikistik over sendromu yumurtlayamama ve kısırlığın bütün sebepleri içerisinde %90'luk bir dilimi kapsamaktadır [33].

Polikistik over sendromunun en önemli belirtilerinden biri dolaşımdaki yüksek androjen seviyesidir. *CYP 17* geni, androjenlerin de içinde bulunduğu cinsiyet steroid hormonlarına aracılık eden sitokrom *p450c17 α* enzimini kodlamaktadır [56, 68]. Bu sebeple bu gende meydana gelecek bir bozukluğun PKOS ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

CYP 17 gen polimorfizminin incelendiği pek çok çalışmada bu gendeki T/C polimorfizmi ile PKOS arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir [25, 27, 65, 67]. Dolaşımdaki yüksek androjen seviyesinin PKOS dışında başka metabolik rahatsızlıklara da sebebiyet verebileceği düşünülerek *CYP 17* gen polimorfizmi ile meme ve prostat kanserleri ilişkilendirilmiş ancak yapılan çalışmalarda herhangi bir ilişki bulunamamıştır [20, 50, 61, 76].

Çalışmamızın amacı, Türk toplumunda görülen PKOS'un, *CYP 17* gen polimorfizmi ile arasındaki ilişkiyi incelemektir. Bunun yanı sıra sağlıklı bireyler ile PKOS hastası bireyler arasında ve PKOS hastası bireylerin farklı genotipleri arasında biyokimyasal parametlerin fark gösterip göstermediğini tespit etmektir.

2. POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PKOS)

2.1. Tanım

Günümüzde polikistik over sendromu (PKOS) olarak bilinen bozukluk, ilk kez 1935 yılında, Stein ve Leventhal'ın amenorrhea, kısırlık ve aşırı kıllanma belirtileri olan 7 kadın üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucu tanımlanmıştır [26,5]. PKOS, heterojen, çok faktörlü, karmaşık genetik ve endokrin bozukluklarla seyreden, adet bozuklukları ile karakterize, hiperandrojenizm ve polikistik yumurtalıkların klinik ve biyokimyasal tablosudur [2]. PKOS'un üreme çağındaki kadınların en az %5-%15'ini etkilediği ve bu yüzden dünya çapındaki en yaygın endokrin anormallik olduğu tahmin edilmektedir [48]. Üreme çağındaki kadınların %20 ila %35'inin ultrason görüntüsünde polikistik yumurtalıkların varlığı tespit edilmesine rağmen bunlardan yaklaşık %10'una PKOS teşhisi konulmaktadır [8].

Polikistik over sendromunun metabolik bir sendrom olarak tanınmasının sebebi vücudun fizyolojik ve metabolik yapıları üzerinde insülin direnci, hiperinsülinemi, obezite, dislipidemi (azalmış HDL ve hipertrigliserit), hipertansiyon ortaya çıkarması ve PKOS'ta tip 2 diyabet, endometrial hiperplazi ve kalp damar hastalıkları riskinin artmış olmasıdır[54]. Bununla birlikte PKOS, anovulasyon (dolayısıyla düzensiz adet dönemleri), ve hiperandrojenizm belirtileriyle karakterizedir [12].

Polikistik over sendromu değişik populasyonlarda birbirinden farklı tablolar ortaya çıkararak seyredebilir. PKOS'lu kadınların yaşlarına ve yaşam şekillerine bağlı olarak semptomların varlığı çeşitlilik göstermektedir. Bu sebeple polikistik over sendromu tanısı için birden fazla teşhis yöntemi bulunmaktadır [49].

1990 yılında Birleşmiş Milletler Uluslararası Sağlık Örgütü polikistik over sendromunu diğer yansımalarını dışlamak kaydıyla aşağıdaki iki belirtinin aynı anda bulunmasıyla tanımlamıştır;

1. kronik yumurtlayamama

2. hiperandrojenizmin klinik ve biyokimyasal belirtilerinin varlığı [49]
3. 2003 yılında Amerikan Üreme Hekimliği Topluluğu (ASRM) ve Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Topluluğu (ESHRE) Rotterdam ortak bildirisine göre; diğer klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi belirtileri hariç tutulmak kaydıyla aşağıdaki belirtilerin en az ikisinin gözlenmesiyle PKOS tanısı koyulmaktadır [53].

1. Oligo ve/veya anovulasyon

2. Hiperandrojenizmin klinik veya biyokimyasal belirtileri

- Biyokimyasal : Total T > 70 ng/dL, Androstenedione > 245ng/dL, DHEA-S >248 ug/dL)

- Klinik: Akne, Hirsutizm (aşırı kıllanma),

3. Polikistik Yumurtalıklar: > 12 folikül (2-9mm çapında), her bir yumurta veya yumurtalıktaki hacim > 10cc [47].

Aşırı Androjen Topluluğu ise 2006 yılında PKOS tanısını; aşırı androjen seviyesi (klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm), yumurtalık fonksiyon bozukluğu (oligo-anovulasyon ve/veya polikistik morfoloji), PKOS'a benzeyen bozukluklara sebep olan durumların dışlanması (konjenital adrenal hiperplazi, androjen salgılayan tümörler, eksojen androjenler, Cushing's sendromu, acanthosis nigricans sendromu, tiroit bozuklukları ve hiperprolaktinemi) şeklinde koymaktadır [16]. NIH 1990, Rotterdam 2003 ve AE-PCOS 2006 Kriterlerine göre PKOS tanısı konulabilecek fenotipler Çizelge 2.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. NIH 1990, Rotterdam 2003 ve AE-PCOS 2006 Kriterlerine göre PKOS tanısı konulabilecek fenotipler [16].

ÖZELLİKLER/TANI KRİTERLERİ	POTANSİYEL FENOTİPLER								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Hiperandrojenizm	+	+	+	+	-	-	+	-	+
Kıllanma	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Oligo-anovulasyon	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Polikistik Yumurtalıklar	+	-	+	-	+	-	+	+	+
NIH 1990 Kriterleri	√	√	√	√	√	√	X	X	X
Rotterdam 2003 Kriterleri	√	√	√	√	√	√	√	√	√
AE-PCOS 2006 Kriterleri	√	√	√	√	√	√	√	√	X

Arroya A. ve arkadaşları tarafından 1997 yılında yapılan bir çalışmada PKOS'un klasik formuyla, uygun olmayan gonadotropin salınımının ilişkili olduğu belirtilmiştir [4]. Gonadotropin salınımındaki bozukluklar artmış bir LH seviyesi, artmış LH:FSH oranı ve LH atım sıklığının yükselmiş olmasıdır [69]. PKOS, çeşitli endokrin ve metabolik anormalliklerin var olduğu karmaşık bir bozukluk olmasına rağmen yüksek androjen seviyesinin hastalık patojenisinde anahtar rol oynadığına dair pek çok delil vardır. Bu androjenler adrenal bezlerde olduğu kadar yumurtalıklarda da üretilmektedir. Androstenedione ve testosteron üretiminin %25'inin yumurtalık kökenli, %25'inin adrenal kökenli, %50'sinin de periferel dokularda olduğu tahmin edilmektedir. PKOS'ta ise androjen üretiminin %60'ı yumurtalıklarda, %40'ı ise adrenal katkılar ile olmaktadır [54]. Pek çok çalışma ilave bir adrenal anormalliğin delilini işaret etse de yumurtalıklar aşırı androjen üretiminin temel kaynağı olarak görünmektedir. PKOS'lu kadınların teka hücrelerinin kültürlerinde normal kadınların tekal hücrelerine göre 20 kat fazla androstenedione ürettiği bilinmektedir [33].

İnsülin direncinin PKOS ile ilişkili olduğu tanımlanmış ve hipertansiyon, dislipidemi ile ilişkilendirilmiş ve kardiyovasküler ve serebrovasküler riskleri artırabileceği ortaya konmuştur. İnsülin direncinin endotelin 1 (ET-1) seviyesinin artmasıyla endotelial hasarlarda anahtar rol oynadığına inanılmaktadır [59]. PKOS'lu kadınlarda görülen klinik belirtilerin oranları Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. PKOS'lu kadınlarda görülen klinik belirtilerin oranları [49]

ADET DÜZENSİZLİĞİ	AŞIRI KILLANMA (HIRSUTISM)	OBEZİTE	İNSÜLİN DİRENCİ	AKNE
Yaklaşık %70'inde	Yaklaşık %70'inde	Yaklaşık %50'sinde	Yaklaşık %50'sinde	%30'undan çok

2.1.1. Endokrinolojik anormallikler

PKOS'lu kadınlardaki en önemli endokrin anormallik androjen ve LH'nin serum konsantrasyonundaki artışı ile hiperinsülinemi ve insülin direncidir [33].

Artmış LH:FSH oranı

PKOS artmış lutein hormon (LH) salgısı ve azalmış folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanması ile karakterizedir. PKOS'lu kadınların yaklaşık %55-75'i artmış LH:FSH (>2.5 : 1) oranına sahiptir [44].

LH, yumurtalık teka hücreleri ve yumurtalık granuloza hücreleri üzerinde bulunan FSH'ı düzenleyici olarak görev yapar. Androjen öncüsü androstenedione, LH uyarımı altındaki tekal hücreler tarafından sentezlenir [28].

LH'nin aşırı sentezi PKOS'lu hastaların %50'sinden fazlasında gözlenmekle birlikte Rotterdam Tanı Kriterleri belirlenmeden önce artmış LH:FSH oranı PKOS teşhisi

koymakta oldukça yaygın olarak kullanılmıştır. LH, yumurtalık androjen salınımını uyardığı ve oosit olgunlaşmasını etkilediği için aşırı sentezinin PKOS patojenisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir [34].

Hiperandrojenizm

Hiperandrojenizm (hiperandrogenemia), androjenlerin kan seviyesinde yükselmesi olarak tanımlanmaktadır [9]. Klinik olarak androjen yüksekliği kıllanma ve/veya akne varlığıyla teşhis edilmektedir. Polikistik over sendromunda yüksek androjen seviyesine bağlı oluşan akne, genel dermatoloji uygulamalarına dirençli ve sürekli [38].

PKOS, çeşitli endokrin ve metabolik anormalliklerin var olduğu karmaşık bir bozukluk olmasına rağmen yüksek androjen seviyesinin hastalık patojenisinde anahtar rol oynadığına dair pek çok delil vardır. Bu androjenler adrenal bezlerde olduğu kadar yumurtalıklarda da üretilmektedir. Androstenedione ve testosteron üretiminin %25'inin yumurtalık kökenli, %25'inin adrenal kökenli, %50'sinin de periferel dokularda olduğu tahmin edilmektedir. PKOS'ta androjen üretiminin %60'ı yumurtalıklarda, %40'ı ise adrenal katkılar ile olmaktadır [54].

Androjenler steroid hormonlardır. Steroid üretimi kolesterol ile başlar ve steroidogenik enzimler sitokrom P450 grubu üyesidir. Toplam androjen havuzu, androjen öncülleri olan dehidroepiandrosteron (DHEA), DHEA sülfat (DHEA-S), ve androstenedion; aktif androjenler olan testosteron ve dihidrotestosteron (DHT) ve androjen metabolitleri olan androsteron glukuronidaz ve sülfataz'dan oluşmaktadır [55]. Çizelge 2.3'de hiperandrojenizmin klinik semptomları ve işaretleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Hiperandrojenizmin klinik semptomları ve işaretleri [55].

Hiperandrojenizmin Klinik Semptomları ve İşaretleri	
Kıllanma	Obezite
Akne	Klitoral hipertropi
Adet Düzensizlikleri	Erkek tipi kelleşme
Düzensiz yumurtlama	Ses kalınlaşması
Kas gelişimi	Libidoda değişiklik

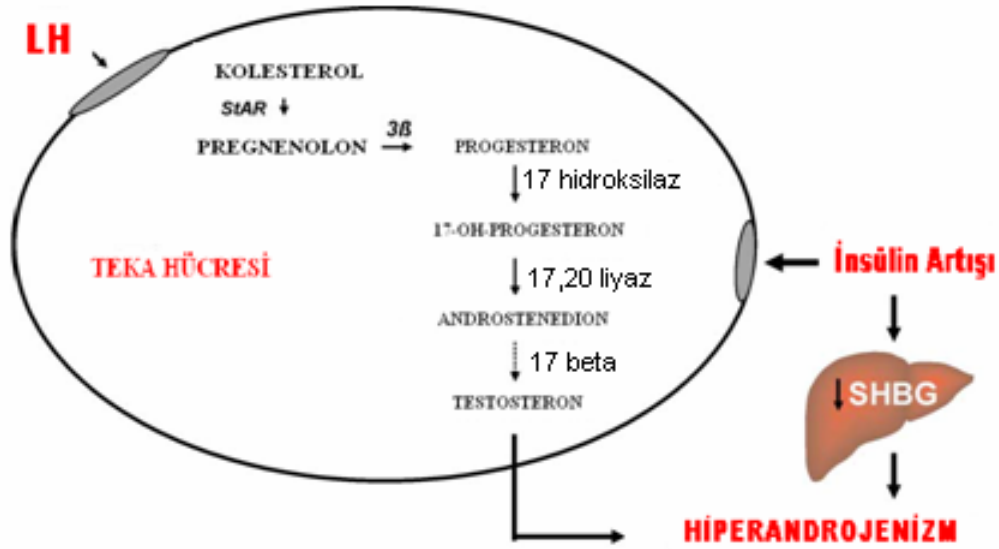
İnsülin direnci

İnsülin direnci, insülinin hedef doku içindeki glikoz uyarımı yeteneğinin azalması ya da insülinin belli miktarına karşı glikozun artmış cevabı olarak tanımlanmaktadır [13]. Kronik hiperinsülinemi hedef dokudaki bu dirence karşılık oluşan bir cevaptır. İnsülin direncinin periferik hedef doku direnci, azalmış hepatik açıklık ya da artmış pankreatik hassasiyeti içeren birden fazla mekanizması vardır [13].

İnsülin direnci ile kıllanma arasındaki ilişki yıllardır bilinmektedir. İlk kez 1920 yılında Achard ve Thiers tarafından sakallı kadınlarda diyabet gözlemlendiği ifade edilmiştir. Hiperinsülinemi ile hiperandrojenizm arasındaki bağlantıyı gösteren pek çok mekanizma vardır. Androjenlerin baskılanması normal insülin hassasiyetini yenilemez. Ayrıca insülin yumurtalık androjen üretiminde doğrudan etkilidir. İnsülin seviyesinin baskılanması androjenlerin dönüşümünü azaltmaktadır. İnsülin yoluyla hassasiyeti artmış ACTH (adrenokortikotropik hormon) adrenal steroidlerin artmasına sebep olmaktadır. Bu bulgular insülin direncinin PKOS gelişiminde oldukça etkili olduğunu desteklemektedir [49].

Normal yumurtalık fonksiyonu için LH'nin yumurtalık tekal hücreleri, FSH'nin da yumurtalık granuloza hücreleri üzerinde düzenli bir aktivite göstermeleri gerekir. Androjenik öncü androstenedione, LH uyarısı ile tekal hücreler tarafından üretilir. Pek çok hormon (insülinin de içinde olduğu) ve büyüme faktörü LH'a karşı düzenleyici faktör yanıtı oluşturur. İnsülinin yumurtalık insülin reseptörü yoluyla

yumurtalık androjen üretimini artırma yeteneği vardır [28]. Şekil 2.1’de insülin artışı ve LH’in tekal hücrelerde hiperandrojenizm’e sebep olma mekanizması gösterilmektedir [28].



Şekil 2.1. İnsülin artışı ve LH’in tekal hücrelerdeki yanıtı: Hiperandrojenizm [28].

İnsülinin yumurtalıklar üzerindeki ilk etkisi yumurtalık steroid üretimini uyarmasıdır. Hiperinsülinemi ile hiperandrojenizm arasında kuvvetli bir ilişki vardır. İnsülin IGF-I reseptörüne bağlandıktan sonra LH’a yanıt olarak tekal androjen sentezi artar. Bundan dolayı insülin direnci obezitenin bir karakteridir ve sonuçta bu kadınlarda hiperinsülinemi aşırı androjene sebep olmaktadır. Bununla birlikte, obezite ve hiperinsülinemi PKOS’un iki önemli metabolik resmini oluştururlar ve hiperinsülineminin derecesi ile obezitenin derecesi arasında pozitif bir ilişki vardır [21].

Obezite ile PKOS kuvvetli bir şekilde ilişkilendirilmiştir ve obeziteye hastaların en az %30’unda rastlanması ile birlikte bazen bu oran %75’e kadar çıkmaktadır. SHBG seviyesi vücut yağının artmasıyla azalmaya meyil gösterir. SHBG, östrojen, uyarıcı faktörler olarak büyüme hormonları, androjenler, baskılayıcı faktörler olarak insülin gibi yapıları içeren bir kompleks faktörler topluluğu tarafından düzenlenir. Obezitede hiperinsülinemi insülin direnci ve karaciğerde SHBG sentezi inhibitörlerine karşı galip gelir [7].

1980'li yılların başındaki çalışmalar ilk kez PKOS'lu kadınların normal kadınlara göre dolaşımında yüksek insülin seviyelerine sahip olduklarını göstermiştir. Bu gözlemler vücut ağırlığından bağımsız olarak gerçekleşmiştir çünkü obez ve obez olmayan PKOS'lu kadınlarda hipereinsülineminin kanıtları bulunmuştur. İlave çalışmalar insülin direncinin altında yatan hiperinsülinemi ile bağdaştırılmış ve günümüzde PKOS'lu kadınların %50 ila %70'inde insülin direnci olduğu tahmin edilmektedir. Bu gözlem glikoz toleransının artması riski ya da tip 2 diabetes gelişimini akla getirmiştir ki bunun normal kadınlardan 5 ila 10 kat fazla olduğu tahmin edilmektedir [43].

Dislipidemi

PKOS, dolaşımında artmış LDL ve azalmış bir HDL seviyesi ile karakterizedir. Bu durum obezite ile ilişkilendirilmektedir [32].

2.1.2. Klinik belirtiler

Adet düzensizlikleri

Adet düzensizlikleri PKOS'un en yaygın klinik tablolarından biridir. Sık olmamak kaydıyla düzensiz adet dönemlerinin görülmesi olan "Oligomenorrhea", PKOS'lu kadınların yaklaşık %85-90'ında görülürken, hiç adet döneminin görülmemesi olan "Amonorrhea" PKOS'lu kadınların %30-40'ı arasında görülür [2, 26].

Hirsutizm (kıllanma)

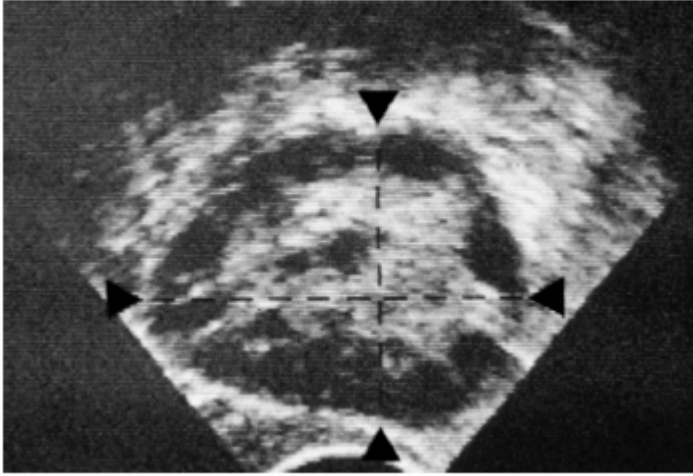
Kıllanma, erkek tipi başın yan kısmında aşırı saç çıkması ve 0,5 cm'den daha uzun olması olarak tanımlanmaktadır [44]. Bunun yanı sıra dudaklar üstünde bıyık şeklinde, çene altında, göğüsler arasında, göbek hattı boyunca, bacakların üst kısımlarında, sırtta ve kalçada PKOS'a bağlı kıllanma görülmektedir [44]. Şekil 2.2'de PKOS'a bağlı kıllanmanın dağılım gösterdiği bölgeler ve gelişim seyri gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Vücudün değişik bölgelerinde PKOS'a bağlı kıllanmanın gelişimi [44].

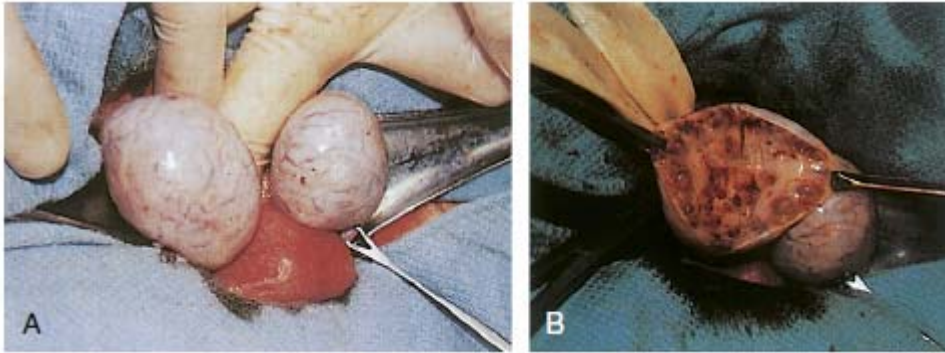
Polikistik yumurtalıklar

2003 Rotterdam tanı kriterlerine göre yumurtalık ultrason görüntüsünde bir yumurtalıkta 2-9 mm çapında boncuk şeklinde dizilmiş 12 veya daha fazla folikül bulunması ve/veya yumurta hücresi hacmi 10 cc'den büyük olması PKOS tanısı koymak için gereken koşullardan biridir. Şekil 2.3'te polikistik yumurtalıkların ultrasonografik görüntüsü yer almaktadır [45, 30].



Şekil 2.3. Yumurtalıkta boncuk şeklinde dizilmiş foliküllerin ultrason görüntüsü [19].

Yumurtalıklardan birinde polikistik yapının görülmesi polikistik over tanımı için yeterlidir. Histolojik olarak yumurtalıklarda fazla sayıda folikül bulunur, iç teka hücre katmanında hipertrofi ve luteinizasyon oluşmuştur ve over tunikası kalınlaşmıştır [45, 30]. Şekil 2.4'de A: cerrahi operasyonla çıkarılmış yumurtalık, B: yumurtalık içinde dizilmiş polikistik yapı görülmektedir.



Şekil 2.4. Yumurtalıklardaki polikistik yapılar: A: cerrahi operasyonla çıkarılmış yumurtalık, B: yumurtalık içinde dizilmiş polikistik yapı [19].

2.2. Polikistik Over Sendromu ile İlişkili Olduğu Düşünülen Genler

Polikistik over sendromu, endokrinolojik anormallikler, insülin direnci ve menstruel anormalliklerle seyreden karmaşık metabolizmaya sahip bir hastalık olduğu için genetik yapısının anlaşılabilmesi için pek çok çalışma yapılmıştır. Bu kapsamda

PKOS ile ilişkili olduğu düşünölen genler ve dünya üzerinde yapılmış çalışmalar aşağıdaki başlıklar altında incelenmiştir.

2.2.1. AR (androjen reseptör) geni

Polikistik over sendromunda dolaşımdaki androjenlerin seviyesi yüksek olduğu için, hastalığın buna bağlı olabileceği düşünölmüştür. Androjen işlevine, transkripsiyon faktörü ailesine üye olan androjen reseptörü (AR) aracılık etmektedir. AR geni, insan Xq11.2-12 kromozomu üzerinde yer alır, 90 kb uzunluğundadır, 8 ekzon içerir ve 917 amino asitten oluşan androjen reseptör proteinini kodlar. Ekzon 1'deki 58. kodon üzerinde bulunan CAG üçlü polimorfik yapı, androjen reseptörünün N terminal bölgesinin poli glutamin uzaması işlevini kodlamaktadır. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda CAG tekrarları ile AR fonksiyonunun birbiriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. [57,41].

2005 yılında Jarmo Jääskeläinen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada AR geni tekrarlayan CAG dizileri polimorfizmi ile PKOS arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir [41].

2008 yılında Jin Ju Kim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada AR geninin tekrarlayan CAG dizi polimorfizmi ile PKOS arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir [57].

2.2.2. Nos3 (nitrik oksit sentetaz) geni

Nitrik oksit (NO) eksikliği gibi durumlarda gelişen endotelial bozukluk ve hasarlar; damar yağlanması, hipertansiyon, kalp hastalıkları, insülin direnci ve tip 2 diyabetin başlangıç adımlarını akla getirmektedir. NO'in temel görevi damarları genişletmek ve kas gevşemesini sağlamak olmasına rağmen pubertal gelişim, yumurtlama kapasitesi, erken embriyonik gelişim, gebeliğin yönlendirilmesi ve menopozun zamanlanması gibi çoklu görevleri de vardır. Nos3 geni insan 7q35-36 kromozomu üzerinde bulunur ve endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) enzimini kodlar. eNOS enzimi serbest radikal nitrik oksitin üretilmesini katalizler. Nos3 geni ekzon 7 ve

intron 4 bölgelerinde meydana gelen VNTR polimorfizminin eNOS işlevini etkileyerek NO sentezinin zayıflamasına sebep olduğu bilinmektedir. Ancak 2008 yılında KatharinaWalch ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS ile bu polimorfizm arasında bir ilişkinin olmadığı tespit edilmiştir [75].

2.2.3. *ER-β* (östrojen reseptör β) geni

Östrojen faaliyeti, transkripsiyon faktörü üst ailesinin çekirdek reseptörüne ait olan östrojen reseptörü (ER) vasıtasıyla gerçekleşir. Östrojen reseptörü, ER- α ve ER- β olmak üzere iki sınıfa ayrılmıştır. İnsan granuloza hücrelerinde sadece ER- β 'nin mRNA'sı tespit edilmiştir ve bunun foliküler büyümede ve oosit gelişiminde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple *ER-β* geninde meydana gelen bir bozukluğun foliküler gelişimi bozduğu ve bu durumun PKOS'a sebep olabileceği düşünülmüştür [47].

Jakimiuk ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada PKOS'lu kadınlarda bozulan *ER-β* ifadesinin granuloza ve teka hücrelerinde meydana getirdikleri değişiklikleri göstermişlerdir [42].

Jin Ju Kim ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada *ER-β* geninin G/A polimorfizminin PKOS ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [47].

2.2.4. *SHBG* (cinsiyet hormonu bağlayıcı globulin) geni

İnsan cinsiyet hormonu bağlayıcı globulin (SHBG), dihidrotestosteron, testesteron ve östradiole özgün taşıyıcı bir proteindir. Bu glikoprotein insan 17. kromozomunun kısa kolu üzerinde yer alan 4 kb büyüklüğündeki bir gen tarafından kodlanır. İnsanlarda, çoğunlukla çeşitli hormonal ve metabolik düzenleyicilerin kontrolü altında karaciğerde sentezlenir. SHBG'nin sentezi östrojenler ve tiroid hormonları tarafından uyarılırken, androjenler ve insülin tarafından baskılanır. Polikistik over sendromlu ve hiperandrojenizmin akne ve kıllanma belirtilerini gösteren kadınlarda çoğunlukla serum SHGB seviyesi düşük bulunmuştur [12].

Xita ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *SHGB*'nin (TAAAA)_n dizisi ile PKOS'un ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada PKOS'lu kadınların sağlıklı kadınlara göre oldukça büyük sıklıkta (8 tekrardan fazla) (TAAAA)_n allellere sahip oldukları tespit edilmiştir [3]. Bendlova ve arkadaşlarının 2007 yılında *SHBG* gen polimorfizmi üzerine yaptıkları çalışmada PKOS ile ilişki tespit edilmemiştir [12].

2.2.5. İnterlökin (IL) 6 geni

İnterlökin-6, 185 amino asitten oluşan bir glikoproteindir ve çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerin içerdiği pleiotropik bir sitokindir. *IL-6*'nın, damar yağlanması, kalp damar hastalıkları, kemik erimesi, alerjik reaksiyonlar ve tip 2 diabetesin önemli bir risk faktörü olan hepatik C reaktif protein (CRP)'nin üretiminde rol oynadığı bilinmektedir. Üreme metabolizmasında *IL-6*, parakrin ve otokrin gibi endokrin aktiviteye sahiptir. Fare deneylerinde tümör nekroz faktör ve *IL-6* üretiminin artırılması, foliküler kistik yumurtalıkları ortaya çıkarmıştır. İnsan *IL-6* geni kromozom 7p21-24 üzerinde yer alır ve 330 bç büyüklüğünde bir promotör içerir. *IL-6* geninin promotör bölgesindeki yaygın A/G polimorfizmi çok fonksiyonlu sitokinlerin transkripsiyon oranı üzerine etki eder. *IL-6* gen polimorfizminin androjen seviyelerinin ve insülin hassasiyetinin düzenlenmesine etki ettiği düşünülmektedir [74].

Walch ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada *IL-6* geninin promotör bölgesindeki A/G polimorfizmi ile PKOS arasında bir ilişki tespit etmişlerdir [74].

2.2.6. ACE (anjiotensin dönüştürücü enzim) geni

Renin anjiotensin sisteminin oosit olgunlaşması, yumurtlama ve steroid üretimi üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Anjiotensin dönüştürücü enzim, yumurtalık gibi pek çok dokuda ifade olunan RAS (Renin Anjiotensin Sistem) ailesinin bir üyesi olan *ACE* geni tarafından kodlanır. *ACE* ve ürünlerinin sığırlarda yumurtalık gelişimi, mayoz ve steroid sentezinde etkili olduğu gözlenmiştir. *ACE* geni intron 16 bölgesinde 287 bçlik ALU tekrarlayan sekanslarını içeren insersiyon

(I) ve delesyon (D) polimorfizmlerini içerir. Bunun sonucunda DD, II ve DI genotipleri oluşur. Homozigot D allelini içeren bireylerde serumda yüksek seviyede enzim bulunduğu, homozigot I allelini içeren bireylerde enzim seviyesinin düşük olduğu ve heterozigot DI bireylerde ise serum enzim seviyesinin orta seviyelerde olduğu gözlenmiştir [10].

2011 yılında Bayram ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *ACE* geni I/D polimorfizmi ile PKOS arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir [10].

2.2.7. *CYP11A* geni

CYP11A geni androjen biyosentezinin en önemli etkenlerinden biridir. Bu gen kolesterolün pregnenolona dönüşmesini sağlayan P450scc (P450 yan zincir bağlayıcı) enzimini kodlar. Kolesterolün pregnenolona dönüşmesi yumurtalık steroid üretiminin başlangıç adımlarından biridir [65]. Bu genin transkripsiyon tarafında yer alan 528 bçlık bir mikrosatellit polimorfizminin (tttta)n, PKOS ve serum testosteron seviyeleriyle ilişkili olduğu düşünülmüştür [24].

Akgül ve arkadaşları 2011 yılında Türk ergen kadınları üzerinde *CYP11A* gen polimorfizmini araştırmışlar ve PKOS ile bu gen arasında bir ilişki tespit etmişlerdir [1].

Diamanti-Kandarakis ve arkadaşlarının 2000 yılında Yunan kadınlarıyla yaptıkları çalışmada *CYP11A* mikrosatellit polimorfizminin (tttta)n serum testosteron seviyesi ve PKOS ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [24]. Pusalkar ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada *CYP11A* gen polimorfizmi ile PKOS arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [65].

2.2.8. *İnsülin reseptör (INSR) geni*

PKOS'un klinik belirtileri arasında insülin direnci, hiperinsülineminin bulunması ve tip 2 diabetes gelişme olasılığının yüksek olması sebebiyle *insülin reseptör* geni

araştırmacıların dikkatini çekmiştir. *INSR* geni, 120 kb büyüklüğünde 22 ekzon içerir ve insan kromozomu 19p13.3 üzerinde bulunur. İnsülin reseptörü, tirozin kinaz reseptör ailesinin bir üyesidir. İnsülin reseptörünün tirozin kinaz egemen kısmını kodlayan ekzon 17-21 arasında meydana gelen bir mutasyon, insülin direnci ve hiperinsülinemi ile ilişkilendirilmiştir [12,39]. İnsülin, androjenlerin yumurtalıkta üretimini ve salgılanmasını uyararak, yumurtalıkların LH ve FSH üzerindeki stereidogenik yanıtına etki eder ve yumurtalık foliküllerinin apoptozunu baskılayarak kist formunun oluşmasına sebep olur [53]. Bu sebeple *INSR* gen polimorfizmi ile PKOS arasında bir ilişki olabileceği düşünülmüştür.

2008 yılında Valdés ve arkadaşları *INSR* geni Gly972Arg varyantları ile PKOS arasında bir ilişki olmadığını tespit etmişlerdir [71].

Baba ve arkadaşlarının Japon kadınları üzerinde yaptıkları çalışmada, PKOS'lu kadınların *IRS-1* 972Arg allellerini sağlıklı kadınlara göre anlamlı bir seviyede fazla bulduklarını tespit etmişlerdir [6].

PKOS'lu kadınlarda yapılan bir çalışmada bu bölgede His 1085 C/T polimorfizmi tespit edilmiştir [53]. Lee ve arkadaşlarının *INSR* geni tek nükleotit polimorfizmini araştırdıkları bir çalışmada PKOS ile polimorfizm arasında istatistiksel olarak bir ilişki tespit edememişlerdir [53].

2010 yılında Ioannidis Anastosios ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *İnsülin Reseptör* geni Gly972Arg polimorfizminin PKOS ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. [39].

2.2.9. Calpain 10 ailesi

CAPN 10 kodlayan gen 2q37.3 kromozomu üzerinde yer alır, 31kb büyüklüğünde 15 ekzon içerir. Calpainler bütün dokularda bulunan, lizozomal sistein proteaz olmayan bir ailedir. Calpain her bölgede ifade olmasına karşın pankreatik ada hücrelerinde, kaslarda ve karaciğerde artmış bir transkripsiyonel aktivite gösterir ki bu durum

insülinin ve hepatik glikoz üretiminin düzenleyici bir parçası olduğunu düşündürmektedir [60, 77].

2007 yılında Wiltgen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *CAPN 10* geni UCSNP-43 polimorfizmi ile PKOS arasında ilişki olduğu, ancak *CAPN 10* geni UCSNP-19 ve UCSNP-63 polimorfizmleri ile PKOS arasında bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir [77].

Günaltılı'nın 2010 yılında yaptığı "Polikistik Over Sendromunda *Capn 10-19* (Kalsiyum İle Aktive Edilmiş Nötral Proteinaz 10 Snp 19) Ve *Capn 10-43* (Snp 43) Polimorfizminin Araştırılması, Gen Direnci Ve Klinik Parametreler İle İlişkisi" isimli tez çalışmasında *CAPN 10-19* genotip ve allel dağılımları ile PKOS arasında bir ilişki bulunmadığı ancak *CAPN 10-43* polimorfizminde A allel sıklığı ile PKOS arasında ilişki bulunduğu gözlenmiştir [37].

Marquez ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada *CAPN 10* UCSNP-43 bölgesinde yaygın olmayan bir A allelinin varlığının artmış PKOS riski ile ilişkili olduğu, *CAPN 10* UCSNP-63 ve UCSNP-19 bölgeleriyle PKOS arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir [64]. 2002 yılında Gonzalez ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada *CAPN 10* geni intron 3'te bulunan SNP-44 ve intron 6'da bulunan SNP-19 bölgesindeki polimorfizmler ile PKOS arasında ilişki olduğunu tespit etmişlerdir [35].

2.2.10. CYP 19 geni

CYP 19 geni insan 15. kromozomu üzerinde yer alır ve aromatazların en önemli bileşeni olan sitokrom P450'yi kodlar. Aromataz, androjenlerin östrojenlere dönüşmesini sağlayan anahtar enzimdir. *CYP 19* geninde aromataz aktivitesinin varyasyonları ile ilişkilendirilmiş değişik polimorfizmler bulunmaktadır. Bir sessiz tek nükleotit polimorfizmi (SNP) olan C1558T (mRNA'nın ifade olmayan 30 bölgesinin yerini tutar), meme kanseri hücrelerinin aromataz mRNA düzeyleriyle ilişkilendirilmiştir [73].

2.2.11. CYP 17 geni

CYP 17 geni insan 10q24.3 kromozomu üzerinde yer alır ve 8 ekzondan oluşur [23,27]. *CYP 17* cDNA'sı 1527 bp büyüklüğündedir ve 508 aminoasitten oluşan bir proteini kodlar [72]. *CYP 17* geninin kodladığı sitokrom P450c17 α enzimi hem 17 α -hidroksilaz hem de 17,20-liyaz aktivitesi gösterir ve steroid hormon üretiminde iki önemli adımda görev alır [36]. 17 α -hidroksilaz ve 17,20-liyaz aktivitesi çoğunlukla insan adrenal bezlerinden sentezlenen DHEA'ya cevap olarak ortaya çıkar. DHEA(dehidroepiandrosteron)'nın dolaşımdaki seviyesi 6-7 yaş arasında artmaya başlar ve 10-20 yaş arasında maksimum seviyeye ulaşır. *İn vivo* ve *in vitro* çalışmalar DHEA'nın obezite karşıtı, tümör karşıtı, yaşlanma karşıtı ve kanser karşıtı etkiler ile güçlü bir ilişkisinin olduğunu göstermiştir [18]. P450c17 α özellikle adrenal bezler, testis Leydig hücreleri ve yumurtalık tekal hücreleri üzerinde ifade olur [66]. P450c17 α enzim aktivitesindeki bozukluğun yumurtalık androjen yüksekliğinin temel sebebi olduğu gözlenmiştir [25]. Artmış P450c17 α enzim aktivitesi polikistik over sendromunda androjen biyosentezini ve salgısını artırmaktadır. Wickenheisser ve arkadaşları *in vitro* kuşullarda PKOS'lu hastalara ait yumurtalık teka hücrelerinin normal kadınlarınkine göre artmış bir *CYP 17* ifadesi gösterdiğini ifade etmişlerdir. *CYP 17* geninin promotör bölgesinde 34 bçlik bir T/C polimorfizmi gözlenmiştir [65].

Gorai ve arkadaşlarının 2007 yılında Japon kadınları üzerinde yaptıkları bir araştırmaya göre DHEA, androjen, E2 biyokimyasal parametreleri ile PKOS arasında önemli bir ilişki tespit edilmiştir. [36]. Diamanti-Kandarakis ve arkadaşlarının 1999 yılında PKOS'lu Yunan kadınları ile yaptıkları bir çalışmada ise *CYP 17* promotör bölgesinde polimorfizm saptanmıştır [25].

Souiden ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada prostat kanseri ile *CYP 17* T/C polimorfizmi arasında ilişki saptanmıştır [68].

Bentz ve arkadaşlarının 2008 yılında transeksüeller üzerinde yaptıkları bir araştırmada ise cinsiyetini kadından erkeğe değiştiren bireylerde *CYP 17* geni T/C

allel sıklığı bakımından normal kadınlarla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmişken, cinsiyetini erkekten kadına değiştiren bireylerde bu allel bakımından bir farklılık tespit edilmemiştir [14]. Bu durum *CYP 17* genindeki bozuklukların özellikle kadınlar üzerinde erkekleşme bakımından etkili olabileceğini düşündürmektedir. *CYP 17* genindeki polimorfizmlerin meme kanseriyle de bağlantılı olabileceği yönünde görüşler vardır. Kuligina ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada ise meme kanseri ile *CYP 17* gen polimorfizmi arasında bir ilişki tespit edilmemiştir [50]. Yine Miyoshi ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada meme kanseri ile *CYP 17* gen polimorfizmi arasında bir ilişki bulunmadığı tespit edilmiştir [61]. Pusalkar ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada PKOS'lu hastalarla normal bireylerin *CYP 17* promotör bölgesinde bir T polimorfizmi olduğu saptanmıştır [65]. Echiburu ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada artmış insülin direnci ve yüksek kilolu PKOS'lu kişilerde *CYP 17* promotör bölgesinde bir T/C polimorfizmi tespit etmişlerdir [27]. Prostat kanserinin cinsiyet hormonlarıyla ilişkili olduğu düşünüldüğü için bu hastalığa *CYP 17* genindeki bir bozukluğun sebep olabileceği düşünülmüştür. Ancak 2003 yılında Lin ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada *CYP 17* geni C/T polimorfizmi ile prostat kanseri arasında herhangi bir ilişkinin bulunmadığı tespit edilmiştir [20]. Wei ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada yine *CYP 17* gen polimorfizmi ile prostat kanseri arasında bir ilişki bulunmadığı tespit edilmiştir [76]. Berstein ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada *CYP 17* geni CC polimorfizmi ile endometrium kanseri arasında bir ilişki tespit edilmiştir [15].

3. MUTASYON ANALİZİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

1980' li yılların ortalarında Mullis ve arkadaşları tarafından geliştirilen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), yüksek sıcaklıklarda yaşayabilen bir bakteri türü olan *Thermus aquaticus*'tan elde edilen Taq polimeraz enzimi vasıtasıyla DNA'nın istenilen bir bölgesini çoğaltma prensibine dayanır [64,31]. Bu teknikte sentetik oligonükleotit olan bir çift primer kullanılır ki bunlardan her biri çift iplikli DNA'nın bir ipliğini çoğaltır. Kalıp DNA'ya bağlanan primerlere Taq DNA polimeraz aktivitesiyle deoksिनükleotitler eklenerek DNA kopyası elde edilir. Klasik bir PZR reaksiyonu üç basamakta gerçekleşir:

94-95°C'de çift iplikli DNA'nın denatürasyonu

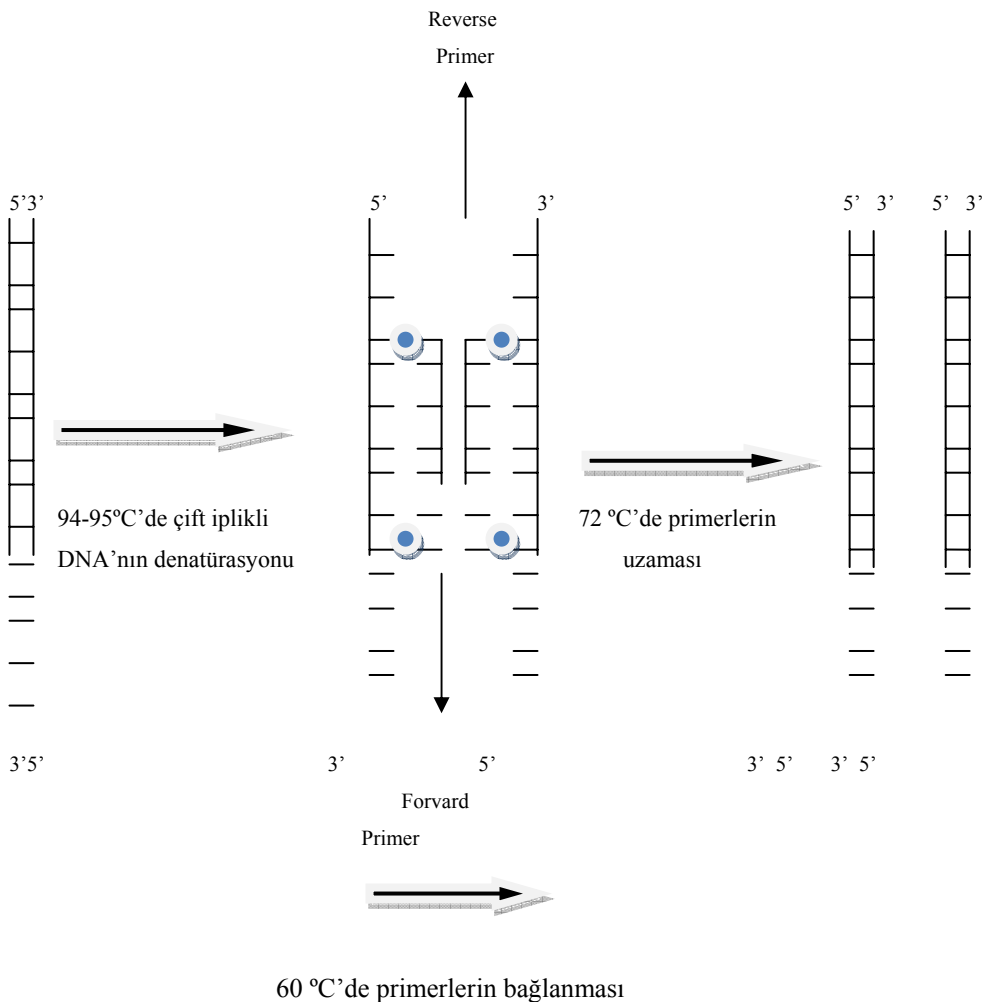
60 °C'de DNA'nın her bir ipliğine primerlerin bağlanması

72 °C'de primerlerin uzaması. [64]. Polimeraz zincir reaksiyonunun basamakları Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

Polimeraz zincir reaksiyonunun her basamağı reaksiyon tüpü içerisinde spesifik sıcaklıklarda gerçekleşir. İlk adım olan kalıp DNA'nın denatürasyonu ortalama 94°C'de 1-5 saniye sürer. Bu işlem sırasında çift zincirli DNA molekülünün zincirleri arasındaki bağlar koparak tek iplikli DNA oluşmasını sağlar. İkinci adım primerlerin DNA zincirlerine bağlanmasıdır. İleri primer DNA'nın bir zincirine, geri primer ise diğer zincirine spesifik bölgelerden bağlanır ve bu aşama primerin uzunluğuna bağlı olarak değişen 40-70°C'ler arasında gerçekleşir. Daha sonra 70-75 °C'de Taq DNA polimeraz aktivitesiyle reaksiyon tüpü içerisinde serbest halde bulunan deoksिनükleotitler primerlere bağlanır ve her bir primer uzatılır. Bu üç basamaklı reaksiyon genellikle 25-45 kez tekrar edilir ve sonuç olarak hedeflenen bölgenin milyonlarca kopyası elde edilir [31].

Bir PZR karışımı içerisinde bir adet kalıp DNA molekülü, oligonükleotit primerler, deoksिनükleotit trifosfatlar (dNTP) ve Taq DNA polimeraz bulunmak zorundadır.

PZR ilk keşfedildiğinde *E.coli*'den izole edilen DNA polimeraz I enzimi kullanılmıştır. Ancak bu enzim sıcaklığa karşı duyarlı olduğu için her reaksiyon başlangıcında yeniden eklenmek zorunda kalınmıştır. Çünkü kalıp DNA molekülünün denatürasyonu 94°C'de gerçekleşmektedir. Yüksek sıcaklıklarda yaşayan *Thermus aquaticus*'tan izole edilen Taq DNA polimeraz enziminin keşfedilmesinden sonra PZR metodu oldukça etkili bir şekilde gelişim göstermiştir. Taq DNA polimeraz 94-kDa kütleye sahip bir proteindir. En iyi aktivite gösterdiği sıcaklıklar 75-85 °C arasındadır [58].

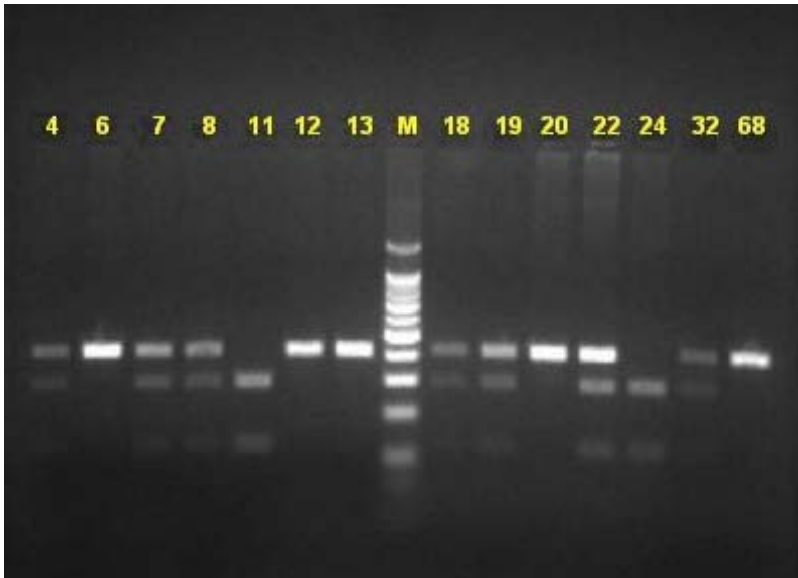


Şekil 3.1. PZR'nin üç basmağı

3.2. Restriksiyon Fragmentleri Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

Restriksiyon fragmentleri uzunluk polimorfizmi genellikle bütün genomu karakterize etmek ya da genomdaki farklılıkları göstermek için kullanılır. Bu süreçte genomik DNA'nın çıkarılması ve saflaştırılması yer alır [62].

Restriksiyon enzimleri çeşitli bakteri türlerinden izole edilmiş, DNA molekülünü spesifik bölgelerinden kesen proteinlerdir. Restriksiyon endonükleazlar genellikle DNA'yı 4-6 bazlık dizilerde tanıyarak keserler. Bireyler ya da populasyonlar arasındaki DNA farklılıkları bu enzimler tarafından spesifik bölgelerin tanınarak kesilmesi ve kesilen parçaların ölçülmesi prensibiyle ortaya çıkarılır. Dokulardan saflaştırılan DNA ya da PZR sonucu oluşan ürünlerin restriksiyon enzimleriyle kesilip ardından agaroz jellerde görüntülenmesi sonucu farklılıklar saptanır [70, 17]. Mutasyonlar DNA'nın herhangi bir bölgesini değiştirdikleri için enzimin kesim noktasını değiştirir ve böylece değişik büyüklüklerde kesim ürünlerinin oluşmasına sebep olurlar. Bu sayede oluşan spesifik ürünlerin varlığıyla RFLP yöntemiyle mutasyon analizi yapılmaktadır [11]. Şekil 3.2'de *CYP 17* geni PZR ürünlerinin *MspAI* I enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan bantlar görülmektedir.



Şekil.3.2. *CYP 17* geni PZR ürünlerinin *MspAI* I enzimi ile kesilmesi M: 100 bçlık marker, 6,12,13,20,68: TT homozigot normal birey, 11,24: CC homozigot mutant birey, 4,7,8,18,19,22,32: TC heterozigot mutant birey [78].

3.3. Agaroz Jel Elektrofezi

Elektroforez, yüklü partiküllerin elektriksel akım altında hareket etmelerini esas alan bir tekniktir. İlk elektroforez uygulaması 1937 yılında Tiselius tarafından kan serumundaki albumin ve globulinlerin ayrıştırılmasıyla yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda elektroforez alanı olarak silika jeller, kağıt, akrilamid jel ve agaroz jel kullanılmıştır. Bu teknik peptitlerin, proteinlerin ve oligonükleotitlerin ayrıştırılmasında oldukça etkilidir ve yaygın olarak kullanılmaktadır [40].

Agaroz ya da poliakrilamid ile yapılan jel elektroforezleri nükleik asit karışımlarını çözmekte oldukça etkin yöntemlerdir. Elektroforez işlemlerinde kullanılan jeller elektrik akımıyla hareket eden moleküllerin korunmasının yanında tespit edilmesini de sağlarlar. DNA molekülünün elektroforezinde genellikle agaroz jeller kullanılır ve DNA'yı moleküler ağırlığına göre ayırmayı sağlar. Jel üzerinde küçük moleküller büyük olanlara göre daha hızlı hareket ederler. Bu sayede jel içinde hareket eden DNA molekülleri belli bir süre akıma maruz bırakıldıklarında büyüklüklerine göre ayrılmış olurlar. Agaroz, 120-kDa ağırlığında bir polisakkarittir. Elektriksel alanda hareket edecek DNA molekülünün büyüklüğü agaroz jelin konsantrasyonuna bağlıdır. Agaroz belli tamponların içerisinde çözüldüğünde por şeklinde yapılar meydana getirir. Eğer jelin konsantrasyonu çok yüksek olursa por çapı küçüleceği için büyük boyuttaki DNA molekülleri buraya sığamaz ve hareket edemez. Jelin konsantrasyonunun çok düşük olduğu durumlarda ise oluşan porun çapı büyük olacağı için küçük moleküler ağırlığa sahip DNA'lar hızla hareket edecek ve jelden düşecektir. Bu sebeple agaroz jel elektroforezi uygulaması sırasında bu durumlar göz önüne alınarak jel konsantrasyonu belirlenmelidir [63, 29, 22]. Şekil 3.3'te sırasıyla elektroforez güç kaynağı, jel tabağı ve yürütme tankı gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Sırasıyla; elektroforez güç kaynağı, jel tabağı ve yürütme tankı

4. MATERYAL VE METOT

4.1. Materyal

4.1.1. Kan örneklerinin toplanması

Bu çalışmada 119 polikistik over sendromu teşhisi konmuş (PKOS) hasta ve 136 kontrol olmak üzere toplam 255 bireyden alınan kan örneği kullanılmıştır. Kan örnekleri Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalığı ve Doğum Kliniği Ünitesi ve Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kadın Hastalığı ve Doğum Kliniği Ünitesi'nden sağlanmıştır. Alınacak örneklerinin temininde Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurul tarafından onaylanmış “Bilgilendirilmiş Gönüllü olur formu” kullanılmıştır (Ek-A, Ek-B). Tüm bireylerden etik kurulda belirtilen ve onaylanan koşullara bağlı kalınarak EDTA’lı tüplere 9 ml periferik kan alınmıştır. Polikistik Over Sendromunda *CYP 17* Gen Polimorfizminin Belirlenmesi konulu tezde yapılan tüm deneysel çalışmalar, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

4.1.2. Kimyasal maddeler

Periferik Kandan DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Çözeltiler ve Tamponlar

Eritrosit parçalama tamponu: 1,5 M NH_4Cl , 100 mM NaHCO_3 , 0,5 M EDTA (pH:8,0).

Lökosit parçalama tamponu (STE; sodyum klorid tris EDTA): 10 mM Tris-HCl (pH: 7,4), 400 mM NaCl ve 2 mM EDTA (pH: 8,0).

Proteinaz K (20 mg/ml): 0,2 gr proteinaz K, 10 ml TE tamponu.

%10’ luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS): 10 gr SDS 100ml steril distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

Fenol: kloroform: izoamilalkol (25:24:1) çözeltisi: Fenol, kloroform ve izoamil alkol verilen oranlarda karıştırılarak elde edilmiştir ve kullanılmadan önce 24 saat +4 °C’de bekletilmiştir.

2M Sodyum asetat (NaCH_3CO_2) Çözeltisi: 1,64 gr sodyum asetat, 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

%70'lik ve %95'lik etil alkol çözeltileri

TE çözeltisi: 10 mM Tris (pH: 8,0), 1 mM EDTA (pH: 8,0).

Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Taq polimeraz tamponu 5x: GoTaq Flexi (Promega)

Magnezyum Klorür (MgCl_2): 25 mM (Promega)

Nükleotit Karışımı: 10 mM dNTP (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) (Promega)

Taq polimeraz: 5U/ μl (Promega)

Primerler: Çalışmada kullanılan primer çiftleri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Agaroz Jel Elektroforezi İçin Kullanılan Çözeltiler

Tris-Asetik Asit- EDTA (TAE) tamponu (x50) (pH: 8,0): 242 g Tris, 57,1 ml glacial asetik asit, 0,5 M 100ml EDTA (pH 8,0) distile su içerisinde çözülerek hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

Agaroz: % 2'lik agaroz TAE tamponunda çözülerek hazırlanmıştır.

Yükleme tamponu: 40 gr sükröz, 0,025 gr bromofenol mavisi, 0,25 gr ksilen siyanol 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

Etidyum bromür: 10 mg/ml

Moleküler ağırlık belirteci (Marker) : 100 bç'lik (FERMENTAS)

PZR- RFLP için Gerekli Enzimler

MspA1 I Enzimi: Enzim (FERMENTAS), tampon, bovine serum albumine (BSA)

4.2. Metot

4.2.1. DNA izolasyonu

PKOS'lu ve kontrol grubu bireylerden EDTA'lı tüplere 9 ml periferik kan alınmıştır. Tüplerdeki kanlar hafifçe altüst edildikten sonra 50 ml'lik falkon tüplere aktarılmıştır. Üzerlerine 25 ml eritrosit parçalama tamponu eklenmiştir. Falkon tüpler çalkalanarak tamponun kan ile karışması sağlanmış ve 20 dk buza gömülerek

bekletilmiştir. Örnekler daha sonra 4000 rpm'de 4 °C'de 20 dk santrifüje edilerek parçalanmış kan hücreleri ile eritrosit parçalama tamponunun birbirinden ayrılması sağlanmıştır. Ardından üstteki süpernatantın bir kısmı dökülerek hacmin 2,5 katı kadar eritrosit parçalama tamponu yeniden eklenerek 4000 rpm'de 4 °C'de 20 dk santrifüje edilmiştir. Bu işleme pellet tabakasının üzerinde beyaz lökosit tabakası görülene kadar devam edilmiştir. Beyaz tabaka görüldüğünde süpernatant dökülmüştür. Daha sonra kalan pelletin üzerine 1000 µl eritrosit parçalama tamponu ilave edilmiş ve vorteksle homojen hale getirilmiştir. Falkon tüpünden 200 µl örnek 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne alınıp işleme devam edilmiş geriye kalan örnek depolanmıştır. İşlem yapılacak eppendorf tüpüne 500 µl STE, 30 µl SDS (% 10'luk), 20 µl Proteinaz K ilave edilmiş ve bir gece 56 °C su banyosunda bekletilmiştir. İkinci gün örneğin üzerine 750 µl fenol: kloroform: izoamil alkol ilave edilmiş ve 10 dk elde alt üst edilerek çalkalanmıştır. Ardından örnekler 20 dk buzda bekletilmiştir. 4000 rpm'de 4 °C'de 20 dk santrifüje edildikten sonra oluşan 2 fazdan üst kısım pipet ile yeni bir tüpe aktarılmış, üzerine de 1:1 oranında kloroform ilave edilmiştir. Örnek 10 dk elde alt üst edilerek çalkalandıktan sonra 20 dk buzda bekletilmiştir. 4000 rpm'de 4 °C'de 20 dk santrifüje edildikten sonra süpernatant yine pipet yardımı ile dikkatlice başka bir eppendorfa alınmıştır. Hacmin 1\10'u kadar Na asetat ve toplam hacmin 2 katı kadar % 95'lik etanol ilave edilip DNA iplikçikleri beyaz yumak şeklinde görünür hale gelinceye dek tüp yavaşça alt üst edilmiştir. Örnek -20 °C'de 1 gece bekletilmiştir. Üçüncü gün örnek 4000 rpm'de 4 °C'de 20 dk santrifüje edildikten sonra sıvı kısım dökülmüştür. Tüpe 500 µl %70'lik etanol ilave edilip 20 dk 4000 rpm'de 4 °C'de santrifüje edilmiştir. Santrifüj sonrası alkol dikkatlice dökülüp örnek kurumaya bırakılmıştır. Örnekler kuruduktan sonra DNA yumağının görünürlüğü oranına göre 100–400 µl aralığında TE ilave edilip 37 °C su banyosunda bir gece bekletilmiştir.

4.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

CYP 17 geninin çoğaltılması için öncelikle gene özgü primerler seçilmiştir. PZR çalışmasında kullanılan primerler Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *CYP 17* gen polimorfizmini belirlemek amacıyla kullanılan primer çifti

Forward Primer	5'-CAT-TCG-CAC-TCT-GGA-GTC-3'
Reverse Primer	3'-AGG-CTC-TTG-GGG-TAC-TTG-5'

Her bir örnek için PZR tüplerine DNA, MgCl₂, dNTP, Taq Tamponu, primer çifti ve Taq DNA Polimeraz eklenerek hacim steril su ile 50µl'ye tamamlanmıştır.

Reaksiyon programı Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. *CYP 17* genini çoğaltmak için kullanılan PZR programı

Başlangıç Denatürasyonu	Tepkime Döngüsü (35 Döngü)			Son Sentez Aşaması
	Denatürasyon Aşaması	Hibridizasyon Aşaması	Sentez (Uzama) Aşaması	
94 °C'de 3 dk	94 °C'de 30 sn	55 °C'de 30 sn	72 °C'de 60 sn	72 °C'de 5 dk

4.2.3. Agaroz jel elektroforezi

PZR ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Yürütme tamponu olarak 1X TAE kullanılmıştır. DNA örnekleri etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görünür hale gelmesi sağlanmıştır. Jel üzerindeki her bir kuyucuğa 10µl PZR ürünü, yükleme tamponu olan bromo fenol blue ile karıştırıldıktan sonra yüklenmiştir. Örnekler 1 saat boyunca 80 V'luk bir voltaj uygulanarak yürütülmüştür. Yürütme işleminin ardından PZR ürünleri Biometra BioDoc Analyze görüntüleme cihazı ile UV ışık altında görüntülenmiştir.

4.2.4. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizm analizi (RFLP)

CYP 17 geninin kopyalarını içeren PZR ürünleri, bu gene ait polimorfizm olup olmadığını saptamak amacıyla *MspAI* I enzimi ile kesilmiştir.

CYP 17 gen polimorfizmini içeren DNA örneğinde CAG CAG dizisi CAG CGG'ye dönüşmüştür ve bu değişen bölge *MspAI* I enzimi tarafından tanınır. Çizelge 4.3'de *CYP 17* geni PZR ürünü dizisi ve bu dizi içerisinde enzimin tanıdığı bölge ok ile çizilerek gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. *CYP 17* geni PZR ürünü dizisi (*MspAI* I enziminin kesim için tanıdığı bölge okla gösterilmiştir)

```

AGG CTC TTG GGG TAC TTG GCA CCA GGG CAC CTT CTC TTG GGC CAA AAC AAA
TAA GCT AGG GTA AGC AGC AAG AGA GCC ACG AGC TCC CAC ATG GTG GCT GGG
TGC CGG CAG GCA AGA TAG ACA GCA GGTG GAG TAG AAG AGC TGT GGC AAC TCT
AGG GCA CAA GGA GGC CTT TTA AAG GGC TAC CCT GAT CTT CAC CTT GAC TTT
GTG TTA TCT CTT GCC TTG TGG AAA GAT TCT CCT GGA GCC CAG CCA GGC CTG
AGC TCA TAT CCA GAA GGG AGA GAG GGG GTG GGA GTG AAG GCC TCC TCA AGG
GCT GGC TCA ACT CCA GGG CAA ACC TCC GGA GGA GGA GCT AGG TAA GGG AGG
TCA GTT GAT CAC CCT CTG AGG AGC TCC CCA TGC TTG AAT GAC TCC AGA GTG
CGA ATG

```

Herhangi bir kesim alanı bulunmadığında endonükleer genotip T olarak, bir kesim alanı bulunduğu ise C olarak düşünülür. Polimorfizm bulunmadığı zaman PZR ürününün *MspAI* I enzimi ile kesimi sonucu agaroz jelde 414 bç'lik tek bir bant oluşur ve TT genotipini ifade eder. Heterozigot mutantlarda genotip TC olarak ifade olur ve agaroz jelde 124 bç, 290 bç ve 414 bç büyüklüğünde üç bant gözlenir. Homozigot mutantlarda ise 124 bç, 290 bç büyüklüğünde iki bant oluşur ki bu da CC genotipini ifade eder.

CYP 17 genine ait PZR ürünleri *MspAI* I enzimi ile muamele edilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kesilen örnekler %2'lik agaroz jellere yüklenerek 30 dakika 90V'luk elektriksel akım altında yürütülmüştür. Sonuçlar Biometra BioDoc Analyze görüntüleme cihazı ile UV ışık altında görüntülenerek değerlendirme yapılmıştır.

4.3. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda istatistiksel analizler için SPSS 16.0 for windows programı kullanılmıştır. Gruplar arasında fark olup olmadığını tespit etmek için Ki kare (χ^2) testi, klinik ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılmasında Mann- Whitney U testi kullanılmıştır.

5. BULGULAR

5.1. Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Polikistik over sendromunda *CYP 17* gen polimorfizminin araştırılması çalışmasında 119 PKOS'lu, 136 sağlıklı olmak üzere toplam 255 kadından kan alınmış ve bunların klinik ve biyokimyasal verileri incelenmiştir. Hasta grubundaki kadınlar klinik olarak; kronik az adet olma (<8 döngü/yıl) ve/veya kıllanma ve ultrason görüntüsünde yumurtalıklarda inci kolyesi şeklinde dizilmiş 10'dan fazla 2,8 mm' lik foliküllerin bulunması ile biyokimyasal olarak; LH/FSH oranının 1,5 veya üzerinde olması ve artmış kan androjen düzeylerine sahip olmaları ile PKOS teşhisi almışlardır.

Kontrol grubu en az 1 normal gebelik süreci geçirmiş ve sağlıklı çocuk sahibi olan, adet düzensizliği ve/veya kıllanma şikayeti olmayan sağlıklı kadınlardan oluşturulmuştur. Bütün gruplarda biyokimyasal parametre olarak LH, FSH, TSH, Total Testosteron, Serbest Testosteron, Serbest T3, Serbest T4, DHEA-S (Dihidroepiandrosteron sülfat), Estradiol, Progesteron, 17-OH Progesteron, Prolaktin, Açlık kan şekeri düzeyi, Açlık İnsülin düzeyi, Trigliserit, Total Kolesterol, HDL Kolesterol, LDL Kolesterol ölçümleri yapılarak HOMA indeksi hesaplanmıştır.

PKOS'lu ve Kontrol grubu kadınlar arasındaki biyokimyasal değerler bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunup bulunmadığına Nonparametric Mann-Whitney U Testi ile bakılmıştır. PKOS'lu kadınların LH, FSH, Total Testosteron, Serbest Testosteron, Serbest T3, DHEA-S (Dihidroepiandrosteron sülfat), Estradiol, Progesteron, , Prolaktin, Açlık kan şekeri düzeyi, Açlık İnsülin düzeyi, Trigliserit, LDL Kolesterol ve HOMA düzeyleri ortalaması, kontrol grubundaki kadınlara göre yüksek değere sahipken; istatistiksel olarak LH, Total Testosteron, DHEA-S, açlık kan şekeri düzeyi, açlık insülin düzeyi, Trigliserit, Total Kolesterol, HDL Kolesterol, LDL Kolesterol ve HOMA değerleri bakımından anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve polikistik over sendromlu (PKOS) hastaların klinik ve laboratuvar

bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları Çizelge 5.1.'de gösterilmiştir.

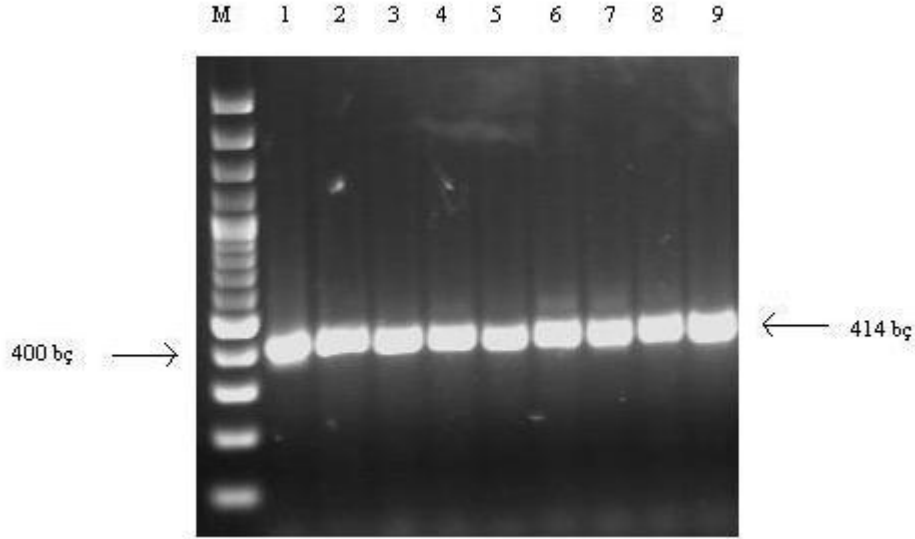
Çizelge 5. 1. Kontrol grubu ve polikistik over sendromlu (PKOS) hastaların klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması (ortalama \pm SS) ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi Sonuçları

	KONTROL (n=136)	PKOS (n=119)	P
LH (mIU/mL)	7.05 \pm 3.75	11.19 \pm 4.33	p<0,05
FSH (mIU/mL)	9,23 \pm 6,20	10,86 \pm 6.03	p>0,05
TSH (uIU/mL)	2.55 \pm 1.67	2,29 \pm 1.16	p>0,05
Total Testosteron (ng/mL)	0.45 \pm 0.2	0,52 \pm 0.19	p<0,05
Serbest Testosteron (pg/mL)	1.88 \pm 0.71	1,91 \pm 0.71	p>0,05
ST ₃ (pg/ml)	3.08 \pm 0.43	3.23 \pm 0,35	p>0,05
ST ₄ (ng/dL)	0.91 \pm 0.28	0,91 \pm 0.21	p>0,05
DHEAS (ug/dL)	162,39 \pm 84,87	205,06 \pm 95,51	p<0,05
Estradiol (pg/mL)	109,54 \pm 47,4	114,80 \pm 37,73	p>0,05
Progesteron (ng/mL)	4,64 \pm 2,97	5,24 \pm 3.96	p>0,05
17-OH Progesteron (ng/ml)	2.56 \pm 1.40	2.36 \pm 1.22	p>0,05
Prolaktin (ng/mL)	13.39 \pm 6.84	13.99 \pm 6.91	p>0,05
Açlık kan şekeri (mg/dl)	84.96 \pm 11.17	94.19 \pm 10.27	p<0,05
Açlık insülin (μ U/mL)	10.85 \pm 6.25	15.58 \pm 5.04	p<0,05
Total Kolesterol (mg/dLl)	150.2 \pm 31.6	169.09 \pm 32.23	p<0,05
Trigliserit (mg/dL)	99.46 \pm 30.83	107.13 \pm 58.91	p<0,05
HDL Kolesterol (mg/dL)	58.04 \pm 18.63	49.38 \pm 13.39	p<0,05
LDL Kolestrol (mg/dL)	104.08 \pm 25.5	113.05 \pm 22.01	p<0,05
HOMA	2,48 \pm 1,57	3,66 \pm 1,14	p<0,05

5.2. CYP 17 Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Çoğaltılması ve Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

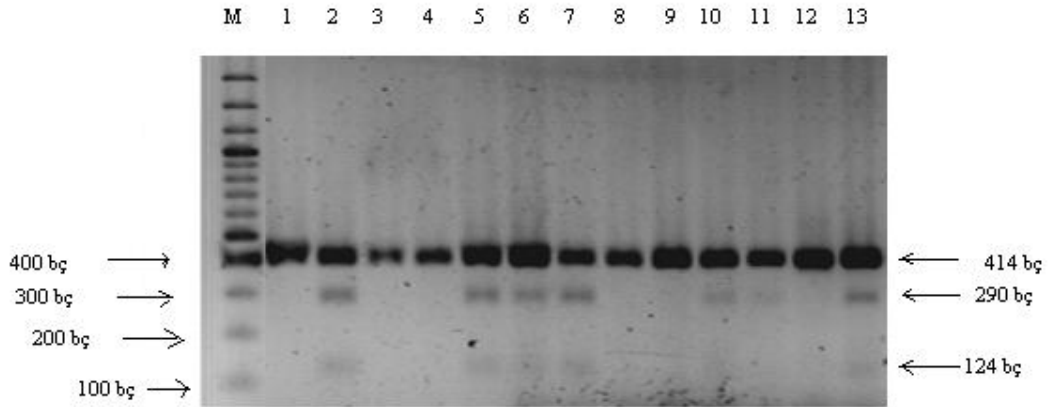
Hasta ve kontrol gruplarına ait bireylerden alınan kanlardan DNA izole edildikten sonra uygun primer çiftleriyle polimeraz zincir reaksiyonuna tabi tutularak CYP 17 genini ihtiva eden bölgesi çoğaltılmıştır. PZR ürünleri % 2'lik agaroz jelde DNA

belirteci varlığında yürütülerek PZR ürününü uzunluğu 414 bç olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. *CYP 17* geni PZR Ürünü (M: 100 bç'lik marker, 1-9: PZR ürünleri)

CYP 17 gen polimorfizmini belirlemek amacıyla hasta ve kontrol grubundan elde edilmiş 414 bç uzunluğundaki bantları içeren polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri *MspAI* I enzimi ile kesilmiştir. Enzimle kesilen örneklerin %2'lik agaroz jelde yürütülmesi ile restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi değerlendirilmesi yapılmıştır. Herhangi bir kesim alanı bulunmadığında endonüklear genotip T olarak; bir kesim alanı bulunduğunda ise C olarak düşünülmektedir. 414 baz çiftlik PZR ürünleri *MspAI* I enzimi ile kesildiğinde 290 bç ve 124 bç uzunluğunda iki adet bant oluşmaktadır. *MspAI* I enzimi ile kesimden sonra agaroz jelde; homozigot yabani tip TT genotipi 414 bç uzunluğunda tek bir bant, homozigot mutant tip CC genotipi 290bç ve 124bç uzunluğunda iki bant ve heterozigot TC genotipi 124 bç, 290 bç ve 414 bç olmak üzere üç bant oluşturmaktadır. Çalışmamızda CC homozigot mutant genotipe rastlanmamıştır. (Şekil 5.2)



Şekil 5.2. *MspAI I* enzimi ile kesim sonuçlarının % 2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bç'lik Marker, 1: Kesim yapılmamış PZR ürünü; 2,5,6,7,10,13: TC genotipli heterozigot bireyler; 3,4,8,9,11,12 : TT genotipli homozigot yabancı bireyler

5.3. *CYP 17* Genotipi ve Allel Dağılımı

PKOS'lu kadınların % 81,5' inin TT (homozigot yabancı), % 18,5' inin TC (heterozigot mutant) genotipinde olduğu saptanmıştır. Bu durumda PKOS grubunda T alleli görülme sıklığı % 81,5 iken C alleli görülme sıklığı % 18,5 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki kadınların % 96,3' ünün TT (homozigot yabancı), %3,7' sinin ise TC (heterozigot mutant) genotipinde olduğu saptanmıştır. Kontrol grubunda T alleli görülme sıklığı % 96,3 iken C alleli görülme sıklığı %3,7 olarak tespit edilmiştir. PKOS ve kontrol grubunun TT ve TC genotip dağılımları Çizelge 5.2' de gösterilmiştir. PKOS ve kontrol grubu allel dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Çizelge 5.2. PKOS ve kontrol grubunun TT ve TC % genotip dağılımları

Birey		Genotip		
		TT	TC	Toplam
Kontrol	Sayı	131	5	136
	% değeri	96,3%	3,7%	100,0%
PCOS	Sayı	97	22	119
	% değeri	81,5%	18,5%	100,0%
Toplam	Sayı	228	27	255
	% değeri	89,4%	10,6%	100,0%

Çizelge 5.3. PKOS ve kontrol grubunun T ve C % allel dağılımları

Birey		Allel		
		T	C	Toplam
Kontrol	Sayı	131	5	136
	% değeri	%96,3	%3,7	100,0%
PCOS	Sayı	92	27	119
	% değeri	%77,32	%22,68	100,0%
Toplam	Sayı	223	32	255
	% değeri	87,5%	12,5%	100,0%

CYP 17 gen polimorfizmine ait sonuçlar istatistiksel olarak Ki-Kare (χ^2) analizine göre değerlendirilmiştir. Bu genin polimorfik dağılımları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında PKOS ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. ($p < 0.05$)

Kontrol ve PKOS'lu Grupların Genotip Dağılımına Göre Biyokimyasal Bulguları

Kontrol grubunda bulunan 136 kadından, TC (heterozigot mutant) genotipe sahip 5 ve TT (homozigot normal) genotipe sahip 131 kadın tespit edilmiştir. TT genotipine sahip grubun LH, FSH, TSH, Serbest Testosteron, Serbest T3, Estradiol, Progesteron, 17-OH Progesteron, Açlık kan şekeri düzeyi, Açlık İnsülin düzeyi, Trigliserit, Total Kolesterol, HDL Kolestrol, LDL Kolestrol ve HOMA indeksi değerleri ortalamaları TC genotipine sahip kontrol grubu kadınlarına göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Ancak Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonucuna göre; LH, FSH, TSH, Total Testosteron, Serbest Testosteron, Serbest T3, Serbest T4, DHEA-S (Dihidroepiandrosteron sülfat), Estradiol, Progesteron, 17-OH Progesteron, Prolaktin, Açlık kan şekeri düzeyi, Açlık İnsülin düzeyi, Trigliserit, Total Kolesterol, HDL Kolestrol, LDL Kolestrol ve HOMA indeksi parametreleri birbiriyle kıyaslandığında kontrol grubundaki TC ve TT genotipine sahip iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Kontrol grubu TC ve TT genotipi klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları Çizelge 5.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.4. Kontrol grubu *CYP 17* geni TC ve TT genotipi klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları

	T/T (n=131)	T/C (n=5)	P
LH (mIU/mL)	10,04±11,58	7,50±2,52	p>0,05
FSH (mIU/mL)	9,35±12,48	6,20±2,78	p>0,05
TSH (uIU/mL)	5,02±28,28	2,55±0,40	p>0,05
Total Testosteron (ng/mL)	0,44±0,19	0,50±0,26	p>0,05
Serbest Testosteron (pg/mL)	1,87±0,70	1,80±0,65	p>0,05
ST ₃ (pg/ml)	3,08±0,43	2,94±0,18	p>0,05
ST ₄ (ng/dL)	0,90±0,27	0,95±0,25	p>0,05
DHEAS (ug/dL)	154,82±77,39	252,02±220,11	p>0,05
Estradiol (pg/mL)	102,62±81,61	80,2±66,82	p>0,05
Progesteron (ng/mL)	4,65±4,85	2,92±3,84	p>0,05

Çizelge 5.4.(Devam) Kontrol grubu *CYP 17* geni TC ve TT genotipi klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları

17-OH Progesteron (ng/ml)	2,58±1,40	1,98±1,11	p>0,05
Prolaktin (ng/mL)	13,27±6,82	16,34±6,04	p>0,05
Açlık kan şekeri (mg/dl)	91,30±15,85	84,80±18,18	p>0,05
Açlık insülin (µU/mL)	10,90±6,26	9,21±4,83	p>0,05
Total Kolesterol (mg/dL)	150,38±31,83	145,20±19,82	p>0,05
Trigliserit (mg/dL)	115,62±48,81	89,20±27,60	p>0,05
HDL Kolesterol (mg/dL)	58,13±18,77	55,40±11,32	p>0,05
LDL Kolesterol (mg/dL)	104,33±25,69	97,40±14,51	p>0,05
HOMA	2,50±1,57	1,91±0,97	p>0,05

PCOS grubunda bulunan 119 kadından, TC (heterozigot mutant) genotipe sahip 27 ve TT (homozigot normal) genotipe sahip 92 kadın tespit edilmiştir. TT genotipine sahip grubun Açlık İnsülin düzeyi, Prolaktin, DHEA-S, Serbest Testosteron, Serbest T3, Progesteron, 17-OH Progesteron, , Triglicerit, Total Kolesterol, HDL Kolesterol, LDL Kolesterol ve HOMA indeksi değerleri ortalamaları TC genotipine sahip kontrol grubu kadınlarına göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. TC genotipine sahip kadınlarda ise Açlık kan şekeri düzeyi, LH, FSH, TSH, Serbest T4 ve Estradiol değerleri ortalamaları TT genotipine sahip kadınlara göre yüksek düzeyde bulunmuştur.

Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonucuna göre; LH, Estradiol ve DHEA-S parametreleri birbiriyle kıyaslandığında PCOS grubundaki TC ve TT genotipine sahip iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. PCOS grubu *CYP 17* geni TC ve TT genotipi klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları Çizelge 5.5.'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.5. PKOS grubu *CYP 17* geni TC ve TT genotipi klinik ve laboratuvar bulguları ortalaması ile Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonuçları

	T/T (n=92)	T/C (n=27)	P
LH (mIU/mL)	9,43±7,85	12,70±10,14	p<0,05
FSH (mIU/mL)	7,34±6,84	9,20±11,97	p>0,05
TSH (uIU/mL)	2,28±1,21	2,29±0,96	p>0,05
Total Testosteron (ng/mL)	0,52±0,19	0,50±0,18	p>0,05
Serbest Testosteron (pg/mL)	1,91±0,65	1,91±0,83	p>0,05
ST ₃ (pg/ml)	3,24±0,35	3,21±0,29	p>0,05
ST ₄ (ng/dL)	0,91±0,22	0,93±0,14	p>0,05
DHEAS (ug/dL)	216,67±99,66	158,08±79,94	p<0,05
Estradiol (pg/mL)	78,51±61,61	102,08±85,78	p<0,05
Progesteron (ng/mL)	3,40±4,51	4,31±4,62	p>0,05
17-OH Progesteron (ng/ml)	2,33±1,25	2,46±1,06	p>0,05
Prolaktin (ng/mL)	14,05±7,15	13,76±5,89	p>0,05
Açlık kan şekeri (mg/dl)	84,96±13,23	89,85±16,89	p>0,05
Açlık insülin (µU/mL)	11,88±7,07	10,41±5,14	p>0,05
Total Kolesterol (mg/dLl)	169,92±32,78	163,02±37,21	p>0,05
Trigliserit (mg/dL)	108,67±61,49	101,85±47,37	p>0,05
HDL Kolesterol (mg/dL)	49,51±13,05	48,92±14,24	p>0,05
LDL Kolestrol (mg/dL)	114,30±22,52	108,77±19,08	p>0,05
HOMA	2,53±1,62	2,32±1,21	p>0,05

Çalışmamız kapsamında *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrol grubuna ait bireylerin mutasyon listesi çizelge 5.6' da gösterilmiştir.

Çizelge 5.6. *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrol grubuna ait bireylerin mutasyon listesi

OLGU NO	PKOS/KONTROL	<i>CYP 17</i> MUTANT/ NORMAL
1	PKOS	Heterozigot Mutant
2	PKOS	Heterozigot Mutant
3	PKOS	Homozigot Normal
4	PKOS	Heterozigot Mutant
5	PKOS	Homozigot Normal
6	PKOS	Homozigot Normal
7	PKOS	Homozigot Normal
8	PKOS	Homozigot Normal
9	PKOS	Heterozigot Mutant
10	PKOS	Homozigot Normal
11	PKOS	Homozigot Normal
12	PKOS	Heterozigot Mutant
13	PKOS	Homozigot Normal
14	PKOS	Homozigot Normal
15	PKOS	Homozigot Normal
16	PKOS	Homozigot Normal
17	PKOS	Homozigot Normal
18	PKOS	Homozigot Normal
19	PKOS	Homozigot Normal
20	PKOS	Homozigot Normal
21	PKOS	Homozigot Normal
22	PKOS	Homozigot Normal
23	PKOS	Homozigot Normal
24	PKOS	Heterozigot Mutant
25	PKOS	Homozigot Normal
26	PKOS	Heterozigot Mutant
27	PKOS	Heterozigot Mutant
28	PKOS	Heterozigot Mutant
29	PKOS	Homozigot Normal
30	PKOS	Homozigot Normal
31	PKOS	Homozigot Normal
32	PKOS	Homozigot Normal

Çizelge 5.6.(Devam) *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrolgrubuna ait bireylerin mutasyon listesi

33	PKOS	Homozigot Normal
34	PKOS	Homozigot Normal
35	PKOS	Homozigot Normal
36	PKOS	Homozigot Normal
37	PKOS	Homozigot Normal
38	PKOS	Homozigot Normal
39	PKOS	Homozigot Normal
40	PKOS	Homozigot Normal
41	PKOS	Homozigot Normal
42	PKOS	Homozigot Normal
43	PKOS	Homozigot Normal
44	PKOS	Homozigot Normal
45	PKOS	Homozigot Normal
46	PKOS	Homozigot Normal
47	PKOS	Homozigot Normal
48	PKOS	Homozigot Normal
49	PKOS	Homozigot Normal
50	PKOS	Homozigot Normal
51	PKOS	Homozigot Normal
52	PKOS	Homozigot Normal
53	PKOS	Heterozigot Mutant
54	PKOS	Homozigot Normal
55	PKOS	Homozigot Normal
56	PKOS	Heterozigot Mutant
57	PKOS	Heterozigot Mutant
58	PKOS	Heterozigot Mutant
59	PKOS	Heterozigot Mutant
60	PKOS	Homozigot Normal
61	PKOS	Homozigot Normal
62	PKOS	Heterozigot Mutant
63	PKOS	Homozigot Normal
64	PKOS	Homozigot Normal
65	PKOS	Heterozigot Mutant
66	PKOS	Heterozigot Mutant

Çizelge 5.6.(Devam) *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrolgrubuna ait bireylerin mutasyon listesi

67	PKOS	Homozigot Normal
68	PKOS	Homozigot Normal
69	PKOS	Homozigot Normal
70	PKOS	Homozigot Normal
71	PKOS	Homozigot Normal
72	PKOS	Homozigot Normal
73	PKOS	Homozigot Normal
74	PKOS	Homozigot Normal
75	PKOS	Homozigot Normal
76	PKOS	Homozigot Normal
77	PKOS	Homozigot Normal
78	PKOS	Homozigot Normal
79	PKOS	Homozigot Normal
80	PKOS	Homozigot Normal
81	PKOS	Heterozigot Mutant
82	PKOS	Homozigot Normal
83	PKOS	Homozigot Normal
84	PKOS	Heterozigot Mutant
85	PKOS	Homozigot Normal
86	PKOS	Homozigot Normal
87	PKOS	Homozigot Normal
88	PKOS	Heterozigot Mutant
89	PKOS	Heterozigot Mutant
90	PKOS	Heterozigot Mutant
91	PKOS	Homozigot Normal
92	PKOS	Heterozigot Mutant
93	PKOS	Homozigot Normal
94	PKOS	Homozigot Normal
95	PKOS	Homozigot Normal
96	PKOS	Homozigot Normal
97	PKOS	Homozigot Normal
98	PKOS	Homozigot Normal
99	PKOS	Homozigot Normal

Çizelge 5.6.(Devam) *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrol grubuna ait bireylerin mutasyon listesi

100	PKOS	Heterozigot Mutant
101	PKOS	Homozigot Normal
102	PKOS	Homozigot Normal
103	PKOS	Homozigot Normal
104	PKOS	Heterozigot Mutant
105	PKOS	Homozigot Normal
106	PKOS	Homozigot Normal
107	PKOS	Homozigot Normal
108	PKOS	Heterozigot Mutant
109	PKOS	Homozigot Normal
110	PKOS	Homozigot Normal
111	PKOS	Homozigot Normal
112	PKOS	Homozigot Normal
113	PKOS	Homozigot Normal
114	PKOS	Homozigot Normal
115	PKOS	Homozigot Normal
116	PKOS	Homozigot Normal
117	PKOS	Homozigot Normal
118	PKOS	Homozigot Normal
119	PKOS	Homozigot Normal
120	KONTROL	Homozigot Normal
121	KONTROL	Homozigot Normal
122	KONTROL	Homozigot Normal
123	KONTROL	Homozigot Normal
124	KONTROL	Homozigot Normal
125	KONTROL	Homozigot Normal
126	KONTROL	Homozigot Normal
127	KONTROL	Homozigot Normal
128	KONTROL	Homozigot Normal
129	KONTROL	Homozigot Normal
130	KONTROL	Homozigot Normal
131	KONTROL	Homozigot Normal
132	KONTROL	Homozigot Normal

Çizelge 5.6.(Devam) *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrol grubuna ait bireylerin mutasyon listesi

133	KONTROL	Homozigot Normal
134	KONTROL	Homozigot Normal
135	KONTROL	Homozigot Normal
136	KONTROL	Homozigot Normal
137	KONTROL	Homozigot Normal
138	KONTROL	Homozigot Normal
139	KONTROL	Homozigot Normal
140	KONTROL	Homozigot Normal
141	KONTROL	Homozigot Normal
142	KONTROL	Homozigot Normal
143	KONTROL	Homozigot Normal
144	KONTROL	Homozigot Normal
145	KONTROL	Homozigot Normal
146	KONTROL	Homozigot Normal
147	KONTROL	Homozigot Normal
148	KONTROL	Homozigot Normal
149	KONTROL	Homozigot Normal
150	KONTROL	Homozigot Normal
151	KONTROL	Homozigot Normal
152	KONTROL	Homozigot Normal
153	KONTROL	Homozigot Normal
154	KONTROL	Homozigot Normal
155	KONTROL	Homozigot Normal
156	KONTROL	Homozigot Normal
157	KONTROL	Homozigot Normal
158	KONTROL	Homozigot Normal
159	KONTROL	Homozigot Normal
160	KONTROL	Homozigot Normal
161	KONTROL	Homozigot Normal
162	KONTROL	Homozigot Normal
163	KONTROL	Homozigot Normal
164	KONTROL	Homozigot Normal
165	KONTROL	Homozigot Normal

Çizelge 5.6.(Devam) *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrol grubuna ait bireylerin mutasyon listesi

166	KONTROL	Homozigot Normal
167	KONTROL	Homozigot Normal
168	KONTROL	Homozigot Normal
169	KONTROL	Homozigot Normal
170	KONTROL	Homozigot Normal
171	KONTROL	Homozigot Normal
172	KONTROL	Homozigot Normal
173	KONTROL	Homozigot Normal
174	KONTROL	Homozigot Normal
175	KONTROL	Homozigot Normal
176	KONTROL	Homozigot Normal
177	KONTROL	Homozigot Normal
178	KONTROL	Homozigot Normal
179	KONTROL	Homozigot Normal
180	KONTROL	Homozigot Normal
181	KONTROL	Homozigot Normal
182	KONTROL	Homozigot Normal
183	KONTROL	Homozigot Normal
184	KONTROL	Homozigot Normal
185	KONTROL	Homozigot Normal
186	KONTROL	Homozigot Normal
187	KONTROL	Homozigot Normal
188	KONTROL	Homozigot Normal
189	KONTROL	Homozigot Normal
190	KONTROL	Homozigot Normal
191	KONTROL	Homozigot Normal
192	KONTROL	Homozigot Normal
193	KONTROL	Homozigot Normal
194	KONTROL	Homozigot Normal
195	KONTROL	Homozigot Normal
196	KONTROL	Homozigot Normal
197	KONTROL	Homozigot Normal
198	KONTROL	Homozigot Normal

Çizelge 5.6.(Devam) *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrol grubuna ait bireylerin mutasyon listesi

199	KONTROL	Homozigot Normal
200	KONTROL	Homozigot Normal
201	KONTROL	Homozigot Normal
202	KONTROL	Homozigot Normal
203	KONTROL	Homozigot Normal
204	KONTROL	Homozigot Normal
205	KONTROL	Homozigot Normal
206	KONTROL	Homozigot Normal
207	KONTROL	Homozigot Normal
208	KONTROL	Homozigot Normal
209	KONTROL	Homozigot Normal
210	KONTROL	Homozigot Normal
211	KONTROL	Homozigot Normal
212	KONTROL	Homozigot Normal
213	KONTROL	Heterozigot Mutant
214	KONTROL	Heterozigot Mutant
215	KONTROL	Heterozigot Mutant
216	KONTROL	Heterozigot Mutant
217	KONTROL	Homozigot Normal
218	KONTROL	Homozigot Normal
219	KONTROL	Homozigot Normal
220	KONTROL	Homozigot Normal
221	KONTROL	Homozigot Normal
222	KONTROL	Homozigot Normal
223	KONTROL	Homozigot Normal
224	KONTROL	Homozigot Normal
225	KONTROL	Homozigot Normal
226	KONTROL	Heterozigot Mutant
227	KONTROL	Homozigot Normal
228	KONTROL	Homozigot Normal
229	KONTROL	Homozigot Normal
230	KONTROL	Homozigot Normal
231	KONTROL	Homozigot Normal

Çizelge 5.6.(Devam) *CYP 17* geni polimorfizmi bakımından incelen PKOS ve Kontrolgrubuna ait bireylerin mutasyon listesi

232	KONTROL	Homozigot Normal
233	KONTROL	Homozigot Normal
234	KONTROL	Homozigot Normal
235	KONTROL	Homozigot Normal
236	KONTROL	Homozigot Normal
237	KONTROL	Homozigot Normal
238	KONTROL	Homozigot Normal
239	KONTROL	Homozigot Normal
240	KONTROL	Homozigot Normal
241	KONTROL	Homozigot Normal
242	KONTROL	Homozigot Normal
243	KONTROL	Homozigot Normal
244	KONTROL	Homozigot Normal
245	KONTROL	Homozigot Normal
246	KONTROL	Homozigot Normal
247	KONTROL	Homozigot Normal
248	KONTROL	Homozigot Normal
249	KONTROL	Homozigot Normal
250	KONTROL	Homozigot Normal
251	KONTROL	Homozigot Normal
252	KONTROL	Homozigot Normal
253	KONTROL	Homozigot Normal
254	KONTROL	Homozigot Normal
255	KONTROL	Homozigot Normal

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

PKOS, heterojen, çok faktörlü, karmaşık genetik ve endokrin bozukluklarla seyreden, adet bozuklukları ile karakterize, hiperandrojenizm ve polikistik yumurtalıkların klinik ve biyokimyasal tablosudur [2]. PKOS'un üreme çağındaki kadınların en az %5-%15'ini etkilediği ve bu yüzden dünya çapındaki en yaygın endokrin anormallik olduğu tahmin edilmektedir [48]. Günümüzde PKOS teşhisi için üç farklı kriter mevcuttur. Teşhis kriterlerinin değişik tartışmalara yol açmasına rağmen bu üç kriterde de PKOS teşhisi konulabilmesi için hiperandrojenizm bulgularının bulunması şartı koşulmuştur. [49,53,45,16].

CYP 17 geninin kodladığı sitokrom P450c17 α enzimi hem 17 α - hidroksilaz hem de 17,20-liyaz aktivitesi gösterir ve steroid hormon üretiminde iki önemli adımda görev alır [38]. P450c17 α özellikle adrenal bezler, testis Leydig hücreleri ve yumurtalık tekal hücreleri üzerinde ifade olur [66]. P450c17 α enzim aktivitesindeki bozukluğun yumurtalık androjen yüksekliğinin temel sebebi olduğu düşünülmektedir [25]. Artmış P450c17 α enzim aktivitesi polikistik over sendromunda androjen biyosentezini ve salgısını artırmaktadır.

Wickenheisser ve arkadaşları *in vitro* kuşullarda PKOS'lu hastalara ait yumurtalık tekal hücrelerinin normal kadınlarınkine göre artmış bir CYP 17 ifadesi gösterdiğini ifade etmişlerdir. CYP17 geninin promotör bölgesinde 34 bçlik bir T/C polimorfizmi gözlenmiştir [56].

Gorai ve arkadaşlarının 2007 yılında Japon kadınları üzerinde yaptıkları bir araştırmaya göre DHEA, androjen, E2 biyokimyasal parametreleri ile PKOS arasında önemli bir ilişki tespit edilmiştir [36]. Diamanti-Kandarakis ve arkadaşlarının 1999 yılında PKOS'lu Yunan kadınları ile yaptıkları bir çalışmada ise CYP 17 promotör bölgesinde polimorfizm saptanmıştır [25].

Souiden ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada prostat kanseri ile CYP 17 T/C polimorfizmi arasında ilişki saptanmıştır [68].

Bentz ve arkadaşlarının 2008 yılında transeksüeller üzerinde yaptıkları bir araştırmada ise cinsiyetini kadından erkeğe değiştiren bireylerde CYP 17 geni T/C allel sıklığı bakımından normal kadınlarla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmişken, cinsiyetini erkekten kadına değiştiren bireylerde bu allel bakımından bir farklılık tespit edilmemiştir [14]. Bu durum CYP 17 genindeki bozuklukların özellikle kadınlar üzerinde erkekleşme bakımından etkili olabileceğini düşündürmektedir. CYP 17 genindeki polimorfizmlerin meme kanseriyle de bağlantılı olabileceği yönünde görüşler vardır. Kuligina ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada ise meme kanseri ile CYP 17 gen polimorfizmi arasında bir ilişki tespit edilmemiştir [50]. Yine Miyoshi ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada meme kanseri ile CYP 17 gen polimorfizmi arasında bir ilişki bulunmadığı tespit edilmiştir [61]. Pusalkar ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada PKOS'lu hastalarla normal bireylerin CYP17 promotör bölgesinde bir T polimorfizmi olduğu saptanmıştır [65]. Echiburu ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada artmış insülin direnci ve yüksek kilolu PKOS'lu kişilerde CYP17 promotör bölgesinde bir T/C polimorfizmi tespit etmişlerdir [27].

Türk toplumunda görülen polikistik over sendromu ve CYP17 geni arasındaki ilişkiyi incelediğimiz çalışmada PKOS'lu kadınların % 81,5' inin TT (homozigot yabancı), % 18,5' inin TC (heterozigot mutant) genotipinde olduğu saptanmıştır. Bu durumda PKOS grubunda T alleli görülme sıklığı % 81,5 iken C alleli görülme sıklığı % 18,5 olarak tespit edilmiştir.

Kontrol grubundaki kadınların % 96,3' ünün TT (homozigot yabancı), %3,7' sinin ise TC (heterozigot mutant) genotipinde olduğu saptanmıştır. Kontrol grubunda T alleli görülme sıklığı % 96,3 iken C alleli görülme sıklığı %3,7 olarak tespit edilmiştir. (çizelge 5.2)

PKOS ve kontrol grubu allel dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

PKOS grubunda bulunan 119 kadından, TC (heterozigot mutant) genotipe sahip 27 ve TT (homozigot normal) genotipe sahip 92 kadın tespit edilmiştir. TT genotipine sahip grubun Açlık İnsülin düzeyi, Prolaktin, DHEA-S, Serbest Testosteron, Serbest T3, Progesteron, 17-OH Progesteron, , Trigliserit, Total Kolesterol, HDL Kolestrol, LDL Kolestrol ve HOMA indeksi değerleri ortalamaları TC genotipine sahip kontrol grubu kadınlarına göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. TC genotipine sahip kadınlarda ise Açlık kan şekeri düzeyi, LH, FSH, TSH, Serbest T4 ve Estradiol değerleri ortalamaları TT genotipine sahip kadınlara göre yüksek düzeyde bulunmuştur.

Nonparametric Mann-Whitney U Testi sonucuna göre; LH, Estradiol ve DHEA-S parametreleri birbiriyle kıyaslandığında PKOS grubundaki TC ve TT genotipine sahip iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Akgül, S., Derman, O., Alikashiöglu, M., Aktaş, D., “CYP1A1 polymorphism in adolescents with polycystic ovary syndrome”, *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 112: 8–10 (2011).
2. Allahbadia, G., N., Merchant, R.,. “Polycystic ovary syndrome and impact on health”, *Middle East Fertility Society Journal*, 16:19–37 (2011).
3. Amato, P., Simpson, J., L., “The genetics of polycystic ovary syndrome”, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 18:5:707–718 (2004).
4. Arroyo, A., Laughlin, G.A., Morales, A.J., Yen, S., S., C., “Inappropriate Gonadotropin Secretion in Polycystic Ovary Syndrome: Influence of Adiposity”, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82:11:3728-3734 (1997).
5. Azziz, R., Carmina, E., Dewaily, D., Diamanti-Kandarakis, E., Escobar-Morreale, H., F., Futterweit, W., Janssen, O., E., Legro, R., S., Norman, R., J., Taylor, A., E., “The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report”, *Fertility and Sterility*, 91: 456-489 (2009).
6. Baba, T., Endo, T., Sata, F., Hannma, H., Kitajima, Y., Hayashi, T., Manase, K., Konaya, M., Yamada, H., Minakami, H., Kishi, R., Saito, T., “Polycystic ovary syndrome is associated with genetic polymorphism in the insulin signaling gene IRS-1 but not ENPP1 in a Japanese population”, *Life Sciences*, 81: 850–854 (2007).
7. Balani, J., Hyer, S., Wagner, M., Shehata, H., “Obesity, Polycystic Ovaries and Impaired Reproductive Outcome”, *Obesity*, 22:289-299 (2013).
8. Balen, A., Rajkowska, M., “Polycystic ovary syndrome—a systemic disorder?”, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 17(2):263–274 (2003).
9. Baptiste, C., G., Battista, M., C., Trottier, A., Baillargeon, J., P., “Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome”, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 122: 42–52 (2010).
10. Bayram, B., Kılıççı, Ç., Önlü, H., Özkurt, M., Erkasap, N., Yıldırım, E., Şahin, F.,. “Association of angiotensin converting enzyme (ACE) gene I/D polymorphism and polycystic ovary syndrome (PCOS)”, *Gene*, 489: 86–88 (2011).

11. Beaumont, A., "Genetics", *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*, 10:543-595 (2006).
12. Bendlova, B., Zavadilova, J., Vankova, M., Vejrazkova, D., Lukasova, P., Vcelak, J., Hill, M., Cibula, D., Vondra, K., Starka, L., Vrbikova, J., "Role of D327N sex hormone-binding globulin gene polymorphism in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome", *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 104: 68–74 (2007).
13. Ben-Harousha, A., Yogeve, Y., Fisc, B., "Insulin resistance and metformin in polycystic ovary syndrome", *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 115:125-133 (2004).
14. Bentz, E., A., Hefler, L., A., Kaufmann, U., Huber, J., C., Kolbus, A., Tempfer, C., B., "A polymorphism of the CYP17 gene related to sex steroid metabolism is associated with female-to-male but not male-to-female transsexualism", *Fertility and Sterility*, 90:56-60 (2008).
15. Berstein, L., Imyanitov, E., Gamajunova, V., Kovalevskii, A., Kuligina, E., Belogubova, E., Buslov, K., Karpova, M., Togo, A., Volkov, O., Kovalenko, I., "CYP17 genetic polymorphism in endometrial cancer: are only steroids involved?", *Cancer Letters*, 180:47–53 (2002).
16. Beydoun, H., A., Beydoun, M., A., Wiggins, N., Stadtmauer, L., "Relationship of obesity-related disturbances with LH/FSH ratio among post-menopausal women in the United States", *Maturitas*, 71: 55– 61 (2012).
17. Buck, P., "Historical Methods", *Contribution of the National Institute of Standards and Technology*, 3:36-79 (2010).
18. Cantón, R., F., Sanderson, J., T., Nijmeijer, S., Bergman, A., Letcher, R., J., Berq, M., "In vitro effects of brominated flame retardants and metabolites on CYP17 catalytic activity: A novel mechanism of action?", *Toxicology and Applied Pharmacology*, 216:274–281 (2006).
19. Chang, R., J., "Polycystic Ovary Syndrome and Hyperandrogenic States", *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*, 6(20): 489-516 (2009).
20. Cheng-Chieh, L., Hsi-Chin, W., Wen-Chi, C., Huey-Yi, C., Fuu-Jen, T., "CYP17 gene promoter allelic variant is not associated with prostate cancer", *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 21: 262–265 (2003).
21. Copperman, A., B., Mukherjee, T., Kase, N., G., "Polycystic Ovarian Syndrome", *Diagnosis and Management of Ovarian Disorders*, II(24):337-356 (2003).

22. Davis, L., G., Dibner, M., D., Battey, J., F., “Agarose Gel Electrophoresis”, *Basic Methods in Molecular Biology*, 5:58-61 (1986).
23. Delpisheh, A., Topping, J., Reyad, M., Tang, A., Brabin, B., J., “Prenatal alcohol exposure, CYP17 gene polymorphisms and fetal growth restriction”, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 138: 49–53 (2008).
24. Diamanti-Kandarakis, E., Bartzis, M., Bergiele, A., Tsianateli, T., Kouli, C., “Microsatellite polymorphism (tttta)_n at 2528 base pairs of gene CYP11a influences hyperandrogenemia in patients with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 73:735-742 (2000).
25. Diamanti-Kandarakis, E., Bartzis, M., Zapanti, E., Spina, G., Filandra, F., Tsianateli, T., Bergiele, A., Kouli, C., “Polymorphism T3C (234 bp) of gene CYP17 promoter in Greek patients with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 71:431-436 (1999).
26. Donesky, B., W., “Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)”, *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, 4:1-3 (2004).
27. Echiburú, B., Perez-Bravo, F., Maliguelo, M., Sanchez, F., Crisosto, N., Sir-Petermann, T., “Polymorphism T → C (–34 base pairs) of gene CYP17 promoter in women with polycystic ovary syndrome is associated with increased body weight and insulin resistance: a preliminary study”, *Metabolism Clinical and Experimental*, 57:1765–1771 (2008).
28. Ehrmann, D., A., “Insulin Resistance in PCOS (Polycystic Ovary Syndrome)”, *Encyclopedia of Hormones*, 381-384 (2003).
29. Elkins, K., M., “Determination of Quality and Quantity of DNA Using Agarose Gel Electrophoresis”, *Forensic DNA Biology*, 5:53-57 (2013).
30. Evliyaoğlu, O., “Polikistik over sendromu ve hirsutizm”, *Türk Pediatri Arşivi*, 46:97-102 (2011).
31. Farkas, D., H., Holland, C., A., “Overview of Molecular Diagnostic Techniques and Instrumentation”, *Cell And Tissue Based Molecular Pathology*, 3:19-33 (2009).
32. Franks, S., “What is polycystic ovary syndrome?”, *Women’s Health Medicine*, 3:3 101-104 (2006).
33. Franks, S., “*Polycystic Ovary Syndrome*”, *Encyclopedia of Hormones*, 237-243 (2003).

34. Glintborg, D., Hermann, A., P., Andersen, M., Hegen, C., Beck-Nielsen, H., Veldhuis, J., D., Henriksen, J., E., “Effect of pioglitazone on glucose metabolism and luteinizing hormone secretion in women with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 86:385-398 (2006).
35. Gonzalez, A., Abril, E., Roca, A., Aragon, M., J., Fiqueroa, M., J., Velarde, R., Royo, J., L., Real, L., M., Ruiz, A., “CAPN10 Alleles Are Associated with Polycystic Ovary Syndrome”, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(8):3971-3976 (2002).
36. Gorai, I., Inada, M., Morinaga, H., Uchiyama, Y., Yamauchi, H., Hirahara, F., Chaki, O., “CYP17 and COMT gene polymorphisms can influence bone directly, or indirectly through their effects on endogenous sex steroids, in postmenopausal Japanese women”, *Bone*, 40: 28–36 (2007).
37. Günaltılı, G., “Polikistik Over Sendromunda Capn 10-19 (Kalsiyum İle Aktive Edilmiş Nötral Proteinaz 10 Snp 19) Ve Capn 10-43 (Snp 43) Polimorfizmin Araştırılması, Gen Direnci Ve Klinik Parametreler İle İlişkisi”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2010).
38. Hsu, M-I., Liou, T., H., Liang, S., J., Su, H., W., Wu, C., H., Hsu, C., S., “Inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 91:1168-1175 (2009).
39. Ioannidis, A., Ikonomi, E., Dimou, N., L., Douma, L., Bagos, P., G., “Polymorphisms of the insulin receptor and the insulin receptor substrates genes in polycystic ovary syndrome: A Mendelian randomization meta-analysis”, *Molecular Genetics and Metabolism*, 99:174–183 (2010).
40. Jarlinsey, M., “Electrophoresis”, *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications Karlinsey*, 12:375-406 (2012).
41. Jääskeläinen, J., Korhonen, S., Voutilainen, R., Hippeläinen, M., Heinonen, S., “Androgen receptor gene CAG length polymorphism in women with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 83:1724-1729 (2005).
42. Jakimiuk, A., J., Weitsman, S., R., Yen, H., W., Boqusiewicz, M., Magoffin, D., A., “Estrogen receptor alpha and beta expression in theca and granulosa cells from women with polycystic ovary syndrome”, *Journal of Clinic Endocrinology Metabolism*, 87:5532–5540 (2002).
43. Jensen, J., R., Alvero, R., “Polycystic Ovarian Syndrome”, *Reproductive Endocrinology and Infertility*, 5:65-75 (2007).
44. Kahn, J., A., “Polycystic Ovary Syndrome”, *Adolescent Medicine: The Requisites in Pediatrics*, 23:165-174 (2006).

45. Kawwass, J., F., Loucks, T., L., Berga, S., L., “An algorithm for treatment of infertile women with polycystic ovary syndrome”, *Middle East Fertility Society Journal*, 15:231–239 (2010).
46. Kim, J., J., Choung, S., H., Choi, Y., M., Yoon, S., H., Kim, S., H., Moon, S., Y., “Androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in women with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 90:2318-2324 (2008).
47. Kim, J., J., Choi, Y., M., Choung, S., H., Yoon, S., H., Lee, G., H., Moon, S., Y., “Estrogen receptor beta gene D1730 G/A polymorphism in women with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 93:1942-1948 (2010).
48. Kjerulff, L., E., Sanchez-Ramos, L., Duffy, D., “Pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome: a metaanalysis”, *Am J Obstet Gynecol*, 1(6):204-558 (2011).
49. Kovanci, E., Buster, J., E., “Polycystic Ovary Syndrome” , *Reproductive Endocrinology and Infertility*, 8(62): 893-910 (2006).
50. Kuligina, E., Togo, A., V., Suspitsin, E., N., Grigoriev, M., Y., Pozharisskiy, K., M., Chaquava, O., L., Berstein, L., M., Theillet, C., Hanson, K., P., Imyanitos, E., N., “CYP17 polymorphism in the groups of distinct breast cancer susceptibility: comparison of patients with the bilateral disease vs. monolateral breast cancer patients vs. middle-aged female controls vs. elderly tumor-free women”, *Cancer Letters*, 156: 45-50 (2000).
51. Lambrinoudaki, I., “Cardiovascular risk in postmenopausal women with the polycystic ovary syndrome”, *Maturitas*, 68:13–16 (2011).
52. Lee, E., J., Oh, B., Lee, J., Y., Kimm, K., Lee, S., H., Baek, K., H., “A novel single nucleotide polymorphism of INSR gene for polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 89:5:1213-1221 (2008).
53. Lee, E., J., Yoo, K., J., Kim, S., J., Lee, S., H., Cha, K., Y., Baek, K., H., “Single nucleotide polymorphism in exon 17 of the insulin receptor gene is not associated with polycystic ovary syndrome in a Korean population”, *Fertility and Sterility*, 86:2:380-384 (2006).
54. Lerchbaum, E., Schwetz, V., Giuliani, A., Pieber, T., R., Obermayer-Pietsch, B., “Opposing effects of dehydroepiandrosterone sulfate and free testosterone on metabolic phenotype in women with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 98:1318-1325 (2012).
55. Levitas, E., Levitas, A., Koifman A., “Hyperandrogenism, Functional”, *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, 2:504-508 (2004).

56. Lin, C-C., Wu, H., C., Chen, W., C., Chen, H., Y., Tsai, F., J., “CYP17 gene promoter allelic variant is not associated with prostate cancer”, *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 21: 262–265 (2003).
57. Lin, L., Baracat, M., C., Maciel, G., A., Saares, J., M., Barakat, E., C., “Androgen receptor gene polymorphism and polycystic ovary syndrome”, *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, (2012).
58. Lynch, R., M, Brown., “The polymerase chain reaction: current and future clinical applications”, *Journal Medical Genetics*, 27:2-7, (1990).
59. Mancini, M., Cianciosi, A., Persico, N., Facchinetti, F., Busacchi, P., Battaglia, C., “Drospirenone and cardiovascular risk in lean and obese polycystic ovary syndrome patients: a pilot study”, *Am J Obstet Gynecol*, 1(8):202- 169 (2010).
60. Márquez, J., L., Pacheco, A., Valdés, P., Salazar, S., A., “Association between CAPN10 UCSNP-43 gene polymorphism and polycystic ovary syndrome in Chilean women”, *Clinica Chimica Acta*, 398: 5–9 (2008).
61. Miyoshi, Y., Iwao, K., Ikeda, N., Egawa, C., Noguchi, S., “Genetic polymorphism in CYP17 and breast cancer risk in Japanese women”, *European Journal of Cancer*, 36:2375-2379 (2000).
62. Newby, D., T., Marlowe, E., M., Maier, R., M., “Nucleic Acid–Based Methods of Analysis”, *Environmental Microbiology*, III (13): 243-285 (2010).
63. Ogden, R., C., Adams, D., A., “Electrophoresis in Agarose and Acrylamide Gels”, *Methods in Enzymology*, 157(8):61-87 (1987).
64. Overbergh, L., Giulietti, A., P., Valckx, D., Mathieu, C., “Real-Time Polymerase Chain Reaction“, *Molecular Diagnostics*, 7: 87-106 (2010).
65. Pusalkar, M., Meherji, P., Gokral, J., Chinnaraj, S., Maitra, A., “CYP11A1 and CYP17 promoter polymorphisms associate with hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 92:2:653-660 (2009).
66. Sewer, M., B., Jagarlapudi, S.,. “Complex assembly on the human CYP17 promoter”, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 300:109–114 (2009).
67. Siegel, S., Futterweit, W., Davies, T., F., Conception, E., S., Greenberg, D., A., Villanueva, R., Tomer, Y., “A C/T single nucleotide polymorphism at the tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene is associated with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 78:6: 1240-1243 (2002).
68. Souiden, Y., Mahdouani, M., Chaieb, K., Elkamet, R., Mahdouani, K., “CYP17 gene polymorphism and prostate cancer susceptibility in a Tunisian population”, *Cancer Epidemiology*, 35:480–48 (2011).

69. Taylor, E., A., McCourt, B., Martin, K., A., Anderson, E., J., Adams, J., M., Schoenfeld, D., Hall, J., E., “Determinants of Abnormal Gonadotropin Secretion in Clinically Defined Women with Polycystic Ovary Syndrome”, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82:7:2248-2257 (1997).
70. Unruh, T., R., Woolley, J., B., “Molecular Methods in Classical Biological Control”, *Handbook of Biological Control*, 4:57-86 (1999).
71. Valdés, P., Cerda, A., Barrenechea, Kehr, M., Soto, C., Salazar, L., A., “No association between common Gly972Arg variant of the insulin receptor substrate-1 and polycystic ovary syndrome in Southern Chilean women”, *Clinica Chimica Acta*, 390:63–66 (2008).
72. Vasaitis, T., S., Brunoe, R., D., Njara, V., C., O., “CYP17 inhibitors for prostate cancer therapy”, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 125: 23–31 (2011).
73. Vietri, M., S., Cioffi, M., Sessa, M., Simeone, S., Bontempo, P., Trabucco, E., Ardovino, M., Colacurci, N., Mplinari, A., M., Cobellis, L., “CYP17 and CYP19 gene polymorphisms in women affected with endometriosis”, *Fertility and Sterility*, 92(3):1532-1536 (2009).
74. Walch, K., Grimm, C., Zeillinger, R., Huber, J., C., Nagele, F., Hefler, L., A., “A common interleukin-6 gene promoter polymorphism influences the clinical characteristics of women with polycystic ovary syndrome”, *Fertility and Sterility*, 81:1638-1642 (2004).
75. Walch, K., Kolbus, A., Hefler-Frischmuth, K., “Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in premenopausal women with polycystic ovary syndrome”, *Maturitas*, 61: 256–259 (2008).
76. Wei, B., Zhang, Y., Xi, B., Changa, J., Baia, J., Su, J., “CYP17 T27C polymorphism and prostate cancer risk: a meta-analysis based on 31 studies”, *Journal of Biomedical Research*, 24(3):233-241 (2010).
77. Wiltgen, D., Furtado, L., Kohek, M., B., F., Spritzer, P., M., “CAPN10 UCSNP-43, UCSNP-19 and UCSNP-63 polymorphisms and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome”, *Gynecological Endocrinology*, 23(3): 173–178 (2007).
78. Wiweko, B., Auditiyarini, E., Anita D., “Relation between CYP17 Polymorphism and Hyperandrogenemia in Polycystic Ovarian Syndrome”, *Indones J Obstet Gynecol*, 35(1):3-8 (2011)

EKLER

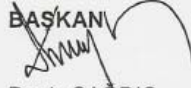
EK-1. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu'nun tez projesi hakkındaki kararı

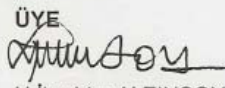
T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI
ETİK KURUL TOPLANTI RAPORU

OTURUM NO : 122
OTURUM TARİHİ : 04 Kasım 2008
OTURUM BAŞKANI : Prof. Dz. Diş Tbp. Kd. Alb. Deniz SAĞDIÇ
OTURUM SEKRETERİ : Doç. Dr. Ecz. Kd. Alb. Adnan ATAÇ

GATA Etik Kurulu'nun 04 Kasım 2008 günü yapılan 122. oturumunda, GATA Kadın Hastalıkları ve Doğum AD'dan Yrd. Doç. J. Tbp. Yb. Emre Karşahin'in sorumlu araştırmacılığını yaptığı "Polikistik Overli Olgularda CYP11A Gen Mutasyonlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Dizi Analizi İle Araştırılması" başlıklı çok merkezli çalışma olan dosya değerlendirildi.

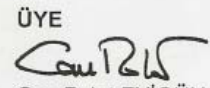
Araştırma dosyasının amaç, yöntem ve yaklaşım bakımından etik ilkelere UYGUN olduğuna karar verildi.


BASKAN

Deniz SAĞDIÇ
Prof.Dz.Diş Tbp.Alb.


ÜYE

H.İbrahim ALTINSOY
Prof.Tbp.Alb.

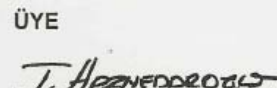
ÜYE


Cem TAYFUN
Prof.Tbp.Alb.

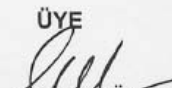
ÜYE

Can Polat EYİĞÜN
Prof.Hv.Tbp.Alb.

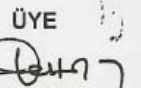
ÜYE

Ali Uğur URAL
Prof.Tbp.Alb.


ÜYE

Ali İhsan UZAR
Prof.Hv.Tbp.Alb.

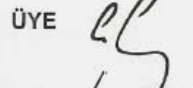
ÜYE

Tunçer HAZNEDAROĞLU
Prof.Dz.Tbp.Alb.

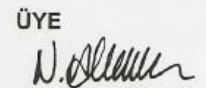
ÜYE

Hasan OZAN
Prof.Tbp.Alb.

ÜYE

Şehin GÜRAN
Prof.Tbp.Alb.

ÜYE

Onur GENÇ
Prof.Tbp.Alb.

ÜYE

Adnan ATAÇ
Doç.Dr.Ecz.Alb.

ÜYE

Mükerrrem SAFALI
Doç.Tbp.Alb.

ÜYE

Nalan AKBAYRAK
Prof. Dr. Sağ. Yb.

EK-2. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ HASTANESİ
GENETİK MATERYAL ÜZERİNDE YAPILACAK ARAŞTIRMALAR
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: “Polikistik Overli Olgularda *CYP11A* Gen Mutasyonlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Dizi Analizi ile Araştırılması”

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr.Leyla AÇIK

Diğer Araştırmacıların Adı: Yrd. Doç. Dr. Emre KARAŞAHİN, Gülşah DEMİR

Destekleyici (varsa): Destekleyici Yoktur. Laboratuarda araştırma için gereken makine, kimyasal, malzeme ve enzimler mevcuttur.

“Polikistik Overli Olgularda *CYP11A* Gen Mutasyonlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Dizi Analizi ile Araştırılması” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amacı ile yapılmaktadır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlıklarını bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırın ve bu bilgileri ailenizle ve/veya doktorunuzla tartışın. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

1. Genetik çalışmanın amacı ve dayanağı nelerdir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

a. Neden özellikle bu kişi / hasta seçilmiştir?

Bu çalışmaya davet edilmenizin nedeni sizde polikistik over sendromu tanısı konmasıdır. Katılımınız ile bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir.

EK-2. (Devam) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

b. *Çalışmanın önemi ve gerekliliği nelerdir?*

Genler, DNA olarak isimlendirilen genetik materyalden oluşurlar. DNA hücrenin bir bölümüdür ve kalıtsal özelliklerin (göz rengi gibi) oluşmasından sorumludur."Polikistik over" hastalığı ile ilişkilendirilen çeşitli genler bulunmuştur. Bu araştırma ile sizin DNA'nızı çalışmak ve genlerinizde herhangi bir anormallik olup olmadığını ya da bu soruna neden olabilecek yeni genler olup olmadığını bulmak istiyoruz.

c. *Çalışmaya toplam kaç kişinin katılması planlanmaktadır?*

Çalışmaya toplam 200 kişinin katılması planlanmaktadır

2. Bu genetik çalışmaya katılmalı mıyım?

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Böyle bir karar vermeniz durumunda tıbbi bakımınız bu durumdan etkilenmeyecektir.

3. Genetik araştırma nasıl yapılacaktır?

a. *Hangi örnek (ler) alınacak ve nasıl alınacaktır ?*

Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz, 10 ml kadar bir miktarda kolunuzdan kan alınacaktır. Genellikle bir tek örnekleme yeterlidir ancak bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

b. *Örnekte neler araştırılacaktır?*

Örneklerden DNA izole edilerek polikistik overe sebep olan gen mutasyonları araştırılacaktır. Bu çalışma için kan örnekleri RBC lizis tamponu serilerinden

EK-2. (Devam) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

geçirilir. Santrifüj serilerinden sonra, proteinler ve DNA dışındaki tüm moleküller uzaklaştırılır. Alkol serilerinden geçirilerek DNA'nın kümeleşmesi sağlanır. Alkol uzaklaştırıldıktan sonra DNA çözücü, TE tamponunda saklanacaktır. Daha sonra PZR işlemi yapılacak PAGE ve agoroz jelde ürünleri yürütülerek PZR'in başarılı olup olmadığına bakılacaktır. RFLP tekniği ile polimorfizm olup olmadığına bakılacaktır.

Örnekler nerede çalışılacak?

Toplanan kanlar ile Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji laboratuvarında çalışılacaktır.

c. Genetik örneğin gelecekte nasıl imha edilmesi planlanıyor?

Elde edilen DNA, DNaz enzimi ile parçalanarak, atılacaktır.

4.Tarafımdan alınan örnekler gelecekte de kullanılabilir mi?

(Bu bölümde katılımcıdan "Tabakalandırılmış olur" olarak isimlendirilen bir onay alınmalıdır. Aşağıda yazılı olan bölüm aynen korunarak katılımcının aşağıdaki 4 seçenektan birini işaretlemesi istenmelidir.)

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımını ancak sizin iznimize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar isminiz (kimlik bilgileriniz) korunmak ya da yok edilmek kaydı ile saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

1- Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

2- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

EK-2. (Devam) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

3- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

4- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

*Kodlanmış örnek: Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

5. Çalışmanın riskleri nelerdir?

- a. Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz ve kolda morarma olabilir. Düşük bir olasılık da olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, veya enfeksiyon riski vardır.
- b. Yapılacak genetik teste bağlı oluşabilecek riskler: Yapılan testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötüye kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de olumsuz etkileyebilir.

6. Çalışmanın yararları nelerdir?

Çalışmadaki genler pek çok kanser türüne sebep olmaktadır. Polikistik Overli olguların %8-16'sinde görülen bir mutasyondur. Bu çalışma sayesinde kanserleşmeye sebep olan mutant genin özellikleri araştırılarak, Türkiyede ki, bizim çalıştığımız hastalardaki polimorfizmin durumunu ortaya çıkaracaktır.

7. Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Çalışma doktorunuz, araştırmada yer alan diğer araştırmacılar ve destekleyici (varsa, firma adını belirtiniz) kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Size ait bulgular üçüncü kişilere, onayınız dışında hiçbir şekilde açıklanmayacaktır.

EK-2. (Devam) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Çalışmanın sonunda, size ait tüm sonuçlar hakkında bilgi istemeye hakkınız olduğu gibi böyle bir bilgiyi öğrenmeyi reddetme hakkınız da vardır. Lütfen aşağıdaki kutucuklardan size uygun olanı işaretleyiniz:

- Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istiyorum
- Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istemiyorum.

Kendinizle ilgili genetik bilgiyi öğrenmeyi seçmeniz durumunda size (varsa) sağaltım ile ilgili bilgiler ve genetik danışmanlık hizmeti verilecektir.

Çalışma sonuçları çalışma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

(Çalışma için eğer gerekiyorsa aşağıdaki standart durumlar açıklanmalıdır)

- *Örnek: Kanınız genetik faktörler açısından test edilecek ve elde edilen bilgi sizin hakkınızda bize genetik bilgi verecektir. Genetik testler, bu araştırma ile ilgisi olmayan size ait çok özel başka bilgiler de verebilir. Böyle bir durumda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacak ve bilgiler üçüncü şahıslara sizin onayınız olmaksızın açıklanmayacaktır.)*

8. Bu çalışmaya katılmamanın maliyeti nedir?

a. *Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.*

9. Çalışmanın ticari bir yönü var mıdır?

Gönüllülerden elde edilen bilgilerden, tıbbi testler ya da tedaviler geliştirilebilmesi gibi ticari bir fayda sağlanabilir. Böyle bir durum olursa, gönüllüler herhangi bir şekilde ticari gelir temin etmeyeceklerdir.

10. Göreceğim olası bir zarar durumunda ne yapılacaktır?

EK-2. (Devam) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

- *Araştırmadan dolayı katılımcının göreceği olası bir zararda bunun sorumluluğunun ve giderilmesi için gerekli her türlü tıbbi müdahalenin yapılacağını; bu konudaki tüm harcamamaların üstlenileceğini belirtiriz.*

11. Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim?

Araştırma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksinim duyduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Prof. Dr. Leyla AÇIK

GÖREVİ : Öğretim Üyesi

TELEFON : (312) 202 11 85

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÜFEF Biyoloji Anabilim dalında, Prof. Dr. Leyla AÇIK tarafından genetik bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakıma ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. *(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim)*. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi girişimin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi girişimlerle ilgili olarak parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte,

EK-2. (Devam) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Dr.....(Doktor ismi),(telefon ve adres) 'ten arayabileceğimi biliyorum.

(Doktor ismi, telefon ve adres bilgileri mutlaka belirtilmelidir).

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu genetik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

KATILIMCI İLE GÖRÜŞEN HEKİM

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : Yağmur ÖNER
 Uyuşu : T.C.
 Dogum Yeri ve Tarihi : 30.07.1987 Ankara
 Medeni Hali : Bekar
 Telefon : (544) 273 05 60
 E-mail : yagmuroner87@gmail.com

Eğitim Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü	2013
Lisans	Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Alparslan Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)	2005

Yabancı Dil

İngilizce

İş Deneyimi:

- 2010- 2011 Eğitim-Öğretim yılında Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde ücretli asistan olarak çalıştı.
- 2012-Halen MYB Rönesans Sağlık Hiz. İç ve Dış Tic. Ltd. Şti.'de Proje sorumlusu olarak çalışmaktadır.

Yayınlar

- Nuran Asmafiliz, Zeynel Kılıç, Tuncer Hökelek, L. Yasemin Koç, Leyla Açık, Yasemin Süzen, **Yağmur Öner**, Phosphorus–nitrogen compounds: Part 26. Syntheses, spectroscopic and structural investigations, biological and cytotoxic activities, and DNA interactions of mono and bisferrocenylspirocyclotriposphazenes, “Inorganica Chimica Acta”, 400: 250-261 (2013)

2. Koç, Z., Çelik, M., Önal, M., Sarıkaya, Y., **Öner, Y.** ve Açık, L. "Study on the Synthesis and Properties of Polyacrylamide/Na-Montmorillonite Nanocomposites," *Journal Composite Materials*, (2013)
3. Gülay Dilek & Celik, Ali Dişli, **Yağmur Öner**, Leyla Açık, Synthesis of Some Novel Thiocyanotopurine Derivatives and Investigation of Their Antimicrobial Activity and DNA Interactions. *Chem. Pharm. Bull*, 60(5): 578-582, 2012.
4. Nuran Asmafiliz, Zeynel Kılıç, Zeliha Hayvalı, Leyla Açık, Tuncer Hökelek, Hakan Dal, **Yağmur Öner**, Phosphorus-nitrogen compounds: Part 23. Syntheses, structural investigations, biological activities, and DNA interactions of new N/O spirocyclophosphazenes. ***Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy***. [86](#) : 214-223, 2012.
5. Aytuğ Okumuş, Zeynel Kılıç, Tuncer Hökelek, Hakan Dal, Leyla Açık, **Yağmur Öner** and L. Yasemin Koç, Phosphorus–nitrogen compounds part 22. Syntheses, structural investigations, biological activities and DNA interactions of new mono and bis (4-fluorobenzyl) spirocyclophosphazenes, ***Polyhedron***, 30 (17) 2896–2907, 2011