



**T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI**

**IRAKLI KADINLARDA POLİKİSTİK OVERLİ
HASTALARDA CYP11A1 VE CYP19A1 GENLERİNİN
POLİMORFİZMLERİNİN TARANMASI**

Sarah SHAMİL BLASİM AL-BAHDALİ

YÜKSEK LİSANS TEZ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Özlem KARA

KIRŞEHİR- AĞUSTOS 2024

KABUL VE ONAY

“Bireysel ve Takım Sporunu Yapan Kadın Sporcuların Bazı Fizyolojik Parametreleri ile Menstrüasyon ve Beslenme Düzenlerinin İncelenmesi” adlı bu çalışma, 01.08.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Beden Eğitimi ve Spor Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Dr. Öğr. Üyesi Özlem KARA (Danışman)

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi Alican BİLDEN
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Züleyha DOĞANYİĞİT
Yozgat Bozok Üniversitesi
Tıp Fakültesi

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 bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sarah SHAMİL BLASİM AL-BAHDALİ

ÖNSÖZ

Başta danışman hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Özlem Kara, Dr. Ali Hafez'e ve desteğinden dolayı Dr. İbtisam Beday'a sonsuz teşekkürlerimi ve takdirlerimi sunuyorum. Desteğiniz ve bilgileriniz ile tezimi yürütmemdeki çabalarınız tezin şekillenmesinde ve nihai hale gelmesindeki emekleriniz için teşekkür ederim. Bu tez sayesinde bilim, bilgi ve tecrübelerinizden yararlanma fırsatı buldum. İşyerimdeki çalışma arkadaşlarıma da destekleri için teşekkürlerimi ve takdirlerimi sunarım. Sağladıkları yardım için Dr. Ali Mahmoud Al-Alaq'a (Maysan Sağlık Departmanı Genel Müdürü), Profesör Maytham Al-Nouri'ye (Maysan Çocuk ve Doğum Hastanesi İdari Asistanı) ve Profesör Qasim Munshid (Maysan Çocuk ve Doğum Hastanesi Laboratuvarlar Bölümü Müdürü)'e teşekkür ve takdirlerimi sunarım. Bu araştırmayı, istediklerime ulaşmak için bana yardım eden ve ilerleme yeteneğime olan güvenimi yeniden tesis eden kişi olan sevgili eşim, yol arkadaşım, iyi ve kötü tüm günlerimin dostu, beni her zaman ilk destekleyen ve cesaretlendiren ruh eşime ithaf ederim.

Ayrıca aileme, dostlarıma, beni cesaretlendiren ve bu yolda bana yardımcı olan herkese teşekkürlerimi ve takdirlerimi sunarım.

Ağustos, 2024

Sarah SHAMİL BLASİM AL-BAHDALİ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	ix
ÖZET	x
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.Polikistik over sendromu (PKOS)	4
2.2. Polikistik Over Sendromunun Epidemiyolojisi	5
2.3.Polikistik Over Sendromunun Nedenleri	5
2.4.Polikistik Over Sendromunun Belirtileri	6
2.5.Polikistik Over Sendromunda Biyokimyasal yollar	8
2.6. Polikistik Over Sendromu ile İlişkili Farklılıklar	9
2.7.CYP Genleri ve İnfertilite ile Polikistik Over Sendromu	10
2.7.1.CYP11A1 Geni	12
2.7.1.1. CYP11A1 Yapısı	15
2.7.1.2. CYP11A1 Tanımı	16
2.7.2.CYP19A1 Geni	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1.Gereç.....	22
3.1.1.Kan örneklerinin toplanması.....	22
3.1.2.Malzemeler	22
3.1.3.Ekipman	23
3.2.Yöntem.....	24
3.2.1.Biyokimyasal testler.....	24
3.2.2. Hormonal testler	24

3.2.2.1. Cinsiyet hormonları ve tiroid fonksiyon testleri.....	24
3.2.2.2. Leptin hormonu.....	25
3.2.3. Moleküler çalışma.....	27
3.2.3.1. DNA izolasyonu	27
3.2.3.2. Elektroforezin Çalıştırılması.....	29
3.2.3.3. Polimeraz zincirleme reaksiyonu.....	30
3.2.3.4. CYP11A1 rs700519 ve CYP19A1 rs2414096 genetik polimorfizmleri....	30
3.2.3.4.1. CYP11A1 rs700519	31
3.2.3.4.2. CYP19A1 rs2414096.....	31
3.3. İstatistiksel analiz.....	32
4. BULGULAR	33
4.1. Örnekleme.....	33
4.2. Biyokimyasal testler	34
4.2.1. Kan şekeri, hemoglobin A1c, insülin direnci, böbrek fonksiyonu ve lipit profili testleri.....	34
4.2.2. Karaciğer fonksiyon testi	35
4.3. Seks hormonu.....	35
4.4. Tiroid hormonları.....	35
4.5. Leptin hormonu.....	36
4.6. Çalışılan parametreler arasındaki korelasyon	36
4.7. Moleküler çalışma.....	36
4.7.1. CYP19A1 rs2414096	38
4.7.2. CYP19A1 rs2414097	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
KAYNAKLAR	46
EKLER	

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Dişi yumurtalığında steroidogenez süreciyle ilgili genler.....	10
Şekil 3.1. Roche Cobas c111 otoanalizörü	24
Şekil 3.2. Öğretmenlerin Kıdemlerine İlişkin Dağılım Grafiği.....	25
Şekil 3.3. Standart seyreltme serisi.....	26
Şekil 3.4. Leptin hormonunun standart eğrisi	27
Şekil 4.1. 50 dakika boyunca 100 voltajda Red Safe lekeli (Intron, Kore) ile boyanmış %1,5 agaroz jel üzerinde CYP11A1 rs700519'un jel elektroforezi	39
Şekil 4.2. 50 dakika boyunca 100 voltajda Red Safe boyası (Intron, Kore) ile boyanmış %1,5 agaroz jel üzerinde CYP19A1 rs2414096'nın jel elektroforezi	41

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan malzemeler ve kitleler.....	22
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ekipmanlar.....	23
Tablo 3.3. Primer dizileri, PCR koşulları ve PCR ürünlerinin uzunluğu.....	30
Tablo 4.1. Çalışılan grupların sosyo-demografik verileri.....	33
Tablo 4.2. Kan şekeri, HbA1c, insülin direnci testi, böbrek fonksiyon testi ve lipid profil düzeyi.....	34
Tablo 4.3. Karaciğer fonksiyon testi seviyesi.....	35
Tablo 4.4. Seks hormonları düzeyi.....	35
Tablo 4.5. Tiroid hormon düzeyi.....	36
Tablo 4.6. Leptin hormon düzeyi.....	36
Tablo 4.7. Çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.....	38
Tablo 4.8. PKOS grubunda CYP11A1 rs700519 genotiplemesinin kontrollerle karşılaştırıldığında Hardy-Weinberg denge analizi.....	39
Tablo 4.9. PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CYP11A1 rs700519 genotipi ve alel frekansları.....	40
Tablo 4.10. PKOS grubunda CYP19A1 rs2414096 genotiplemesinin kontrollerle karşılaştırıldığında Hardy-Weinberg denge analizi.....	41
Tablo 4.11. PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CYP11A1 rs2414096 genotipi ve alel frekansları.....	42
Tablo 4.12. PKOS grubunda CYP19A1 rs2414096 genotiplemesinin kontrollerle karşılaştırıldığında Hardy-Weinberg denge analizi.....	42
Tablo 4.13. PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CYP11A1 rs2414096 genotipi ve alel frekansları.....	43

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simge	Açıklama
%	: Yüzde
°C	: Santigrad derece

Kısaltmalar	Açıklama
PKOS	: Polikistik over sendromu
AMH	: Antimülleryen Hormon
LH	: luteinize edici hormon
FSH	: folikül uyarıcı hormon
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
Fwd	: Forward (İleri)
Rev	: Revers (Geri)
U.V	: Ultra Viyole
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
bp	: Baz çifti
nm	: Nanometre
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
dk	: Dakika
g	:bağlı mekezkaç kuvveti
rpm	: dakika devir sayısı
U	: Volt
nmol	: Nanomol
L	: Litre

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IRAKLI KADINLARDA POLİKİSTİK OVERLİ HASTALARDA CYP11A1 VE CYP19A1 GENLERİNİN POLİMORFİZMLERİNİN TARANMASI

Sarah Shamil BLASİM AL-BAHDALİ

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Özlem KARA

Polikistik over sendromu (PKOS), doğurganlık çağındaki kadınlarda görülen karmaşık, heterojen ve multigenik bir hastalıktır. PKOS'un kesin mekanizması henüz tam olarak anlaşılammıştır; genetik, çevresel, beslenme, metabolik ve diğer etkileşimler vardır. Polikistik over sendromlu kadınlar hamilelik sırasında düşük, erken doğum, intrauterin ölüm veya ölü doğum gibi çeşitli durumlardan muzdariptir. Bu sendroma sahip kadınlarda aynı zamanda insülin direnci yüksektir. PKOS'lu hastalarda kan lipit düzeyindeki dengesizlik, bozulmuş glikoz toleransı ve tip 2 diyabet çok yaygın görülür. Bu sendromun prevalansı üreme çağındaki kadınlarda %4-20 arasında değişmektedir. PKOS çoklu fenotiplere sahip heterojen bir hastalık olmasına rağmen klasik olarak hiperandrojenizm ve oligoanovulasyon ile karakterizedir. PKOS'lu kadınlarda luteinize edici hormon (LH) seviyeleri yüksek ve folikül uyarıcı hormon (FSH) seviyeleri düşüktür. Polikistik over sendromlu kadınlarda hiperandrojenizm görülür ve östrojen üretimi az, androjen üretimi fazladır. Bu hormonal dengesizlikler nedeniyle polikistik over sendromlu kadınlarda sıklıkla düzensiz yumurtlama ve düzensiz adet döngüsü vardır. Polikistik over sendromunun bir nedeni olabilecek çok sayıda biyokimyasal yol tanımlanmış ve bu yollar için steroid hormonlarının biyosentezinde, metabolizmada, üreme ve gonadal hormonların etkisinde, enerji, insülin salgılanması gibi obezitenin düzenlenmesinde rol oynayan genler dahil olmak üzere birçok gen test edilmiştir. Bu çalışmada yaş faktörü, açlık kan şekeri (FBG), hemoglobin A1c (HbA1c), insülin direnci, lipit profili, böbrek fonksiyon testi, cinsiyet hormonları gibi polikistik over sendromu ile ilgili bazı faktörlerin etkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışma ayrıca LH, FSH, prolaktin, testosteron, estradiol, progesteronun yanı sıra tiroid fonksiyon testlerini de içermektedir. Çalışmada polikistik over sendromlu Iraklı kadınlarda CYP11A1 ve CYP19A1 genlerinin genetik polimorfizmlerin araştırılmıştır. Bu çalışma Irak'ın Maysan Provence şehrinin Amara İlçesi'ndeki Maysan Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi'nin jinekoloji bölümünü ziyaret eden 100 kadın üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma grubu, polikistik over sendromu tanısı konulan yaş ortalaması 30,56±8,42 yıl olan 50 kadın ve yaş ortalaması 29,62±7,62 yıl olan 50 sağlıklı kadından oluşmaktadır. Bu çalışmada tiroid

fonksiyon testlerine ek olarak kandaki RBG, HbA1c, insülin direnci, lipit profili, böbrek fonksiyon testi, LH, FSH, prolaktin, testosteron, estradiol, progesteron gibi seks hormonlarının düzeylerine bakıldı. PKOS'lu Iraklı kadınlarda CYP11A1 (rs700519) ve CYP19A1 (rs2414096 ve rs2414097) genlerinin genetik polimorfizmleri Sanger dizilimi kullanılarak sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldı. PKOS grubunun %52'sine evlendikten sonra tanı konduğu, %72'sinde aile öyküsünün olduğu ve %78'inin kronik hastalıklara sahip olduğu görüldü. PKOS grubunun tamamı (%100,0) diyetlerinde fast fooda bağımlıydı. Biyokimyasal incelemeler için sonuçlar, PKOS ve kontrol grupları arasında çalışılan parametreler açısından önemli farklılıklar gösterdi. PKOS grubunda FBG, HbA1c, insülin direnci düzey ortalamaları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Sonuçlar kan üre (BU) ve serum kreatinin testlerinde anlamlı olmayan farklılıklar ortaya çıkardı. Kolesterol düzeyinde de aynı sonuç ortaya çıktı ancak PKOS grubunda serum trigliserit (TG) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) düzeylerinde anlamlı artış görüldü. Kontrol grubunda ise yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma görüldü. Ayrıca karaciğer fonksiyon testi sonuçlarında PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olmayan farklılıklar görüldü. PKOS grubunda AST düzeyi, kontrol grubuna göre daha düşüktü. PKOS grubundaki ALT ve ALP düzeyi ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha düşüktü. PKOS grubunda kontrol grubuna göre LH, FSH, testosteron, estradiol hormonu düzeylerinde anlamlı artış vardı fakat prolaktin düzeyi açısından anlamlı bir fark yoktu. Ayrıca PKOS grubunda tiroid hormon sonuçlarında kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar ortaya çıktı. PKOS grubunda kontrol grubuna göre T3 hormonu düzeyinde anlamlı artış gözlenirken, PKOS grubunda T4 ve TSH hormon düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı olmayan azalma vardı. Leptin hormonu sonuçları PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış gösterdi. CYP11A1 rs700519'un Sanger yöntemiyle yapılan PCR dizilimi sonuçları, genin bu bölgesinde herhangi bir genetik varyasyon bulunmadığını, tüm PKOS ve kontrol gruplarının GG genotipine sahip olduğunu gösterdi. Ayrıca amplifiye segmentte rs700519 dışında ek bir genetik varyasyona rastlanmadı. CYP11A1 rs2414096'nın Sanger yöntemiyle PCR sekanslama sonuçları, PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark yoktu. GG, GA ve G aleli yüzdesini gösterirken (%24,0'a karşı %26,0, OR: 0,8, pc) : %48,0 vs. % 60,0 OR: 0,62, pc: 0,233 ve %48,0 vs. %56,0, OR: 0,0,73, pc: 0,260). AA genotipi ve A aleli sonuçları PKOS grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark göstermedi (%28,0 vs. % 14,0, OR: 2,39, pc: 0,091 ve %52,0 vs. %44,0, VEYA: 1,38, adet: 0,260). Ek olarak, CYP19A1 rs2414096 dizilimi sonuçlarıyla başka bir genetik varyasyon ortaya çıktı. CYP19A1 rs2414097 sonuçları, kontrol grubuna kıyasla PKOS grubunda GG genotipleri ve G alelinin düzeltilmiş, anlamlı olmayan bir artış yüzdesini gösterdi (%20,0 vs. 8,0) %, OR: 2,88, pc: 0,091; sırasıyla %42,0 ve %35,0, OR: 1,34, pc: 0,312). GA, AA genotipleri ve A aleli sonuçları PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olmayan bir azalma yüzdesi gösterdi (%44,0 vs. %54,0, OR: 0,67, pc: 0,322; %36,0 vs. 38,0) %, OR: 0,92, pc: 0,839 ve %58,0 vs. %65,0, OR: 0,47, pc: 0,312). Mevcut sonuçlardan PKOS'lu hasta grubunda FBG, HbA1c, insülin direnci, LH, FSH, testosteron, estradiol, progesteron, T3 ve leptin hormonu düzeylerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde arttığı sonucunu çıkarabiliriz. PKOS hasta grubunda HDL düzeyinde azalma görüldü. Ayrıca her iki grupta da CYP11A1 geni rs700519 için herhangi bir genetik varyasyon ortaya çıkmadı. CYP19A1 geninde ise rs2414096 için AA/A genotip/alel yüzdeleri ve rs2414097 için GG/G genotip/alel yüzdeleri PKOS hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olmayan bir artışla düzeltildi.

Ağustos 2024, 79 Sayfa.

Anahtar Kelimeler: PKOS, polymorphism, leptin, CYP11A1, CYP19A1.

SUMMARY

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF POLYMORPHISMS OF THE CYP11A1 AND CYP19A1 GENES IN PATIENTS WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME IN IRAQI WOMEN

Sarah Shamil BLASİM AL-BAHDALİ

Kırşehir Ahi Evran University

Institute of Health Sciences

Department of Molecular Medicine

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özlem KARA

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a complex, heterogeneous and multigenic disorder that occurs in women of childbearing age. The exact mechanism of PCOS is not yet fully understood; there are genetic, environmental, nutritional, metabolic and other interactions. Women with polycystic ovary syndrome suffer from various conditions during pregnancy, such as miscarriage, premature birth, intrauterine death or stillbirth. Women with this syndrome also have high insulin resistance. Blood lipid imbalance, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes are very common in patients with PCOS. The prevalence of this syndrome varies between 4-20% in women of childbearing age. Although PCOS is a heterogeneous disease with multiple phenotypes, it is classically characterized by hyperandrogenism and oligoanovulation. In women with PCOS, luteinizing hormone (LH) levels are high and follicle stimulating hormone (FSH) levels are low. Hyperandrogenism is seen in women with polycystic ovary syndrome and estrogen production is low and androgen production is high. Due to these hormonal imbalances, women with polycystic ovary syndrome often have irregular ovulation and irregular menstrual cycles. Numerous biochemical pathways that may be a cause of polycystic ovary syndrome have been identified and many genes have been tested for these pathways, including genes involved in the biosynthesis of steroid hormones, metabolism, the effects of reproductive and gonadal hormones, and the regulation of obesity such as energy and insulin secretion. In this study, we aimed to investigate the effects of some factors related to polycystic ovary syndrome such as age, fasting blood sugar (FBG), hemoglobin A1c (HbA1c), insulin resistance, lipid profile, renal function test, and sex hormones. This study also included LH, FSH, prolactin, testosterone, estradiol, progesterone as well as thyroid function tests.

This study was conducted on 100 women who visited the gynecology department at Maysan Hospital for Childhood and Maternity in Amara District, Maysan Province, Iraq. The study group consists of 50 women who were diagnosed with polycystic ovary syndrome by a specialist with age means 30.56 ± 8.42 years, and 50 healthy women with age means 29.62 ± 7.62 years. In the current study, we estimated the levels of blood FBG, HbA1c, insulin resistant, lipid profile, renal function test, sex hormones that included LH, FSH, prolactin, testosterone, estradiol, progesterone, in addition to the thyroid function tests, and investigating the genetic polymorphisms of CYP11A1 (rs700519) and CYP19A1 (rs2414096 and rs2414097) genes in Iraqi women suffering from PCOS compared to the healthy control group using Sanger sequencing. The study investigated genetic polymorphisms of CYP11A1 and CYP19A1 genes in Iraqi women with polycystic ovary syndrome. This study was conducted on 100 women who visited the gynecology department of Maysan Maternity and Children's Hospital in Amara District of Maysan Province, Iraq. The study group consisted of 50 women diagnosed with polycystic ovary syndrome with a mean age of 30.56 ± 8.42 years and 50 healthy women with a mean age of 29.62 ± 7.62 years. In this study, in addition to thyroid function tests, RBG, HbA1c, insulin resistance, lipid profile, kidney function test, levels of sex hormones such as LH, FSH, prolactin, testosterone, estradiol, and progesterone were examined. Genetic polymorphisms of CYP11A1 (rs700519) and CYP19A1 (rs2414096 and rs2414097) genes in Iraqi women with PCOS were compared with healthy controls using Sanger sequencing. It was observed that 52% of the PCOS group was diagnosed after marriage, 72% had a family history, and 78% had chronic diseases. The entire PCOS group (100.0%) was dependent on fast food in their diets. The results for biochemical examinations showed significant differences between the PCOS and control groups in terms of the studied parameters. The mean levels of FBG, HbA1c, and insulin resistance were significantly higher in the PCOS group than in the control group. The results revealed non-significant differences in blood urea (BU) and serum creatinine tests. The same result was also found in cholesterol levels, but a significant increase was seen in serum triglyceride (TG) and low-density lipoprotein (LDL) levels in the PCOS group. In the control group, a significant decrease was seen in high-density lipoprotein (HDL) levels compared to the control group. In addition, in the liver function test results, non-significant differences were seen in the PCOS group compared to the control group. AST levels were lower in the PCOS group compared to the control group. ALT and ALP levels in the PCOS group were lower compared to the control group. In the PCOS group, there was a significant increase in LH, FSH, testosterone, and estradiol hormone levels compared to the control group, but there was no significant difference in prolactin levels. In addition, significant differences were observed in thyroid hormone results in the PCOS group compared to the control group. While a significant increase was observed in the T3 hormone level in the PCOS group compared to the control group, there was a non-significant decrease in the T4 and TSH hormone levels in the PCOS group compared to the control group. Leptin hormone results showed a significant increase in the PCOS group compared to the control group. Results of PCR sequencing of CYP11A1 rs700519 by Sanger method showed that there was no genetic variation in this region of the gene, all PCOS and control groups had GG genotype. Also, no additional genetic variation was found in the amplified segment other than rs700519. The results of PCR sequencing by Sanger method of CYP11A1 rs700519 showed no genetic variation was found at this site of the gene, all the PCOS and the control groups have the GG genotype. In addition, there wasn't any additional genetic variation was appeared beside rs700519 in the amplified

segment. While the results of PCR sequencing by Sanger method of CYP11A1 rs2414096 showed a corrected non-significant decreased percentage of the GG, GA and G allele in the PCOS group compared to the control group (24.0% vs. 26.0%, OR: 0.8, pc: 0.821; 48.0% vs. 60.0%, OR: 0.62, pc: 0.233 and 48.0% vs. 56.0%, OR: 0.0.73, pc: 0.260, respectively). While the results of the AA genotype and A allele showed a corrected non-significant increased percentage in the PCOS group compared to the control group (28.0% vs. 14.0%, OR: 2.39, pc: 0.091 and 52.0% vs. 44.0%, OR: 1.38, pc: 0.260). In addition, another genetic variation appeared with the results of CYP19A1 rs2414096 sequencing, the results of CYP19A1 rs2414097 showed a corrected non-significant increased percentage of the GG genotypes and G allele in the PCOS group compared to the control group (20.0% vs. 8.0%, OR: 2.88, pc: 0.091; 42.0% vs. 35.0%, OR: 1.34, pc: 0.312, respectively). While the results of the GA, AA genotypes and A allele showed a corrected non-significant decreased percentage in the PCOS group compared to the control group (44.0% vs. 54.0%, OR: 0.67, pc: 0.322; 36.0% vs. 38.0%, OR: 0.92, pc: 0.839 and 58.0% vs. 65.0%, OR: 0.47, pc: 0.312, respectively). We can conclude from the current results that the levels of RBG, HbA1c, insulin resistant, LH, FSH, testosterone, estradiol, progesterone, T3 and leptin hormone were significantly increased in the PCOS patients' group compared to the healthy subjects, while a significant decrease appeared in the PCOS patients' group for the level of HDL. In addition, there was no genetic variations appeared for the CYP11A1 gene rs700519 in both groups. While for CYP19A1 gene, the percentages of AA/A genotype/ allele for rs2414096 and GG/G genotype/ allele for rs2414097 were corrected non-significant increase in the PCOS patients' group compare to the control group.

May 2024, 97 Pages.

Keywords: PCOS, Polymorphism, leptin, CYP11A1, CYP19A1.

1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS), doğurganlık çağındaki kadınlarda görülen karmaşık, heterojen, multigenik bir hastalıktır. PKOS'lu kadınlardaki metabolik sendrom prevalansı aynı yaştaki bireylere göre daha yüksektir ve bu komplikasyonlar sonuçta ölümcül olabilen miyokardiyal iskemi veya enfarktüs ve akut koroner sendrom gibi kardiyovasküler bozukluklara yol açabilir. Kısırlığa ek olarak PKOS'lu kadınlarda anormal uterin kanama ve oligomenore gibi endometriyal kansere neden olabilecek jinekolojik problemlerin gelişme riski de yüksektir. Ayrıca bu kadınlarda anksiyete ve depresyon gibi psikolojik rahatsızlıklara yakalanma riski de vardır (1).

PKOS'un kesin mekanizması henüz tam olarak anlaşılammakla birlikte; genetik, çevresel, beslenme, metabolik ve diğer etkileşimlerden oluşan risk faktörleri vardır. Polikistik over sendromu çoğu zaman genetikdir ve yaşamın başlangıcında başlar (2). Polikistik over sendromu insan evrimi boyunca devam eden eski hastalıklardan biridir. Bazı araştırmalar Antimülleryen Hormon (AMH)'un küçük yumurtaların granüloza hücrelerinden salgılanan bir hormon olduğunu da kanıtlamıştır. Ultrasonla dahi görülemeyen küçük hücrelerden salgılandığı için yumurtalık rezervi hakkında bilgi veren çok önemli bir test kullanılarak değerlendirilmektedir. PKOS'lu kadınlarda AMH normal seviyeye göre 2-3 kat daha yüksektir ve bu yüksek AMH düzeyi kısırlığın ve PKOS'un önemli bir göstergesidir (3). Polikistik over sendromlu kadınlar hamilelik sırasında düşük, erken doğum, intrauterin ölüm veya ölü doğum gibi çeşitli durumlardan muzdariptir (3). Bu sendroma sahip kadınlar aynı zamanda insülin direnci geliştirme, kan lipitleri düzeyindeki dengesizlik, bozulmuş glikoz toleransı ve tip 2 diyabet riskinde de görülen çok yaygın ve önemli artıştan dolayı dikkate alınmaktadır. Bu sendromun prevalansı üreme çağındaki kadınlarda %4 ila %20 arasında değişmektedir (1). PKOS alanındaki araştırmalar hızla ilerlediği için araştırma kanıtlarının kadınlar ve sağlık profesyonelleri arasında bilgi ve eyleme dönüştürülmesi önemlidir. Daha da önemlisi, son araştırmadaki

kadınların %70'ine teşhis konulamamış, PKOS'un kadınların %6'sını menopoza girmemiş kadınların ise %20'sini etkilediği bulunmuştur (4).

Polikistik over sendromlu kadınlar kilo alımından da muzdariptir ve bu nedenle kilo alımı, obez kadınların %28'ini ve zayıf kadınların %5'ini etkilediği için sendromun fenotipinin kötüleşmesine yol açar. Fenotipin kötüleşmesini azaltmak için diyet değişiklikleri ile kilo kaybı, fiziksel aktivite ve zihinsel sağlık gibi yaşam tarzı müdahalelerine ek olarak bazı durumlarda tıbbi veya cerrahi müdahaleler gerekir (5).

PKOS çoklu fenotipleri olan heterojen bir hastalık olmasına rağmen klasik olarak hiperandrojenizm ve oligoanovulasyon ile karakterizedir. Üreme çağındaki kadınları etkileyen karmaşık bir hormonal durumdur. PKOS'lu kadınlarda luteinize edici hormon olarak bilinen hormonun seviyesi yüksek iken yumurtlamadan sorumlu olan ve folikül uyarıcı hormon olarak bilinen hormonun (ergenlik gelişimi ve kadının yumurtalıklarının işlevi için gerekli olan bir hormon) seviyesi düşüktür. Hiperandrojenizm en belirgin semptomlardan biri olduğundan, polikistik over sendromlu kadınlar aynı zamanda östrojen üretimindeki eksiklikten ve androjen fazlalığından da muzdariptir. Bu hormonal dengesizlikler nedeniyle polikistik over sendromlu kadınlar sıklıkla düzensiz yumurtlama ve düzensiz adet döngüsünden muzdariptir. Polikistik over sendromlu hastalarda incelenen klinik bulgulara bakıldığında yumurtalık yüzeyinde küçük kistlerin oluştuğu görülmektedir (6).

PKOS'un etiyolojisi hala tam olarak anlaşılammıştır; çeşitli çalışmalar, bu sendromun temel klinik özelliklerinden biri olan yumurtalık hiperandrojenizminin eşlik ettiği karmaşık, poligenik bir hastalık olduğunu göstermektedir (6). Polikistik over sendromunun nedeni olabilecek birçok biyokimyasal yol tanımlanmıştır. Steroid hormonlarının biyosentezinde, metabolizmada, üreme ve gonadal hormonların eyleminde, obezite ve enerjinin düzenlenmesinde, insülin salgılanmasında ve eyleminde ve diğer birçok gende yer alan genler dahil olmak üzere bu yollar için birçok gen test edilmiştir (1).

Polikistik over sendromuna neden olan genlerdeki polimorfizmlerin önemini gösteren kanıtlar ve kimyasal, biyolojik ve genetik yolları ele alan çalışmaların eksikliği ışığında, polikistik over sendromuna neden olan yaş, seks hormonlarının düzeyi ve

polimorfizmlerin araştırılması da dahil olmak üzere polikistik over sendromuna yönelik bazı faktörlerin etkisini ortaya çıkarmayı amaçlayan bu çalışma gerçekleştirilmiştir. PCR teknolojisi kullanılarak polikistik over sendromuna sahip olan Iraklı kadınlarda CYP11A1 ve CYP19A1 genlerinin genetiğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Genel olarak kadınlarda görülen polikistik over sendromunun (PKOS), vücutta karmaşık bir şekilde ortaya çıkan, genetik faktörler ve çevresel faktörlerden kaynaklanan spesifik bir durum olması mümkündür (6). Hong ve arkadaşlarına göre (2021), herhangi bir dişinin yumurtalığında, polikistik over (PKOM) olarak adlandırılan “PKOS” tanısının konulmasında kullanılan çok sayıda özelliğın bulunduğunu ve tanısının da adet anormallikleri ve Hiperandrojenizm (HA) gibi kadının başına gelenler nedeniyle şüphelenilip konulduğunu belirtmektedir. “PKOS” tanısı öncelikle kadınlarda ortaya çıkan kısırlık, ardından diyabet tanısı, daha sonra yüksek tansiyon, kadınlarda obezitenin yanı sıra dislipidemi, obstrüktif uyku apnesi gibi durumlar ile teşhis edilir. Bu belirtilerin genel olarak "PKOS"tan etkilenen kadınlarda ortaya çıkma olasılığı daha yüksek olabilir (7, 8).

Son yıllarda, "PKOS"lu kadınlarda metabolik sendrom olarak adlandırılan hastalığın prevalansında, yaş arttıkça bir şekilde eşleştirilebilecek birçok kontrolle karşılaştırıldığında, kadınlarda on bir kata kadar önemli bir artış olmuştur. Bazen ise ölüme neden olabilen enfarktüs gibi kardiyovasküler hastalıklara sahip olabilirler (9). PKOS'lu kadınlar, bazen kısırlık, bazen oligomenore, bazen de rahim kanaması gibi birçok jinekolojik hastalık gibi birçok komplikasyonla karşı karşıya kalır. Ayrıca PKOS, rahim kanseri veya endometrium kanserine yol açabilecek birçok etkiye de yol açabilmektedir (10). Kaygı ve yeme bozuklukları gibi pek çok psikolojik semptom ve bozukluğun yanı sıra sıklıkla “HA”nın neden olabileceği, örneğın erkek vücut oluşumu veya hirsutizm görülebilir (11, 12).

Pundir ve arkadaşları (2020), kadınlarda “PKOS” prevalansının yüzde dört ila yirmi arasında değışen bir oranda dalgalanabildiğini belirtmektedir. Kadınlarda “PKOS”, çevresel faktörler ve genetik farklılık olarak adlandırılan faktörler de dahil olmak üzere birçok faktörden etkilenmektedir (13).

Yapılan çalışmalar, yumurtlama sorunu yaşayan PKOS'lu kadınlarda PKOS'un kısırlığa neden faktörlerden biri olarak kabul edildiğini göstermiştir. Aynı zamanda, düzensiz adet döngüsüne sahip "PKOS"lu kadınlar için en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. PKOS'lu bazı kadınlarda adet dönemleri düzenli olabilmektedir (14).

Chen ve arkadaşlarına göre (2021), "PKOS" genellikle kadın hormonal dengesizliği ile karakterize edilir, ancak kronik bir formdadır ve en belirgin olanı testosteron adı verilen bir hormonun seviyelerindeki artıştır. İnfertil kadınlar sıklıkla oldukça büyük bir HA olarak tanımlanan bir problemten ve anovülasyona ek olarak yumurtalık içinde yüksek oranda anormalliklerden dolayı "PKOS"tan muzdarip olabilirler. Bu her ikisinin de kısırlık olasılığının artmasıyla güçlü bir ilişkiye sahip olduğu belirtilmiştir (15,16). Aynı zamanda, öyle ya da böyle, "PKOS"lu kadınların hamilelik sırasında kadınları etkileyebilecek çeşitli komplikasyonlarla karşılaşma olasılıklarının daha yüksek olduğu görünmekte ve bu komplikasyonlar aynı zamanda erken doğum, rahimde ölüm, ölü fetüsün doğuşu ve bazen de düşük gibi bazı semptomları da içerir (3, 17).

2.2. Polikistik Over Sendromunun Epidemiyolojisi

Son yıllarda yaygınlaşan ve kadınları etkileyen önemli sorunlardan biri olarak kabul edilen "PKOS" aynı zamanda kişiye özel olabilen birçok klinik bulguyla da karakterize edilmektedir (18).

"PKOS" terimi, vücudun geri bildirimini gerçekleştirdiği mekanizmada herhangi bir tür kusur bulunduğundan, biyokimyasal düzeyde ve klinik düzeyde geniş bir aralıkta farklılıklar gösteren çeşitli bir hastalık grubunu ifade eder. Yumurtalık fonksiyonlarında meydana gelen dengesizlik ile yumurtalıklarda meydana gelen veya diğer endokrin bezlerine ek olarak endokrin sendromu olarak adlandırılan hastalık arasında güçlü bir ilişki olduğu için çok uzun bir süre devam etmesi nedeniyle kronik anovülasyonun ana nedeni olarak kabul edilmektedir (19, 20).

2.3. Polikistik Over Sendromunun Nedenleri

Çevresel faktörler, genetik, beslenme alışkanlıkları, uygunsuz yaşam tarzı, kanserojen koruyucular içeren kişisel bakım ürünlerinin kullanımı, aile öyküsü, inflamatuvar değişkenler, değişen steroidogenez, obezite gibi "PKOS"a yol açabilecek birçok neden vardır (21). Diş macununun içerdiği antibakteriyel bir madde olan triklosanın hormon

bozucu aktivitesinin "PKOS"un nedeni olduğunu ima eden çok sayıda yayın bulunmaktadır (22). "PKOS"un gelişimi kimyasal maruziyetlerle bağlantılıdır (23).

Toplumda her zaman doğurganlık çağındakiler de dahil olmak üzere on kadından birinde bulunması olasıdır ve bazı bilim insanları bunun beş kadından birinde olduğunu, diğer bir deyişle "PKOS" görülme sıklığının yüzde altı ila yirmi arasında değiştiği tahmin edilmektedir (24). Tahminler ayrıca "PKOS"un kalıtsallığının yüzde yetmişe ulaştığını, ilişkili genetik bölgelere bağlı olarak ortaya çıkan görülme sıklığının ise yüzde onlara ulaştığını göstermektedir. Öte yandan tahminler, planlama olarak adlandırılan, rahim ortamında meydana gelen hormonal dengesizliğin patogenezindeki epigenetik ve gelişimsel değişikliklerin "PKOS" gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğini de göstermektedir (25, 26).

Oksidatif stres metilasyonu adı verilen ve DNA'yı etkileyen bir hastalık ve ayrıca bilim adamlarının hayvanlar üzerinde kanıtlamak için yaptığı kan damarlarını etkileyebilecek genetik hastalıklar (27) gibi epigenetik olarak adlandırılan modifikasyonların yanı sıra (28), kız çocukların obeziteye ve metabolik hastalıklara duyarlılığının etkisini incelemek için dünya çapında yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (29, 30). Genel olarak kanıtlar, fetüsün yaşamı boyunca bir kadında meydana gelen birçok epigenetik değişikliğe işaret edebilir ve bazen "PKOS" için ortaya çıkabilecek gelişimsel kökenlerde de ortaya çıkabilir ayrıca fetal duyarlılığın hesaplanması için kritik bir zaman aralığının varlığı ve genellikle vücutta oluşabilen erken gebelikten orta gebeliğe kadar olan dönemde başlayabilir (31).

Birçok araştırmacı ayrıca, genomun belirli bir seviyesindeki DNA ile spesifik olarak ilgili özellikleri belirlemek ve ardından yumurtalık dokusu olarak adlandırılan bir işlemi gerçekleştiren ribonükleik asit (RNA) dizisini belirlemek için de hayvanlar üzerinde, özellikle de fareler üzerinde çalışmıştır. Üçüncü nesle kadar, "PKOS"lu farelerde belirlenenlere ek olarak, kendi metilasyonları sayılan kalıpları belirlenmiştir. Bu araştırmalar ayrıca "PKOS" özelliklerinin nesiller boyunca aktarımının, DNA metilasyonu içinde meydana gelen değişen ortam yoluyla kesin olarak gerçekleştiğini göstermektedir. Metilom adı verilen belirteçlerin kullanımı, bu sendrom için potansiyel bir tanı belirteci olarak önerilmiştir (32).

Hayvan modelleri, "PKOS"ta kalıcı olarak ortaya çıkan ve ona benzeyebilen ve aşırı salgılanma ile karakterize edilen fenotiplerin çoğunu uyararak "PKOS"lu kadınlarda ortaya çıkan klinik çalışmalar için doğum öncesi testosteron tedavisinin desteklenmesine yol açan bir süreci de gerçekleştirir. Luteinize edici hormon adı verilen hormon, kadınlarda glikozda zayıf bir dengeye veya insülinde zayıflığa ek olarak steroidlere, HA'ya ve yumurtlama fonksiyon bozukluğuna karşı olumsuz reaksiyonlarda önemli bir azalmaya neden olur. Bu çalışmalar genellikle insanlarda gelişim sırasında gelişimsel programlamanın ne zaman gerçekleştiğine, plasental fonksiyonun anne ve fetüs arasında doğal olarak oluşan ilişkiyi fetüs içinde meydana gelen büyümeyi etkilemek için nasıl değiştirdiğine ve ne zaman büyük ilerlemeler gerçekleştiğine ilişkin kapsamlı bir genel bakış sağlar. Gebelikte ortaya çıkan birçok komplikasyon olasılığını ortadan kaldırmak için "PKOS"lu kadınların endokrin, metabolik veya her iki sağlığının iyileştirilmesi, aynı zamanda nesiller arası "PKOS" ve bununla ilişkili olabilecek metabolik anormalliklere maruziyeti azaltma potansiyeline de sahip olabilir (33).

Çevresel değişkenlerin yanı sıra genom, kompleks ve epigenom arasında meydana gelen birçok komplikasyon ve etkileşimin olması da mümkündür. Bunların üzerinde çalışılması gerekmektedir ve her bir bileşenin etkisini ayırmak ve daha sonra nesiller boyunca, özellikle de insanlar için izlemek zordur (34).

Epigenetik denilen çalışmaların yanı sıra "PKOS"un genetik doğasını deşifre etmeye yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Bunlara ek olarak, "PKOS"un önemli klinik yönleri ile GWAS tarafından tanımlanan değişkenler arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır (35, 36). "PKOS" lokusunu GWAS aracılığıyla analiz etmenin amacı, tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) bir şekilde "PKOS" etiyojisi riskini etkileyebileceği mekanizmaya ilişkin kapsamlı bir anlayış sağlamaktır. DENND1A genleri ve TOX3 genlerinin yanı sıra LHCGR tipi, AMH tipi, AMHR2 tipi, THADA tipi genler ve son olarak INSR tipi genler olmak üzere "PKOS"a yatkın çok sayıda genin sahip olduğu düşünülen genlerin en önemli tipleridir. Androjen düzensizliği ve gonadlardaki genetik farklılıklara ek olarak insülin direncinin ne zaman ortaya çıktığı da dahil olmak üzere daha önce bahsedilen genlerdeki genetik farklılıklara ve "PKOS"un patogenezinin neden olan metabolik bozukluklarla ilişkili yollara da katkıda bulunabilir (35, 36, 37).

"PKOS"un temel bir sendrom olduğuna dair çok sayıda kanıt vardır ve obezite ve diyabet gibi klinik olarak ortaya çıkan semptomlarda genetik çeşitliliğin izleri görülebilir (37, 38). "PKOS"lu kadınlarda HOXA-10 ve HOX-11 genlerindeki değişikliklerin ortaya çıkması, rahim iç zarında oluşan alımı etkilemekte ve implantasyon başarısızlığı ile birlikte kısırlık riskine yol açabilmektedir (39). Son çalışmalar, FSHR geninin polimorfizmlerinin "PKOS" ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir (40).

2.4. Polikistik Over Sendromunun Belirtileri

"PKOS" hormonlarda meydana gelen bir dengesizliktir ancak aşırıdır ve kadınlarda erkeklik hormonlarının seviyeleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Kadınlarda ortaya çıkan erkekliğe benzeyen dış belirtilere ek olarak, hirsutizm gibi, kellik görünümü veya her ikisinin birlikte olması, klitoral genişleme veya obezite gibi durumlar ortaya çıkabilir. Yağlı cilt, sivilce, kalın ses veya hepsi birlikte görülebilir. PKOS'lu kadınlarda sık görülen semptomlar arasında düzensiz âdet kanaması veya bazen ağır kanama veya saç uzaması, bazen de erkek tipi kellik veya koyu cilt lekeleri oluşabilmektedir (41, 42, 43).

"PKOS", bundan muzdarip kadınlarda adet döngüsünü bozar, daha az adet görmelerine, daha sık saç büyümesine ve sıklıkla kilo almalarına neden olur. Bazen doğurganlığı ve diğer birçok sağlık durumunu da etkileyebilir; bunlardan en önemlisi ortaya çıkan kısırlıktır. Genel olarak kadınlarda, bir kadın düzenli olarak yumurtlayamadığında, genellikle obezite ve "PKOS"un bir kombinasyonu olan metabolik sendroma ek olarak yüksek tansiyona ek olarak yüksek kan şekeri riskinde artışa yol açar ve düşük HDL "iyi" kolesterol ve yüksek "kötü" LDL kolesterole neden olur. Ayrıca felç ve uyku apnesi riskini artırır (41, 42, 43).

2.5. Polikistik Over Sendromunda Biyokimyasal Yollar

Bunun nedeni, polikistik over sendromunun poligenik bir durum olmasıdır; bu, çok çeşitli genleri içeren çok sayıda biyokimyasal yolun keşfedildiği anlamına gelir. Önemli sayıda çalışma, "PKOS" hastası kadınların androjen ve yumurtlama yollarının bozulduğunu, bunun da hiperandrojenizm ve yumurtlama yetmezliğine yol açtığını göstermiştir. "PKOS" ile ilişkili biyokimyasal yollardan bazıları arasında insülin sekresyonu (örneğin INSR, IRS-1 ve INS), kronik inflamasyon (örneğin, TNF- α ve IL-6), kademeli pıhtılaşma ve kompleman (örneğin, VWF), sinyal verme (örneğin, AMH, LHCGR, INS

ve ADIPOQ), kanser (örneğin, MMP, AR1 ve INS) ve steroidogenez (örneğin, CYP11A1, CYP17A1 ve CYP19A1) yolları bulunmaktadır (44, 45).

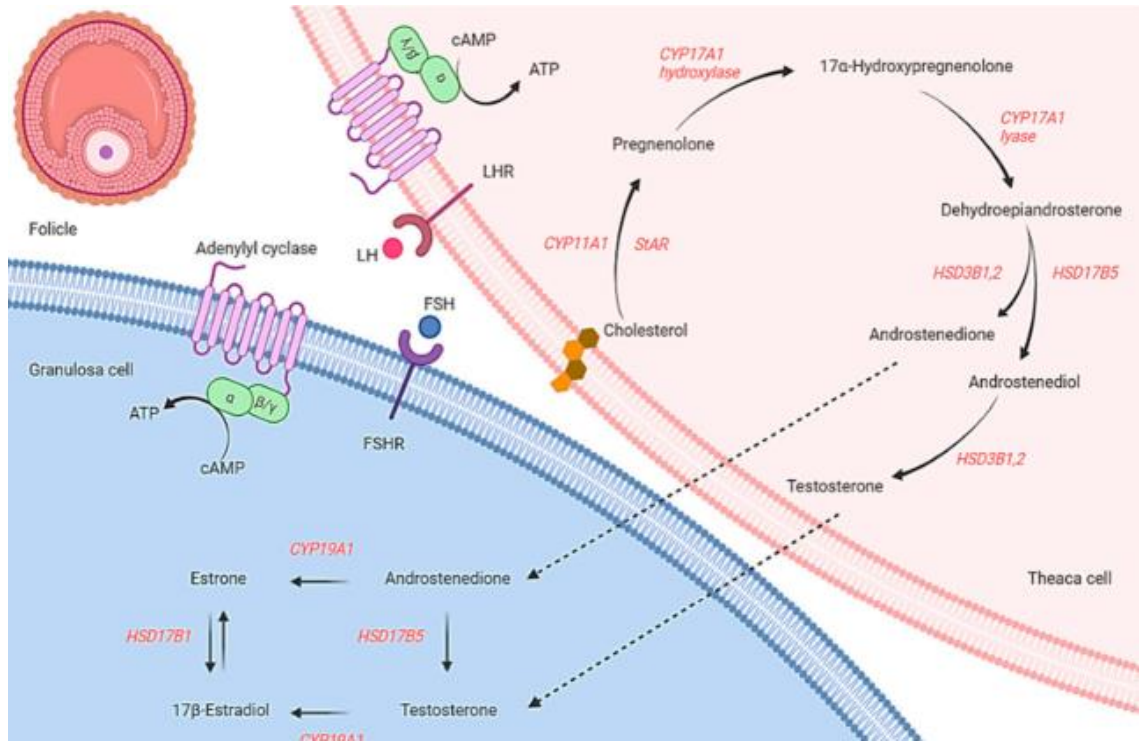
2.6. Polikistik Over Sendromu ile İlişkili Farklılıklar

Steroidogenez süreci, steroidojenik spesifik dokularda gerçekleşen ve belirli steroidojenik enzimlerin denetimi altında çalışan sıralı bir süreçtir. Bu süreç kolesterolü biyoaktif kimyasallara dönüştürür. Steroidojenik uzmanlaşmış organların iki örneği adrenal korteks ve yumurtalıktır. Bu organlar kadınlarda çok çeşitli üreme, endokrin ve metabolik fonksiyonları düzenleyen hormonların üretiminden ve doğurganlığın korunmasından sorumludur. Bunun bir sonucu olarak, steroidogenez sürecindeki bir bozulma, biri polikistik meme sendromu olan bir dizi farklı hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla bu hastalıkları anlamak, "PKOS" hastası kadınlarda kısırlığın tedavisinde ilerlemelere yol açabilecek hayati bilgiler sağlayabilir. Steroidojenik enzimler olarak bilinen enzimler, mineralokortikoidler, progesterinler, androjenler, östrojen ve glukokortikoidler gibi steroid hormonlarının biyosentezinden sorumludur (46). Steroid redüktazlar, hidroksteroid dehidrojenazlar (HSD'ler) ve spesifik sitokrom P450 enzimleri (CYP'ler) bu süreçten sorumlu olan enzimlerdir (46).

Yumurtalıktaki steroidogenez süreci kolesterolün değişmesiyle başlar ve ardından sırasıyla progesterin, androjen ve östrojen üretimine doğru ilerler. Bu hormonların tümü, steroid hormonlarının sentezini içeren sonraki adımlar için gereklidir. Bu hormonların daha sonra kan dolaşımına verilmesi, bunların hem periferik sinir sistemi (PNS) hem de merkezi sinir sistemi (CNS) üzerindeki etkilerini göstermelerine olanak tanır (47). McGee (2000) analizine göre dişi üreme dokularının bakımı, oositlerin olgunlaşmasının yanı sıra steroid hormonlarının üretilmesiyle de kolaylaştırılmaktadır. "CYP11A1", kolesterolün yumurtalıktaki pregnenolon'a dönüştürülmesinden sorumludur; bu, kolesterolün teka hücrelerindeki mitokondrinin iç katmanına bağlanmasıyla ortaya çıkar. Bu dönüşüm, luteinize edici hormonun (LH) etkisi altında gerçekleşir (33, 34).

Jaeger ve arkadaşlarına göre (2017), "CYP17A1" transkripsiyon faktörü, pregnenolonun 17 hidrokspregnenolona ve 17 hidrokspregnenolonun dehidroepiandrosterona (DHEA) dönüşümünden sorumludur (35). Bu süreç, LH reseptörlerini taşıyan teka hücrelerinde meydana gelen androjen birleşmesi sonucu meydana gelir. Genellikle FSH olarak bilinen folikül uyarıcı hormon, granüloza hücrelerinde bulunan "CYP19A1" aromatazın düzgün

çalışabilmesi ve östrojen oluşturabilmesi için gereklidir. Yumurtalık fonksiyonunun düzenlenmesi söz konusu olduğunda östrojenler önemli bir rol oynar. Şekil 2.1 yumurtalık steroidogenezi sürecinde yer alan etki mekanizmasını göstermektedir. Yumurtalıktaki bu steroidogenez yollarının anlaşılmasıyla, yumurtalık hücrelerinde özellikle hiperandrojenizm, ovulasyon ve doğurganlık ile ilgili sinyalleşme sürecini düzenleyen temel moleküler düzenleyiciler hakkında önemli bilgiler elde etmek mümkün olabilir (1).



Şekil 2.1. Dişi yumurtalığında steroidogenez süreciyle ilgili genler.(Kırmızı renkler) CYP11A1 - sitokrom P450 11A1 (kolesterol yan zincir bölünme enzimi); FSH – folikül uyarıcı hormon. CYP19A1 - sitokrom P450 19A1 (aromataz) (1).

2.7 CYP Genleri ve İnfertilite ile Polikistik Over Sendromu

Birçok araştırmada “PKOS”lu kadınlarda görülebilen veya öne çıkan klinik semptomlardan birinin “HA” olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sendrom birbirinden farklı çeşitli fenotipler ve genetik varyantlarla ilişkili olabilir. Otto-Buczowska ve arkadaşlarına göre (2018), steroidogenez yolundaki bir enzimin eksikliğini içeren bu durumların, Steroidi oluşturan biyosentez adı verilen bir sürece katılabilecek enzimleri kodlamak için sorumlu "CYP" genlerinin alt gruplarından biri olan "PKOS" tanısı olarak

kabul edilmesi mümkündür. Bu nedenle bu genler üzerindeki araştırmalar çoğunlukla "CYP19A1", "CYP17A1" ve "CYP11A1" varyasyonlarına odaklanmıştır (47, 48, 49).

"CYP19A1" geni, sitokrom P450 adı verilen spesifik bir enzimin üretiminden sorumlu bir gen olarak kabul edilir. Yağ sentezi, steroid sentezi ve kolesterol sentezinde önemli bir rol oynamanın yanı sıra sitokrom P450 ailesine ait enzimler de ilaç metabolizmasına katılır. Sitokrom P450 proteini endoplazmik retikulumda bulunur ve katalitik aktivitesi, steroid biyosentezinin ilerlemesinde kullanılan son aşamadır. Ayrıca kadınlarda meydana gelen bir mutasyon sonucu aromataz aktivitesinde bazen azalma bazen de artış görülebilir. Ayrıca malformasyonlarla bir şekilde ilişkili olabilecek fenotipleri de tespit edebilir; çünkü östrojen, bir seks steroidi hormonu görevi görmeyen yanı sıra, farklılaşma ve büyüme süreçlerinde şu veya bu şekilde büyük ve ikili bir role sahiptir (49).

Sitokrom P450 proteini olarak adlandırılan proteinin kodlanmasından sorumlu olan "CYP17A1" geni, vücutta bir dizi farklı sürecin uyarılmasından sorumludur. Bu etkileşimler ayrıca, öyle ya da böyle, progesterinlerin oluşumunu, androjenlerin oluşumunu, glukokortikoidlerin oluşumunu, steroidlerin oluşumunu veya bunların hepsini içerir. Bu gen içindeki birkaç mutasyonun varlığı, önemli bir adrenal hiperplazi gelişimi ile ilişkilendirilmiştir ve psödohermafroditizm gelişebilir veya 17 alfa hidroksilazdaki bir eksikliğe ek olarak 17,20 liyazda bir eksikliğin gelişmesine yol açabilir (50).

Wang ve arkadaşlarına (2020) göre sitokrom P450 ailesinin bir üyesi olan "CYP11A1" geni, iç mitokondriyal membranda yer alan bir proteindir. Bu protein, steroid hormonlarının üretimindeki ilk adımı ve kolesterolün pregnenolon'a dönüştürülmesini katalize etmekten sorumludur (51).

2.7.1.CYP11A1 Geni

Sitokrom P450 süper ailesinin üyesi olan bir enzim alt grubu olan "CYP11A1" geni, 15q24.1 kromozomunda bulunabilir. Bu nedenle, bu monooksijenazların mitokondrinin iç zarındaki ifadesi, steroidlerin, kolesterolün oluşumunda ve tıbbi maddelerin metabolizmasında yer alan reaksiyonlarda önemli bir rol oynar. En önemli işlevlerden biri, steroid hormon sentezi sürecinin başlangıç ve düzenleyici aşaması olan kolesterolün

pregnenolona katalizlenmesidir. Ek olarak, bu genin varyasyonlarının iki transkripti, A ve B olarak adlandırılan iki izoformun kodlanmasından sorumludur (51).

"CYP11A1" geninin ekspresyonu, yumurtalıklar, böbrekler, göğüsler, testisler ve mesane dahil olmak üzere hepsi çeşitli hastalıklarla ilişkili olan birçok organ ve dokuda bulunabilir. Gharani ve ark. (1997), Birleşik Krallık'taki bir topluluktan "CYP11A1" geninde artan "PKOS" ve kısırlık riskiyle ilişkili polimorfizmlerin olup olmadığını araştırmayı amaçlamıştır. "CYP11A1" 5'UTR dizi stabilitesinin, özellikle hiperandrojenemi gelişiminde "PKOS" genişlemesinin lokusu olarak genin düzenlenmesi üzerindeki etkisinin ek bir doğrulaması, yirmi aileyi kapsayan bu vaka kontrol çalışmasıyla elde edilmiştir. "PKOS" ve "CYP11A1" geni arasında bir bağlantı tanımlayan ilk araştırmacılar onlar olmuştur (52,53). Androjen metabolizmasında ve kolesterol yan zincirlerinin kırılmasında görev alan enzimlerin aktivitesi söz konusu olduğunda "CYP11A1" geninin fonksiyonu kesinlikle önemlidir. "CYP11A1" 5'UTR'nin pentannükleotid (TTTTA) tekrar bölgesindeki polimorfizmlerin, "PKOS" olan kadınlarda yüksek düzeyde total serum testosteronu ile güçlü bir bağlantıya sahip olduğu bulunmuştur (53, 54)

Hiperandrojenemili "PKOS"ta "CYP11A1" alellerinin etkisini değerlendirmek amacıyla Yunan toplumunda bir çalışma yapılmıştır. Çalışmaya 80'i "PKOS" hastası ve 90'ı düzenli adet döngüsüne sahip (35 günden az) sağlıklı Yunan kadınları olmak üzere toplam 170 kadın katılmıştır. Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi Birinci Tıp Bölümü Endokrin Bölümü'nün bir parçası olan Laiko Atina Genel Hastanesi, seçilen tüm kadınların önceki üç yıl boyunca sırayla kayıt yaptırdığı yerdir. Araştırmada araştırmacılar, "PKOS" hastası Yunan kadınlarda ve etnik kontrollerde CYP11A1 (TTTTA)n mikrosatellit (-528 çift) alellerindeki değişiklikleri araştırmışlardır. Çalışmanın bulguları, alel ile "PKOS" hastalarının yaşadığı hiperandrojeneminin derecesi arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur (55, 56). Ayrıca Hintli kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada 100 polikistik over sendromu vakası incelenmiştir. Pusalkar ve arkadaşlarına göre (2009) "CYP11A1" genindeki altı tekrarlı alellerin varlığının yüksek testosteron seviyeleriyle bağlantılı olduğu bulunmuştur (57). Zhang ve arkadaşları (2012), "CYP11A1" SNP rs4077582'nin "PKOS" duyarlılığı ile ne ölçüde ilişkili olduğunu belirlemek amacıyla bir polimorfizm çalışması yürütmüştür. "CYP11A1"deki rs4077582 mutasyonu ile "PKOS"a yatkınlık arasında anlamlı bir korelasyon olduğu tespit

edilmiştir. Ayrıca "CYP11A1" nükleotidindeki bir değişikliğin androjen sentezinde artışa yol açtığı keşfedilmiştir. Bu etki, çeşitli genotiplerde testosteron seviyelerinin değişmesi gerçeğiyle doğrulanmıştır. Zhang ve ark. (2012), mRNA miktarının "CYP11A1" promoterinin artan aktivitesinin bir sonucu olduğunu bulmuştur. Bu aktivitenin, mRNA örneğinin 5' çevrilmemiş bölgelerinin (UTR'ler) dizileri tarafından değişken şekilde kontrol edildiği bulunmuştur. Rs4077582 varyasyonunda 53 hasta ve 53 kontrolden oluşan polikistik over sendromlu Mısırlı kadınlardan oluşan bir popülasyon, diğerlerine çok benzeyen bir vaka çalışmasında analiz edilmiştir (57, 48, 58).

Bu araştırmanın sonuçları, polimorfizmin varlığı ve bunun "PKOS" ile ilişkisi konusunda olumlu destek sağlamıştır. "CYP11A1" promotörü üzerinde yapılan bazı çalışmaların bulgularına göre, granüloza hücrelerindeki promotör "CYP11A1" in düzenlenmesinden karaciğer reseptör homologu-1 (LRH-1) ve Steroidojenik element-1' in (SF-1) sorumlu olduğu ileri srlmştir (59).

Ayrıca bu teori, 1999 yılında yapılan ve SF-1' in silinmesinin P450scc kaybına yol açtığını gösteren bir çalışma ile de desteklenmiştir (60). CYP11A1" ile gonadotropinler arasındaki ilişki tam olarak açık değildir. Bunun nedeni, LH hormonundaki varyasyonların, ister artmış ister azalmış olsun, farklı rs4077582 genotipine sahip bireylerde steroid hormonlarının daha sonraki reaksiyonları üzerinde etkili olmasıdır. "CYP11A1" polimorfik pentanükleotid tekrarı, Hintli kadınlardan oluşan bir popülasyon üzerinde yürütülen bir çalışmada PCR-PAGE tekniği ile analiz edilmiştir. Çalışmada 275 sağlıklı kontrol ile "PKOS" tanısı konan 267 vaka karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları, polimorfizmlerin artan tekrarının "PKOS" riski için bir biyobelirteç olma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Hem kontrol grubunda hem de hasta grubunda nkslerin araştırılması bu çalışmanın ortaya çıkardığı en önemli belirteçlerden biridir. Demografik verilerin değerlendirilmesi, sekizden fazla tekrarlayan bireylerde yumurtalık "PKOS" belirtilerinin bulunduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu kopyalar en az ikiden en çok on altı olmak üzere her tekrarın sayısı ikiden on altıya kadar değişmektedir. Reddy ve arkadaşlarına göre (2014), kontrol grubunda sekizden az örnekten oluşan tekrarlamalar yaşanmıştır. Bu çalışmanın bulguları, Yunanistan'daki kadınlarda yürütülen bir çalışmanın bulgularıyla uyumlu bulunmuştur (52, 55).

"CYP11A1" yönlendiricisindeki genetik varyantların, gen ekspresyonunu önemli ölçüde etkileme potansiyeline sahip olduğu ve bunun da polikistik over sendromu gibi hormonal değişimlerle ilişkili bir bozukluğa yol açabileceği varsayımında bulunmak mümkündür. Son zamanlarda pentanükleotid nüksü insidansının polikistik over sendromu ile güçlü bir şekilde bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu, "PKOS" tanısı konan 128 Iraklı kadının katıldığı bir vaka kontrol çalışmasında keşfedilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Kafkas kadın popülasyonunda dokuz tekrardan oluşan pentanükleotidlerle karşılaştırıldığında, Çinli kadınlarda altı ve sekiz tekrar (61) ve İspanya'daki beyaz kadınlarda dört tekrardan (54, 61) karşılaştırıldığında, bu çalışmanın en önemli bulgusu Iraklı kadınlarda "CYP11A1" promotöründe beş ve üç tekrarın yaygınlığı olmuştur. Bu kadınlarda "CYP11A1"deki toplam tekrar sayısı sırasıyla %62 ve %79,7 olarak bildirilmiştir (62).

Bu noktaya kadar tartışılan araştırma kayıtlarının aksine, İspanyol kökenli beyaz kadınlar (63), Çinli kadınlar (64), Arjantinli kadınlar (65) ve Çek kadınları (53) iki değişken arasında herhangi bir anlamlı ilişki bildirmemişlerdir. Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz çalışması, geçmişte gözden geçirilen çalışmalardan bazılarını gözden geçirmiştir. Bu çalışmanın bulguları, bireylerde resesif bir özelliğin varlığı ile 4R-pentanükleotid tekrarlarının varlığı arasında güçlü bir ilişki olduğunu doğrulamıştır. Ancak 6R-p şirketleri, baskın özellik dikkate alındığında "PKOS" riskinin azaldığını doğrulamıştır (54).

Başka bir meta-analiz, beyaz kadın popülasyonunda "CYP11A1"deki polimorfizm tekrarları arasında yüksek bir ilişki olduğunu ortaya çıkarmıştır (66). Ayrıca, bazı çalışmalar bu tekrarlamalar ile testosteron seviyelerindeki artış veya azalma arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmaların birçoğunun bulguları, daha kısa aleller taşıyan bireylerin serumlarında daha yüksek testosteron düzeylerine sahip olduğunu göstermektedir (56).

Ancak diğer araştırmalarda (64, 67), polimorfizmlerdeki artan androjen değişiklikleri ile "CYP11A1" transkripsiyonundaki değişiklikler arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Bu durum tüm araştırma süreci boyunca böyle kalmıştır. Ek olarak, bu alellerdeki varyasyonun metabolik özellikler ve obezite (63), kan lipitlerinde düşüş, FSH seviyelerinde azalma ve belin kalçaya oranı ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (53). Ayrıca

düşük glikoz seviyeleri ile rs11632698 polimorfizmi arasında da anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (56) ve "PKOS" riskinin Çinli kadınlarda azalttığı gösterilmiştir. Ek olarak, düşük glikoz seviyeleri ile "PKOS" gelişimi ve ayrıca LH ve testosteron seviyelerindeki değişiklikler arasında bir korelasyon bulunmuştur (48).

2.7.1.1.CYP11A1 Yapısı

Bilim adamları mitokondriyal sitokrom CYP11A1'in, kolesterolün yan zincirini parçalamak için çalışan tek iyi bilinen enzim olduğunu düşünmektedir (68). Bu, tüm steroid hormonların öncüsü olan pregnenolon üretir. Pregnenolon, sıralı monooksijenazlar olan ve dihidrosikolesterolün yanı sıra kademeli olarak 22 R-hidroksikolesterol (22HC) ve 20 α , 22 R- üretmek için birlikte çalışan üç numaralı birkaç reaksiyonla oluşturulur ve ardından C20 bağında özel bir bölünme gerçekleştirir (68).

CYP11A1'in 2,5-Å kristal yapısı aynı zamanda 22HC adı verilen ilk reaksiyonun özel bir ara maddesi ile bir kompleks içinde de işlev görür. CYP11A1 tipindeki bir boşluğun içinde aktif olan bölgeye ait boşluk da uzun ve aynı şekilde kavisli bir tüp görevi görerek proteinin yüzeyinden çıktığında hem grubuna doğru uzanır ve buna katalitik alan denir. Genellikle 22HC adı verilen tür, boşluğun çoğunu, üçte ikisine kadar kaplar ve bilim adamlarının hemeye en yakın olduğunu düşündüğü 22 R-hidroksil adı verilen bir gruba ek olarak, aynı zamanda demirden uzak 2,56 Å'dur. Aynı zamanda aktif bölgenin girişinde bir şekilde bulunan 22HC adı verilen alanı da kaplar ve su ve yataktaki birçok iç molekülle dolu olduğu kabul edilir. Ağ aynı zamanda özel su moleküllerinin olduğu bir işlem de olarak tanınmakta ve 22HC 3 β -hidroksil adı verilen maddenin üzerinde bulunan "yumuşak" madde olarak da bilinmektedir. Bu model aynı zamanda 22HC tipinin, üç aşamalı reaksiyon sırasında aktif olduğu düşünülen bölgeye özgü bir giriş ile heme'ye özgü bir grup arasındaki sterol ara maddesi için özel bir mekik içindeki bir transfere bağlandığını da gösterebilir. Çözüm çalışmaları olarak adlandırılan çalışmalar yoluyla, alifatik kuyruğunun özel olarak burulma hareketi ile karakterize edilen harekete ek olarak, 22HC'nin öteleme doğası ile karakterize edilen bir özgürlük ile desteklenmektedir. Bileşik, CYP11A1-22HC'nin ortak bir çapraz bağlanmasını sağlar, enzimin katı substrat spesifikliğı ve yüksek katalitik verimliliğı için yapısal temel hakkında bilgi sağlar ve mitokondriyal P450'ler yoluyla redoks ortağı etkileşimlerinde yer alan korunmuş yapısal motifleri vurgular (68).

2.7.1.2.CYP11A1 Tanımı

Bilim adamları, CYP11A1'in testislere benzeyebilen glomerülün yanı sıra fasikül ve retinanın özel alanlarında adrenal korteks adı verilen klasik steroidojenik dokularda, yumurtalıkta ve plasentada sürekli olarak yüksek seviyelerde eksprese edildiğini kanıtlamışlardır. Bununla birlikte CYP11A1 ayrıca cilt, beyin, akciğer ve son olarak timusun yanı sıra tüm T lenfositleri de içeren çok çeşitli diğer dokularda daha düşük seviyelerde eksprese edilir (69, 70). CYP11A1'in Th2 ve Tc2 hücre farklılaşmasının ve tip 2 sitokin üretiminin kritik bir düzenleyicisi olarak işlev gördüğü gösterilmiştir (71, 50).

Kolesterol, CYP11A1'in ana ve en iyi karakterize edilen substratı olmasına rağmen, CYP11A1 ayrıca 7-dehidrokolesterol (7DHC), lumesterol, hidroksisteroller ve kamposterol gibi bitki ve mantar sterollerini dahil olmak üzere çok çeşitli steroller ve diğer sekosteroidler ve ergosterolün yanı sıra D2 ve D3 vitaminleri üzerinde de etki gösterir (72, 73).

2.7.2.CYP19A1 Geni

Sitokrom P450 ailesinin 19 alt ailesi tarafından kodlanan bir enzim olan aromataz, östrojen üretiminde önemli rol oynayan enzimlerden biridir. Bu enzimin üyelerinden biri olan "CYP19A1" geni, kromozom 15'in (15q21.2) kısa kolunda bulunabilir ve testisler, yumurtalıklar, yağ dokusu, kemik, plasenta ve beyin gibi bir dizi anahtar organda eksprese edilir. Yumurtalıklar kadınlarda aromatazın en aktif olduğu yerdir. Düşük östrojen düzeyi ve yüksek düzeyde androjen ile tanımlanan çeşitli aromataz eksiklikleri, "CYP19A1" genindeki mutasyonlarla ilişkilendirilmiştir (74).

Bu sendromlar östrojen eksikliği ile karakterizedir. Meme kanseri ve endometriozis gibi östrojen üretimini uyaran bozukluklar, promotörün düzensiz bir şekilde aktive edilmesiyle ortaya çıkabilir. Artan "PKOS" ve kısırlık riskiyle ilişkilendirilen "CYP19A1" genindeki bir polimorfizm bu araştırmanın odak noktasıdır. Yüksek düzeyde aromataz konsantrasyonu, 4 numaralı introndaki yüksek sayıda polimorfizmle, özellikle de yedi ile on üç arasında değişen sayıda tekrara sahip olanlarla ilişkilendirilmiştir. Xita ve arkadaşlarına göre (2008), "PKOS" foliküllerin kusurlu gelişiminin birikmesiyle

açıklanabilir. Bunun nedeni sırasıyla pozisyonel östrojen ve aromataz performansının azalan yoğunluklarıdır (75).

Gen üzerinde yapılan araştırmaya göre, "CYP19A1" geninin bir dizi farklı varyasyonu, kadınlarda üreme kanseri gelişme riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Sonuç olarak "CYP19A1" gen polimorfizmlerinin daha iyi araştırılabilmesi için ilave araştırmalar yapılabilir. Genindeki polimorfizmler, aromataz enzimine etki ederek onun aktivitesini etkileme potansiyeline sahiptir. Sonuç olarak, bu modifikasyonlardan elde edilen bulgular ve bunların folikülogenezin düzenlenmesi ve ovulasyonun uyarılması üzerindeki etkileri infertilite tedavisinde kullanılabilir. Ayrıca polimorfizm çalışmalarından elde edilen bulgular, cinsel yolla bulaşan hastalıklarda tüp bebek (IVF) tedavisine olumlu yanıt olasılığının tahmin edilmesine yardımcı olma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle düşük yapma tehlikesi azalır ve çocuk sahibi olma olasılığı artar (76).

2010 yılında Lee ve ark. Koreliler arasında "SNP'leri" aramak için bir tarama projesi yürütülmüştür. Araştırmanın bulguları literatürde bulunanlarla tutarlı bulunmuştur. Bu çalışma, elli normal vakadan "CYP19A1" geninin doğrudan dizilenmesini içermektedir. Ekzonlarda dört, intronlarda on, 5'-çevrilmemiş bölgelerde (UTR) altı ve 3'-UTR'de bir farklılık bulunmuştur. Toplamda 19 varyasyon bulunmuştur. Keşfedilen CYP19A1 "TTTA"n polimorfizmlerinin dağılımı şu şekildedir: En yaygın olduğu belirlenen alel (TTTA)7 (%66), bunu (TTTA)11 (%30)'u, sırasıyla (TTTA)12 (%3) ve (TTTA)13 (%1) takip etmektedir. İlk kez bir Kore popülasyonunda CYP19A1 genini yeniden sıralayıp bu varyantların östrojen yolunda çok önemli bir işleve sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu, bu aktivitenin ilk kez gerçekleştirildiği durumdur (77).

Çok sayıda araştırmanın bulgularına dayanarak, östrojen üretim oranındaki değişikliklerin potansiyel olarak meme, endometriyal ve prostat kanserleri de dahil olmak üzere östrojenle ilişkili bozuklukların gelişmesine yol açabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca kanser üzerine yapılan araştırmalar, "CYP19A1" in Çinli kadınlarda obezite ve kısırlığın gelişiminde de rol oynadığını göstermiştir (78).

2014 yılında, normal kabul edilen 225 Çinli kadın ile patolojik ve laparoskopik kriterlere göre endometriozise bağlı kısırlık tanısı konan 146 hastayı içeren bir vaka kontrol çalışması uygulamaya konulmuştur. Öte yandan, "CYP19A1" polimorfizminin AA genotipinin, popülasyonda yüksek endometriozis ve infertilite riski ile yüksek düzeyde

ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Bu, önceki çalışmanın bulgularıyla desteklenen bir bulgudur (79).

2011 yılında toplam 600 Yunan kadını üzerinde gerçekleştirilen vaka kontrol çalışmasının bulgularına göre, vaka grubuna gonadotropin uyarımı verilmiştir. Bu araştırma, "CYP19A1" in "TTTA" olarak bilinen polimorfizmi içerip içermediğini ve tedavi sonucunu nasıl etkilediğini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bulgular, bireylerde (TTTA)n polimorfizminin tekrarlaması ile FSH hormonu düzeyleri, folikül sayısı ve büyüklüğü arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (80).

Çin'de farklı bir etnik grupla ilgili başka bir çalışma daha yapılmıştır. X. Zhang ve meslektaşları tarafından yürütülen çalışmanın amacı, Çinli kadın popülasyonunda "rs2470152" polimorfizmi ile aromataz aktivitesi arasındaki bağlantıyı araştırmaktır. Araştırmaya toplam 661 kişi katılmıştır. Genotipleme araştırmasının bulgularına göre "rs2470152" polimorfizminin varlığı "PKOS" başlangıcıyla doğrudan ilişkili bulunmamıştır. Aromataz enzim aktivitesinin inhibisyonunun ise TC genotipine sahip kişilerde hiperandrojenizm ve "PKOS" riskini artırabildiği bulunmuştur (57, 81).

2012 yılında L. Lazaros ve meslektaşları tarafından gerçekleştirilen ek bir çalışmada, "CYP19A1" varyantının polikistik over sendromu tanısı alan hastalarda kısırlığın tedavisi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 322 Yunan kadınının katılımını içeren bu çalışmanın bulguları, "TTTA", "CYP19A1" polimorfizminde yedi tekrarın varlığı ve bunun gonadotropin tedavisinin uygulanmasını etkileme derecesi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (82).

Her ne kadar bu sonuçlar Xu ve arkadaşları (2013) tarafından sunulan sonuçlarla az çok çelişkili olsa da, beş yüz yirmi iki vaka ve kontrolde "CYP19A1" nin androjen deneyin oranının östrojen adı verilen başka bir hormona dönüştürülmesi etkisine ilişkin güçlü bir açıklamanın potansiyel olarak sağlanabileceğini bulmuşlardır. Çalışmalarında "CYP19A1" içindeki "TTTA" alelinin polimorfizmleri ile "PKOS" gelişme olasılığı arasında pozitif ya da negatif bir ilişki olup olmadığını incelemeyi amaçlamışlardır. Çalışmalarında ayrıca floresan DNA fragmanlarının bir şekilde "PCR" süreci ve 7, 8, 10, 11 ve 16 tekrar gibi farklı tekrarların test edilmesi sonucunda üretildiğini de bulmuşlardır. Ayrıca Çinli kadınlarda "TTTA" n oluşumu arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bulmuşlardır (83).

Aynı zamanda Çinli kadınlar üzerinde başka bir çalışma daha yapılmıştır. 293 kadından oluşan bu popülasyonun amacı, ART yöntemiyle tedavi edilen ve "PKOS" tanısı alan hastalarda rs700519, rs700518 ve rs727479 allellerinin etkisini incelemektir. Araştırmaya göre "PKOS" hastalarında bulgular, CGT ve CAT haplotiplerinin üreme sonuçları açısından olumlu olma eğiliminde olduğunu göstermektedir (84).

Bir vaka-kontrol çalışmasında İranlı kadınlar ve 140 kişi üzerinde rs2414096 CYP19A1 ile "PKOS" arasında bir bağlantı olup olmadığını belirlemek için başka bir polimorfizm çalışması yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, rs2414096 varyantının bireylerin "PKOS" geliştirme olasılığında önemli ölçüde rol oynadığını göstermiştir (85).

R. Kaur ve arkadaşları tarafından yürütülen bir vaka ve kontrol çalışmasında iki kontrol grubu arasında rs2414096 ve rs700519 adlı iki alel araştırılmıştır. 2018'de. Çalışma, Kuzey Hindistan toplumundan 500 kadının analizini içermektedir. Ayrıca ilgili kişilerin genotipinin araştırılması amacıyla PCR-RFLP tekniğinden faydalanılmıştır. Kaur ve arkadaşlarına göre (2018), araştırmanın bulguları çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı ortaya koymamıştır. Bu aleller diğer uluslardaki çeşitli etnik gruplarda araştırılmış ve bu çalışmaların sonuçları, araştırılan etnik köken ve coğrafyanın etkisini gösteren bir ilişkinin varlığını doğrulamıştır. Çin'in, Han Çinli kadınlarında menarş yaşı, FSH seviyeleri, artan östradiol/testosteron oranları (E2/T) ve sonuçta artan "PKOS" gelişme şansı ile önemli ölçüde ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır (46, 86, 87).

Bu argüman Yunanistan'daki Xita ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur (88). Anovulasyonun neden olduğu hormonal dengesizlik ve "PKOS" hastalarında meydana gelen kısırlık, östrojen üretiminin engellenmesindeki kayıpla bağlantılıdır. Ayrıca, artan östrojen seviyeleri ile hiperplazi gelişimi arasında anlamlı bir ilişki vardır ve bu da "PKOS"lu kadınlarda endometriyal kanser riskinin artmasına neden olur (89). Endometrial kanser dünya çapında en sık görülen dördüncü kanser türüdür ve aynı zamanda gelecek yıllarda varlıklı ülkelerde daha yaygın hale gelmesi beklenen kanserlerden biridir (90). Zhu ve arkadaşlarına (2020) göre polikistik over sendromu, diyabet ve obezite ile ilişkili riskler bu kanser için en önemli risk faktörleridir (91).

A. Ayyob ve meslektaşlarının Iraklı kadın nüfusu üzerine yaptıkları çalışma kavramsal olarak yaptıkları çalışmayla kıyaslanabilir niteliktedir. CYP19A1'de SNP'lerin varlığı ile endometrial kanser gelişimi arasında anlamlı bir ilişki olduğu bulunmuştur. 122 Iraklı

kadınla gerçekleştirilen bu çalışma, daha uzun ($n \geq 9$) tekrarlarla sahip alellerin varlığı ile endometriyum ve yumurtalık kanseri riski arasında güçlü bir korelasyon olduğunu ortaya çıkarmıştır. Araştırma Irak'ta yapılmıştır. (TTTA)n 12, (TTTA)n 11 ve (TTTA)n 9 tekrarlarının sırasıyla 1,56, 2,16 ve 1,56 olasılık oranlarına sahip olduğu ve kanser riskini iki katına çıkarma potansiyeli olduğu rapor edilmiştir (92).

2016 yılında gerçekleştirilen sistematik bir incelemenin bulgularına göre bu kanıt, bulgularla desteklenmektedir (93). Bilim adamları, polikistik over sendromu olan kadınlardan oluşan toplumda kısırılığın daha yaygın olması ile endometriyum kanseri riskinin artması arasında bir ilişki olabileceği görüşündedir. 2018-2019 yılları arasında Hindistan'ın kadın nüfusu üzerinde ek bir pilot çalışma yapılmış ve CYP19A1 sisteminde rs2470152 polimorfizmi dikkate alınmıştır. Üç yüz kişinin katılımını içeren bu araştırmanın bulguları, rs2470152 polimorfizminin varlığı ile polikistik over sendromuna yakalanma olasılığı arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir (94).

Mostafa ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışma da daha önceki bulgulara da destek vermektedir. Bu araştırma projesinin bir parçası olarak araştırmacılar, rs2414096'daki polimorfizm ile Mısırlı kadın popülasyonunda hiperandrojenizmin varlığı arasında bir korelasyon olup olmadığını araştırmışlardır. Bulgulara göre, polikistik over sendromuna sahip kadınlarda luteinizan hormonun folikül uyarıcı hormona oranı daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca rs2414096 polimorfizminin varlığının da "PKOS" olasılığı ile güçlü bir korelasyona sahip olduğu bulunmuştur (95).

Heidarzadehpilehrood ve arkadaşlarına göre (2022), "CYP19A1" in kısırılıkta rolü olan hassas bir gen olma ihtimali ve anormal transkriptlerin steroidogenez yollarının sıralı etkileşimlerini etkileme potansiyeli vardır. Bu etkileşimler, yoldaki diğer kusurlu genlerle birlikte, "PKOS" hastası kadınlarda kısırılığa katkıda bulunan bir faktör olabilir (1).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kan örneklerinin toplanması

Bu çalışma Irak, Maysan Provence, Amara Bölgesindeki Maysan Çocukluk ve Doğum Hastanesinin jinekoloji bölümünü ziyaret eden 100 kadın üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma grubu, bir uzman tarafından polikistik over sendromu tanısı konulan 18-40 yaş arası 50 kadın ve enfekte grup için aynı yaş grubundaki 50 sağlıklı kadından oluşmaktadır. Araştırmaya katılmayı kabul eden her katılımcıdan beyan alınarak Bağdat Üniversitesi Fen Fakültesi'nden CSEC/1223/0128 numarasıyla bilimsel araştırma etiği onayı alındı. Her iki çalışma grubu için de 5 mililitre venöz kan alındı. Kan örneği iki parçaya bölündü. İlk kısım, 3 mililitre, Jel tüplere konularak kan pıhtılaşmaya bırakıldı, daha sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj kullanılarak serumları ayrıldı ve serum -20 C° sıcaklıkta Eppendorf tüpünde testler yapılana kadar saklandı. Geriye kalan kısım (2 ml) EDTA tüpüne yerleştirildi ve örneklerden DNA ekstrakte edilinceye kadar -20 C°de saklandı. LH, FSH, testosteron, prolaktin, progesteron, estradiol, leptin gibi çeşitli cinsiyet hormon testleri ölçüldü; ayrıca lipid profili, kümülatif şeker, rastgele glukoz, insülin direncinin yanı sıra karaciğer ve böbrek fonksiyonları da iki çalışma grubunda ölçüldü.

3.1.2 Malzemeler

Çalışmada kullanılan malzemeler ve kitler Tablo 3.1. de gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan malzemeler ve kitler.

Kimyasallar	Şirket	Menşei
TAE reaktifi	Promega	USA
Etanol 96%	Scharlab	İspanya
Serbest nükleaz damıtılmış su	Promega	USA

Tablo 3.1.(devam): Çalışmada kullanılan malzemeler ve kitler.

Astarlar	Makrojen	Kore
Agaroz	Conda	USA
Boya yükleniyor	Intron	Kore
Evrensel DNA merdiveni	Intron	Kore
Kırmızı güvenli boya	Intron	Kore
Genomik DNA mini kiti	FavroHazırlık	Tayvan
LH, FSH, prolaktin, testosteron, progesteron, östradiol, T3, T4, İnsülin direnci ve TSH	Roche	Almanya
FBG, HbA1C, Lipid profili, böbrek fonksiyon testi, Karaciğer fonksiyon testi	Roche	Almanya
Leptin hormonu	Cloup-Clone Corp	USA

3.1.3. Ekipman

Çalışmada kullanılan ekipmanlar Tablo 3.2. gösterilmektedir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ekipman

Aletler	Şirket	Menşei
Kombi-spinli mikrosantrifüj	Biyosan	Letonya
Santrifüj	Hettich	Almanya
EDTA tüpü, jel tüpü	AFCO	Ürdün
ELISA sistemi (okuyucu, yıkayıcı ve yazıcı)	Biotek	İngiltere
Eppendorf tüpleri	Hermle	Almanya
mikropipet (0,5 µL ila 1000 mL) ve çok kanallı pipet	Laboratuvar ağı	USA
Nanodrop (Quantus TM florometre)	Promega	USA
Derin dondurucu (-20°C)	LGUEX	Almanya
Laboratuvar buzdolabı (4°C)	LG	Kore
İpuçları (mavi, sarı, beyaz)	AFCO	Ürdün
Hacimsel silindirler	Olimpos	Japonya
Volumetrik Şişeler	Olimpos	Japonya
Termal ısı döngüleyici	Laboratuvar ağı	USA

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Biyokimyasal testler

Tüm biyokimyasal testler (RBS, HbA1c, lipid profil testleri, böbrek fonksiyon testleri ve karaciğer fonksiyon testleri) Roche Cobas c111 otoanalizörü aracılığıyla otomatik olarak Tahmin edildi (şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Roche Cobas c111 otoanalizörü.

3.2 Hormonal testler

3.2.1. Cinsiyet hormonları, ve tiroid fonksiyon testleri

Seks hormonları (LH, FSH, prolaktin, testosteron, progesteron, östradiol, , T3, T4, TSH ve İnsülin direnç testi) Roche Cobas e411 otoanalizörü aracılığıyla otomatik olarak tahmin edildi (şekil3 – 2).



Şekil 3.2. Roche Cobas e411 otoanalizörü.

3.2.2. Leptin hormonu

Test prensibi

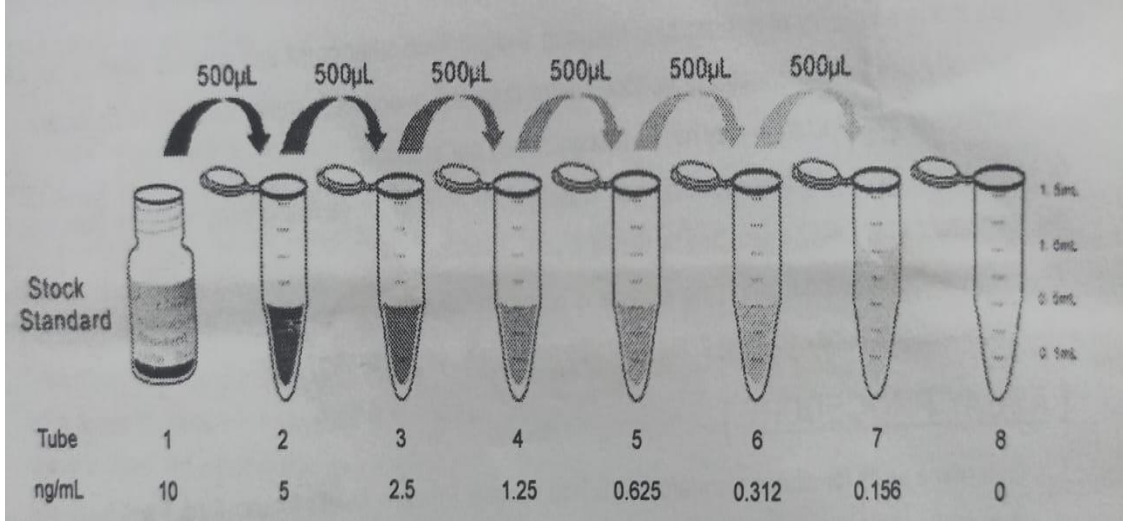
Kit içerisinde yer alan mikrolaka, leptin hormonuna özel antikor ile önceden kaplanmıştır. Uygun mikrolakaya eklenen standartlar ve numuneler, leptin'e özgü biyotin konjuge antikorla reaksiyona sokuldu, ardından her mikrolaka kuyusuna eklenen yaban turpu peroksidaz enzimine konjuge avidin eklendi. Bundan sonra TMB substrat çözeltisi ilave edildi. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırıldı ve renk değişimi, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Daha sonra numunelerdeki leptin seviyesi, numunelerin absorbansının standart eğriye göre karşılaştırılması yoluyla belirlendi.

Reaktif Hazırlama

1- Yıkama solüsyonu 20 ml yıkama solüsyonu konsantresi (30x) 580 ml deiyonize distile su ile seyreltilerek 1x konsantrasyonda 600 ml yıkama solüsyonu hazırlandı.

2- Standart toz, 1,0 ml standart seyreltici tamponla (stok çözelti olarak bilinir) sulandırılarak standart çözelti hazırlandı, daha sonra oda sıcaklığında 10 dakika karıştırıcıda bırakıldı. Standart konsantrasyon, 0.5 ml standart seyreltici tampon içeren 7 tüp hazırlanarak hazırlandı ve stok solüsyondan (19 ng/ml) 500 µl birinci tüpe aktarıldı, ardından içerik iyice karıştırıldıktan sonra 500 µl hacim birinci tüpe aktarıldı. 10 ng/ml,

ng/ml, 2,5 ng/ml, 1,25 ng/ml, 0,625 ng/ml, 0,312 ng/ml, 0,156 ng/ml konsantrasyonlarına sahip standart seyreltme serisini elde etmek için bir sonraki tüpe ve son tüpe standart seyreltici 0 ng/ml olarak kördü (şekil 3.3.)



Şekil 3.3. Standart seyreltme serisi.

Test Prosedürü

Her bir standart seyreltme ve numuneden

1-Avolum (100µl) uygun kuyucuklara yerleştirildi, daha sonra plaka plaka kapatıcı ile kapatıldı ve 37 °C'de 1 saat süreyle inkübe edildi.

2-Plak yıkanmadan her kuyucuğun sıvısı çıkarıldı.

3-A hacim (100 ul) tespit reaktifi Her bir kuyucuğa bir çalışma solüsyonu ilave edildi, daha sonra kuyucuklar plaka kapatıcıyla kapatıldı ve 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi.

4- Kuyucukların solüsyonu aspire edildi ve otomatik ELISA yıkayıcı ile her kuyucuk için 350 µl 1x yıkama solüsyonu ile yıkandı, plaka 3 kez yıkandı.

Her bir kuyucuğa 5-A hacim (100 ul) tespit reaktifi B çalışma solüsyonu ilave edildi, ardından kuyucuklar plaka kapatıcıyla kapatıldı ve 30 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi.

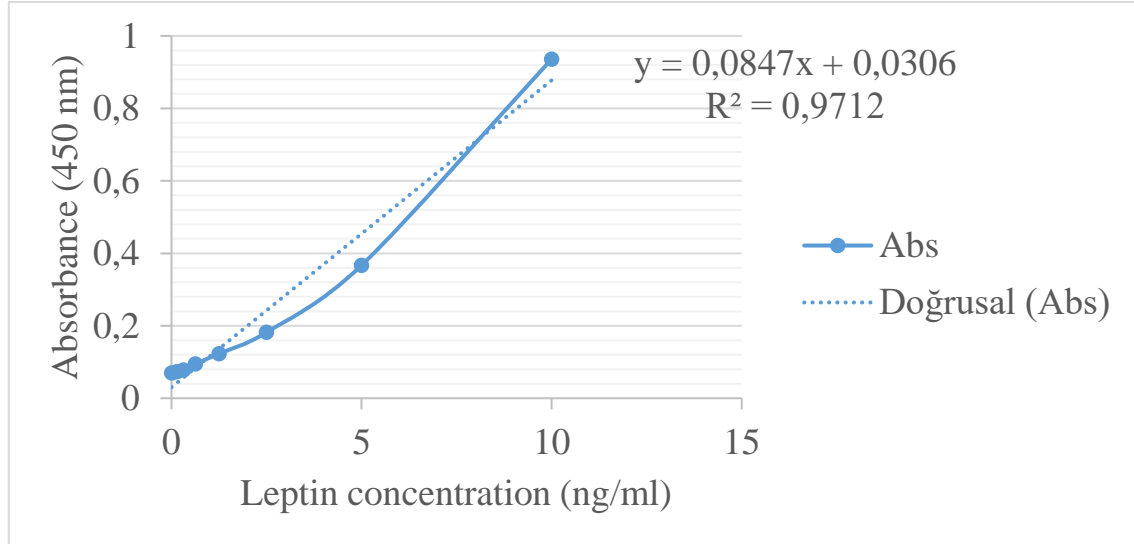
6- Aspirasyon ve yıkama işlemi 4. adımda yapıldığı gibi 5 kez tekrarlandı.

Her kuyucuğa 7-A hacim (90µl) substrat solüsyonu ilave edildi, ardından plaka yeni bir plaka kapatıcı ile kapatıldı ve ışıktan uzak, karanlık bir yerde 37°C'de 10-20 dakika süreyle inkübe edildi.

8- Her kuyucuğa bir hacim (50µl) stop solüsyonu eklendi.

9- Son olarak ELISA plakası mikrolaka ELISA okuyucusu tarafından 450 nm'de hemen okundu.

10- Her numunenin konsantrasyonu aşağıdaki standart eğri şeklindeki denkleme göre hesaplandı (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Leptin hormonunun standart eğri.

3.2.3. Moleküler çalışma

3.2.3.1. DNA izolasyonu

Test prosedürü

1-Avolum (100µl) uygun kuyucuklara yerleştirildi, daha sonra plaka plaka kapatıcı ile kapatıldı ve 37 °C'de 1 saat süreyle inkübe edildi.

2-Plak yıkanmadan her kuyucuğun sıvısı çıkarıldı.

3-A hacim (100 ul) tespit reaktifi Her bir kuyucuğa bir çalışma solüsyonu ilave edildi, daha sonra kuyucuklar plaka kapatıcıyla kapatıldı ve 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi.

4- Kuyucukların solüsyonu aspire edildi ve otomatik ELISA yıkayıcı ile her kuyucuk için 350 µl 1x yıkama solüsyonu ile yıkandı, plaka 3 kez yıkandı.

5- Her bir kuyucuğa A hacim (100 ul) tespit reaktifi B çalışma solüsyonu ilave edildi, ardından kuyucuklar plaka kapatıcıyla kapatıldı ve 30 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi.

6-Daha sonra toplama tüpünün içine yerleştirilen filtreye içerik aktarıldı, daha sonra 14.000 devir/dakika hızda 1 dakika santrifüj edildi ve filtre yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.

7-A hacim (400 µL) W1 solüsyonu eklendi, ardından 14.000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi, ardından toplama tüpü değiştirildi ve bir hacim (600 µL) yıkama tamponu eklendi ve 14.000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. .

9- Toplama tüpü değiştirildi ve ardından 3 dakika santrifüj edildi (Kurutma adımı).

10-Filtre yeni bir Eppendorf tüpüne (1,5 µL) aktarıldı, daha sonra 100 µL önceden ısıtılmış Elüsyon Tamponu ilave edildi, ardından tüp oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi, ardından 14000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.

12-Son olarak DNA içeren Eppendorf tüpü (1,5 µL) -20 C°'de saklandı.

Çözeltilerin hazırlanması

3.6.2.1. Tris-asetat-EDTA (TAE) Tampon Hazırlama

Tris-asetat-EDTA (TAE) tamponu, 1 hacim konsantre TAE 10X ile 9 hacim deiyonize distile su karıştırılarak kullanıma hazır 1X TAE tamponu elde edilerek hazırlandı. Tampon kullanılmaya kadar 4 °C'de saklandı.

Astarların hazırlanması

Her liyofilize primer (Macrogen Company, Kore), 100 pmol/ml konsantrasyonuna sahip bir stok primer çözeltisi olarak kabul edilen uygun hacimde (imalatçının talimatlarına göre) serbest nükleaz suyu ile çözüldü, ardından bu stoktan 10 ul'si hazırlandı. kullanıma hazır seyreltilmiş primer çözeltisini (10 pmol/ml) hazırlamak için 90 ul serbest nükleaz suyuna eklendi. Hem stok hem de seyreltilmiş primer çözeltileri kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

Agaroz Jel hazırlama

Agaroz jel, uygun ağırlıkta agaroz tozuna (Transgenbiotech Company, Çin) 100 mililitre TAE tamponu 1X (Promega Company, ABD) eklenerek hacimsel bir şişede (250 ml) hazırlandı ve tamamı için %0,8 konsantrasyonda agaroz jel çözeltisi elde edildi. Genom elektroforezi, PCR ürünleri için %1,5 ve %0,8 veya %1,5'lik karışım 2 dakika kaynatılarak çözünmesi sağlandı. Agaroz tozu mikrodalga fırın (DENKA, Çin) kullanılarak 56 °C'ye soğumaya bırakıldı ve ardından şişeye 2 µl Red Safe boyası (INTRON Bioteknoloji Inc., Kore) eklenerek iyice karıştırıldı. Tarağı tepsi plakasına sabitledikten sonra tankın düz bir yüzeyine sabitlenen elektroforez tepsisi plakasına (13 x 13 cm) jel aktarıldı, ardından jel oda sıcaklığında (20 -25 °C) 30 dakika sertleştirildi.).

3.2.3.2. Elektroforezin Çalıştırılması

Jel sertleştikten sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve tepsi elektroforez tankına yerleştirildi ve tepsideki jel yüzeyinin yaklaşık 3 – 4 mm yukarısında TAE tamponu ile kaplandı. Genomik DNA için, 5 µl genomik DNA, 3 µl yükleme boyası (BioLabs Loading Dye, Türkiye) ile dikkatlice karıştırıldı, ardından tüm genom için elektroforez 100 voltta 120 dakika çalıştırıldı. PCR ürünü için ise, 5 µl PCR ürünü ve pozitif bir DNA ladder kontrolünün (KAPA™ Universal Ladder KK6302, ABD) elektroforez tepsisi plakası içindeki kuyucuklara yüklenmesine izin verildi, ardından elektroforez 100 voltta 50 dakika süreyle çalıştırıldı.

Elektroforez modellerinin yorumlanması

Elektroforez tamamlandıktan sonra jel tepside çıkarıldı ve elde edilen bantların görselleştirilmesi için bir ultraviyole (UV) ışık transillüminatörüne (320 nanometre) yerleştirildi.

3.2.3.3. Polimeraz zincirleme reaksiyonu

Tüm polimeraz zincir reaksiyonları toplam 20 ul hacimde gerçekleştirildi. PCR reaksiyonları için, her reaksiyon karışımı 12,5 µl Master Mix (BioLabs Taq PCR Master mix, Türkiye), 1 µl (10pmol/ µl) ileri primer, 1 µl (10 pmol/ µl) ters primer, 1,5 µl genomik DNA ve 11,5 ul nükleaz içermeyen su. Tüm PCR koşulları Tablo 3.3.'te gösterilmiştir.

3.2.3.4.CYP11A1 rs700519 ve CYP19A1 rs2414096 genetik polimorfizmleri

Bu çalışmada bu bölgedeki genetik varyasyonun genotiplenmesi amacıyla rs700519 çalışıldı. CYP11A1 rs700519, 15:51215771 pozisyonundaki bir missense varyantıdır ve G'nin A'ya değiştirilmesinden kaynaklanır. CYP19A1 rs2414096 ise 15:51237582 pozisyonundaki G'nin A'ya değiştirilmesinden kaynaklanan intron varyantıdır.

Tablo 3.3., CYP11A1 rs700519 ve CYP19A1 rs2414096'nın primer dizisini, PCR durumunu ve PCR ürünlerinin uzunluğunu göstermektedir.

Tablo 3.3. Primer dizileri, PCR koşulları ve PCR ürünlerinin uzunluğu.

SNPs	Primer dizileri	PCR Koşullar	PCR product length
<i>CYP11A1</i> rs700519	İleri primerler 5'- CATAGAAACCACATGTCTCTG- 3' Ters primerler 5'- CTTGATTCGCTACCAGTATC-3'	-95°C'de 7 dakika süreyle ilk denatürasyon. -Daha sonra, her döngüde 30 döngü, 95°C'de 30 saniye süreyle denatürasyon, 55°C'de 30 saniye süreyle tavlama ve 72°C'de 30 saniye süreyle uzatmadan oluşuyordu. -72°C'de 10 dakika süreyle son uzatma.	720 bp

Tablo 3.3 (devam): Primer dizileri, PCR koşulları ve PCR ürünlerinin uzunluğu.

<i>CYP19A1</i> rs2414096	İleri primerler 5'- TCAGTATCCATAACCACACTAG- 3' Ters primerler 5'- CGTTTTACCAACACCAGTAA- 3'	-95°C'de 7 dakika süreyle ilk denatürasyon. -Daha sonra, her döngüde 30 döngü, 95°C'de 30 saniye süreyle denatürasyon, 55°C'de 30 saniye süreyle tavlama ve 72°C'de 30 saniye süreyle uzatmadan oluşuyordu. -72°C'de 10 dakika süreyle son uzatma.	624 bp
-----------------------------	---	--	--------

3.2.3.4.1. CYP11A1 rs700519

Daha önce belirtildiği gibi, guanin nitrojen bazı, kromozom 15: 51215771 pozisyonundaki adenin nitrojen bazına değiştirildi. Kısmi fragmanın (720 bp) nükleotit sekansına dayanan yeni tasarlanmış primerler, bir PCR tekniği kullanılarak genetik varyasyonu tespit etmek için kullanıldı. . PCR sonrasında ampliconların Red Safe Stain (Intron, Kore) ile boyanmış %1,5 agaroz jel üzerinde elektroforez yapmasına izin verildi, PCR ampliconları agaroz jel üzerinde bantlar halinde görüldü. Üretilen banttaki (720 bp) genetik varyasyonun belirlenmesi amacıyla Sanger yöntemi kullanılarak DNA dizileme uygulandı.

3.2.3.4.2. CYP19A1 rs2414096

Daha önce belirtildiği gibi, guanin nitrojen bazı, kromozom 15:51237582 pozisyonundaki adenin nitrojen bazına değiştirildi. Ayrıca, 624 bp'lik kısmen kopyalanmış fragmanda ortaya çıkan genetik polimorfizmleri PCR tekniği ile tespit etmek için yeni tasarlanan primerler kullanıldı. PCR sonrası, ampliconların Red Safe Stain (Intron, Kore) ile boyanmış %1,5 agaroz jel üzerinde elektroforez yapmasına izin verildi, PCR ampliconları agaroz jel üzerinde bantlar halinde görüldü. Üretilen banttaki (624 bp) genetik varyasyonun belirlenmesi amacıyla Sanger yöntemi kullanılarak DNA dizileme uygulandı.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Mevcut çalışmanın verilerini analiz etmek için IBM SPSS sürüm 27.0 kullanıldı. Mevcut verilerin türünü belirlemek ve doğru istatistiksel analizi seçmek için normallik, varyansın

homojenliği ve rastgeleleştirme tahmin edildi. Parametrik veriler için ortalama ve standart sapma (SD) hesaplandı, olasılık hesaplamasında bağımsız ğrenci t-testi kullanıldı. Ayrıca parametrik olmayan veriler için frekans ve yüzdeler hesaplanmış, parametrik olmayan veriler için olasılık hesaplamasında Pearson ki-kare kullanılmıştır. Olasılık 0,05'ten küçük olduğunda anlamlıydı. Genotipleme ve alel frekansları için beklenen değerleri hesaplamak ve bu değerleri gözlemlenen değerlerle karşılaştırmak için evrimii Hardy-Weinberg denge hesaplayıcısı kullanıldı. Moleküler alışma için Fisher'in kesin olasılığını, Bonferroni düzletilmiş olasılığını, tek oranı ve %95 güven aralıklarını hesaplamak için WinPepi bilgisayar programının 11.65 versiyonu kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Örnekleme

Bu çalışma Irak, Maysan Provence, Amara Bölgesindeki Maysan Çocukluk ve Doğum Hastanesinin jinekoloji bölümünü ziyaret eden 100 kadın üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma grubu, bir uzman tarafından polikistik over sendromu tanısı konulan yaş ortalaması $30,56 \pm 8,42$ yıl olan 50 kadın ve yaş ortalaması $29,62 \pm 7,62$ yıl olan 50 sağlıklı kadından oluşmaktadır (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1.'de incelenen grupların sosyo-demografik verileri PKOS grubunun %90'ının, sağlıklı kontrollerin ise %94'ünün evli olduğunu göstermektedir. Ayrıca PKOS grubunun ve sağlıklı kontrollerin %80'inde kürtaj yapılmamaktadır. Ayrıca PKOS grubunun %52'sine evlendikten sonra tanı konduğu, PKOS grubunun %72'sinde aile öyküsünün olduğu, PKOS grubunun %78'inin kronik hastalıklara sahip olduğu görüldü. PKOS grubunun tamamı (%100,0) diyetlerinde fast fooda bağımlıydı.

Tablo 4.1. Çalışılan grupların sosyo-demografik verileri.

Sosyo-demografik veriler		Sosyo-demografik veriler	Kontrol grubu (n= 50)	Olasılık
Yaş, \pm SD (Yıl) anlamına gelir		Yaş, \pm SD (Yıl) anlamına gelir	29.62 ± 7.62	$P > 0.05$
Sosyal statü sıklığı (%) Bekar Evli	Sosyal statü sıklığı (%) Bekar	5 (10.0)	3 (6.0)	$P > 0.05$
	Evli	45 (90.0)	47 (94.0)	
Kürtaj süreleri sıklığı (%) 0 kez 1 kez 2 kez 3 kez ve daha fazla	Kürtaj süreleri sıklığı (%) 0 kez	40 (80.0)	50 (100.0)	$P < 0.05$
	1 kez	3 (6.0)	0 (0.0)	
	2 kez	5 (10.0)	0 (0.0)	
	3 kez ve daha fazla	2 (4.0)	0 (0.0)	
PKOS tanı sıklığı (%) Evlilik öncesi Evlilikten sonra	PKOS tanı sıklığı (%)Evlilik öncesi	24 (48.0)	-	Uncountable
	Evlilikten sonra	26 (52.0)	-	
Aile öyküsü sıklığı (%) Evet HAYIR	Aile öyküsü sıklığı (%) Evet	14 (28.0)	0 (0.0)	$P < 0.001$
	HAYIR	36 (72.0)	50 (100.0)	

Tablo 4.1 (devam): Çalışılan grupların sosyo-demografik verileri.

Kronik hastalık sıklığı (%) Evet HAYIR	Kronik hastalık sıklığı (%) Evet	11 (22.0)	0 (0.0)	P < 0.001
	HAYIR	39 (78.0)	50 (100.0)	
Fast food sıklığı (%) Evet	Fast food sıklığı (%) Evet	50 (100.0)	0 (0.0)	P < 0.001
	HAYIR	0 (0.0)	50 (100.0)	

4.2. Biyokimyasal testler

4.2.1. Kan şekeri, hemoglobin A1c, insülin direnci, böbrek fonksiyonu ve lipit profili testleri

Tablo 4.2.'deki sonuçlar, PKOS ve kontrol grupları arasında incelenen parametreler açısından önemli farklılıkları gösterdi. PKOS grubunda kontrol grubuna göre rastgele kan şekeri (FBG), hemoglobin A1c (HbA1c), insülin direnci ortalamalarında anlamlı artış vardı. Sonuçlar kan üre (BU) ve serum kreatinin testlerinde anlamlı olmayan farklılıklar ortaya çıkardı. Kolesterol seviyesinde de aynı sonuç ortaya çıktı, ancak PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında serum trigliserit (TG) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri anlamlı derecede artarken, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyelerinde anlamlı bir azalma görüldü. Kontrol grubuna göre PKOS grubunda ortaya çıktı (Tablo 4. 2.).

Tablo 4.2. Kan şekeri, HbA1c, insülin direnci testi, böbrek fonksiyon testi ve lipid profil düzeyi.

Parametrelerin anlamı ± SD	PKOS grubu (n= 50) Kontrol grubu (n= 50) Olasılık	PKOS grubu (n= 50) Kontrol grubu (n= 50) Olasılık	PKOS grubu (n= 50) Kontrol grubu (n= 50) Olasılık
FBG (mg/dl)	172.34 ± 62.72	90.86 ± 16.11	P < 0.001
HbA1c (%)	6.10 ± 1.39	5.30 ± 0.50	P < 0.001
İnsülin direnci testi (Birim)	4.54 ± 2.93	2.11 ± 1.86	P < 0.001
BU (mg/dl)	26.54 ± 8.34	24.28 ± 8.83	P > 0.05
S. kreatinin (mg/dl)	1.0 ± 0.48	1.12 ± 0.44	P > 0.05
S. Chol (mg/dl)	192.70 ± 65.80	179.46 ± 47.83	P > 0.05
S.TG (mg/dl)	201.26 ± 98.23	124.62 ± 24.67	P < 0.001
S. HDL (mg/dl)	23.14 ± 11.80	50.16 ± 10.31	P < 0.001
S. LDL (mg/dl)	74.22 ± 43.81	31.96 ± 7.53	P < 0.001

FBG: rastgele kan şekeri, HbA1c: hemoglobin A1c, BU: kan üre, S. kreatinin: serum kreatinin, S. Chol: serum kolesterol, S. TG: serum trigliserit, S. HDL: serum yüksek yoğunluklu lipoprotein, S. LDL: serum düşük yoğunluklu lipoprotein

4.2.2. Karaciğer fonksiyon testi

Tablo 4.3.'teki sonuçlar, PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karaciğer fonksiyon testinde anlamlı olmayan farklılıklar gösterdi. Sonuçlar, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PKOS grubunda AST düzeyinde anlamlı olmayan bir azalma gözlemlendi. ALT ve ALP için ise sonuçlar PKOS grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olmayan düzeyde artış olduğunu gösterdi (Tablo 4. 3.).

Tablo 4. 3. Karaciğer fonksiyon testi seviyesi.

Parametrelerin anlamı ± SD	PKOS grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)	Olasılık
AST (mg/dl)	22.10 ± 6.15	24.30 ± 9.50	P > 0.05
ALT (mg/dl)	58.38 ± 17.98	22.06 ± 6.77	P > 0.05
ALP (mg/dl)	69.18 ± 28.24	60.60 ± 33.97	P > 0.05

AST: , ALT: , ALP: alkalin fosfataz

4.3. Seks hormonu

Tablo 4. 4.'te gösterilen cinsiyet hormonu sonuçları anlamlı derecede farklılıklar gösterdi; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PKOS grubunda LH, FSH, testosteron, estradiol hormonu düzeylerinde anlamlı artış vardı. PKOS grubunda prolaktin düzeyi açısından kontrol grubuna göre anlamlı bir fark yoktu (Tablo 4. 4.).

Tablo 4.4. Seks hormonları düzeyi.

Cinsiyet hormon düzeyleri ortalama ± SD	PKOS grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)	Olasılık
LH (ng/ml)	13.69 ± 2.13	5.46 ± 0.91	P < 0.001
FSH (ng/ml)	12.25 ± 1.49	7.53 ± 0.80	P < 0.001
Prolactin (ng/ml)	21.42 ± 1.48	19.74 ± 1.44	P > 0.05
Testosterone (ng/ml)	0.99 ± 0.25	0.38 ± 0.08	P < 0.05
Progesteron (ng/ml)	62,90 ± 7,32	12,40 ± 1,80	P < 0,001
Estradiol (ng/ml)	74.52 ± 10.34	6.0 ± 0.69	P < 0.001

4.4. Tiroid hormonları

Ayrıca Tablo 4.5.'te PKOS grubunda tiroid hormon sonuçlarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklılıklar ortaya çıktı. PKOS grubunda kontrol grubuna göre T3 hormonu düzeyinde anlamlı artış vardı. PKOS grubunda kontrol grubuna kıyasla T4 ve TSH hormon düzeylerinde anlamlı olmayan azalma görüldü (Tablo 4.5.).

Tablo 4.5. Tiroid hormon düzeyi.

Tiroid hormon düzeyleri ortalama \pm SD	PKOS grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)	Olasılık
T3 (nmol/L)	1.20 \pm 0.64	0.91 \pm 0.07	P < 0.05
T4 (nmol/L)	92.92 \pm 28.53	99.34 \pm 31.28	P > 0.05
TSH (nmol/L)	2.28 \pm 1.28	2.33 \pm 1.64	P > 0.05

4.5. Leptin hormonu

PCOS grubundaki Leptin hormonu düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttı. (Table 4.6.).

Tablo 4.6. Leptin hormon düzeyi.

Leptin hormonu düzeyi ortalama \pm SD (ng)	PKOS grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)	Olasılık
	34.16 \pm 5.46	13.73 \pm 1.09	P < 0.001

4.6. Çalışılan parametreler arasındaki korelasyon

Tablo 4.7. çalışılan parametreler arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Yaş ile FSH hormonu arasında anlamlı negatif korelasyon bulunurken, RBG ile HbA1c, insülin direnci, TG, LDL, LH, FSH, E2 ve leptin arasında anlamlı pozitif korelasyon, FBG ile HbA1c arasında negatif anlamlı korelasyon ortaya çıktı. Progesteron hormonu, HbA1c için insülin direnci, LH, TSH ve leptin hormonu ile pozitif anlamlı korelasyon ortaya çıkarken, HDL ile negatif anlamlı korelasyon ortaya çıktı. İnsülin direncinde de leptin ile pozitif anlamlı, HDL ile negatif anlamlı korelasyon ortaya çıktı. Kolesterol için, kolesterol ile TG arasında pozitif anlamlı bir korelasyon, T4 ile ise negatif anlamlı bir korelasyon vardı. Ayrıca TG ile LDL, LH, FSH ve leptin arasında pozitif anlamlı bir korelasyon ortaya çıkarken, TG ile HDL ve progesteron arasında negatif anlamlı bir korelasyon ortaya çıktı. HDL ile progesteron arasında pozitif anlamlı bir korelasyon ortaya çıkarken, LDL, LH, E2 ve leptinin her biri ile negatif anlamlı bir korelasyon ortaya çıktı. LDL için leptin ile pozitif anlamlı, progesteron ile negatif anlamlı korelasyon ortaya çıktı. Böbrek fonksiyon testinde BU ile kreatinin arasında sadece pozitif yönde anlamlı bir korelasyon ortaya çıktı. Karaciğer fonksiyon testinde ALT ile progesteron arasında pozitif anlamlı korelasyon, ALT ile leptin arasında negatif anlamlı korelasyon, ALP ile T4 arasında negatif anlamlı korelasyon ortaya çıktı. Cinsiyet hormonuyla ilgili olarak, LH ile FSH, T4 ve leptin arasında pozitif ve anlamlı bir korelasyon ortaya çıktı. Ayrıca FSH ile E2 ve leptin arasında pozitif anlamlı bir korelasyon, progesteron ile ise negatif anlamlı bir korelasyon ortaya çıktı. Ayrıca testosteron ile prolaktin arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon vardı. Böylece E2 ile

leptin arasında pozitif anlamlı bir korelasyon, E2 ile progesteron ve progesteron ile leptin arasında negatif anlamlı bir korelasyon ortaya çıktı. Tiroid fonksiyon testinde T3 ile leptin arasında pozitif anlamlı korelasyon, T3 ile TSH arasında ve T4 ile TSH ve leptin arasında negatif anlamlı korelasyon ortaya çıktı.

Tablo 4.7. Çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

	Age	RBG	HbA1c	Insulin resistant	Chol	TG	HDL	LDL	BU	Creatinine	ALT	AST	ALP	LH	FSH	Testosterone	Prolactin	E2	Progesterone	T3	T4	TSH	Leptin
Age	1	-.066	.004	.050	.010	-.058	-.142	-.059	.123	.155	.025	.010	-.023	-.160	-.263**	-.067	.147	-.023	-.117	-.089	-.020	-.096	.088
RBG	-.066	1	.698**	.341**	-.020	.257**	-.471**	.269**	.036	-.147	-.086	-.077	.044	.401**	.305**	.088	.164	.376**	-.353**	.097	-.012	-.067	.549**
HbA1c	.004	.698**	1	.245*	-.066	.054	-.304**	.015	-.034	-.103	-.062	-.082	.159	.221*	.188	.120	.180	.195	-.180	-.073	-.045	-.206*	.293**
Insulin resistant	.050	.341**	.245*	1	.192	.170	-.279**	.134	.167	.021	-.044	-.012	.041	.072	-.015	.101	.025	.346**	-.154	.077	.009	.038	.407**
Chol	.010	-.020	-.066	.192	1	.358**	-.109	.038	-.003	-.084	.031	.154	.128	-.036	.162	-.045	.001	.085	-.118	-.013	-.202*	-.001	.131
TG	-.058	.257**	.054	.170	.358**	1	.440**	.373**	-.029	-.058	-.011	.118	.395**	.272**	.026	-.058	.182	-.269**	.066	-.024	-.032	-.387**	
HDL	-.142	-.471**	.304**	.279**	-.109	.440**	1	.394**	-.040	.089	.060	.138	-.288**	.239*	-.136	-.004	.450**	.457**	-.146	.118	-.074	-.641**	
LDL	.059	.269**	.015	.134	.038	.373**	.394**	1	.160	-.032	-.060	.051	.190	.169	.013	-.012	.158	.323**	.155	-.002	-.089	-.536**	
BU	.123	.036	-.034	.167	-.003	-.029	-.040	.160	1	.229*	.020	.029	.056	.176	.019	-.036	-.178	.038	-.042	.077	.099	-.037	.068
Creatinine	.155	-.147	-.103	.021	-.084	-.058	.089	.032	.229*	1	-.016	.123	.105	-.115	-.180	-.139	.050	-.045	.071	-.181	.027	-.028	-.157
ALT	.025	-.086	-.062	-.044	.031	-.026	-.060	-.060	.020	-.016	1	.145	.152	-.068	-.049	.022	.002	-.068	.361**	-.048	-.008	-.085	-.221*
AST	-.010	-.077	.082	.012	.154	.016	.138	-.062	.029	.123	-.077	1	.077	-.163	-.030	.089	.087	-.094	.183	.019	-.113	.132	-.098
ALP	-.023	.044	.159	.041	-.128	-.118	.134	-.051	.056	-.105	.077	.152	1	-.048	.019	.035	-.083	.106	.046	-.018	-.233*	.010	.116

Tablo 4.7 (devam): Çalışılan parametreler arasındaki korelasyon.

LH	-	.401**	.221*	.072	-	.395**	-.288**	.190	.176	-	-.115	-	-.068	-.163	-.048	1	.378**	.113	.099	.146	-.229*	.122	-.211*	.092	-.232*		
FSH	-	.263**	.305**	.188	-	.272**	-.239*	.169	.019	-	-.180	-	-.049	-.030	.019	.378**	1	.082	-	.243*	-.253*	.096	-	.035	-.097	.235*	
Testosterone	-	.067	.088	.120	.101	-	.026	-.136	.013	.036	-.139	-	.022	.089	-.035	.113	.082	1	.318**	.094	-	.131	.141	-	.063	-.054	.089
Prolactin	.147	.164	.180	.025	.001	-	.058	.004	.012	-	.178	.050	.002	.087	.083	.099	-	.318**	1	.033	-	.030	.144	.179	-	.081	-.015
E2	-	.023	.376**	.195	.346**	.085	.182	.450**	.158	.038	-	.045	-	-.068	-.094	.146	.243*	.094	.033	1	-.279**	.124	-	.028	-.046	.469**	
Progesterone	-	.117	-.353**	-	-.180	-.154	-.118	-.269**	.457**	-.323**	.042	.071	.361**	.183	.046	-.229*	.253*	-	-.131	-.030	.279**	1	-	.107	-.091	-.086	-.547**
T3	-	.089	.097	-	.073	.077	-	.066	-.146	.155	.077	-.181	-	.049	-.018	.122	.096	.141	.144	.124	-	.107	1	.194	-.404**	.217*	
T4	-	.020	-.012	-.045	.009	-.202*	-	.118	-	.090	.027	-.008	-	.113	-.233*	.211*	-	-.035	.063	.179	-	.091	.194	1	-.257**	-.055	
TSH	.096	.067	.206*	.038	-	.032	-.074	.089	-	.037	-.028	-.085	-.132	.010	-.092	.097	-	-.054	.081	-.046	-.086	-.404**	.257**	1	-	.119	
Leptin	.088	.549**	.293**	.407**	.131	.387**	-.641**	.536**	.068	-	.157	-.221*	-.098	-.116	.232*	.235*	.089	-	.015	.469**	-.547**	.217*	-	-.055	-.119	1	
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).																											
* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).																											

4.7. Moleküler çalışma

4.7.1. CYP11A1

CYP11A1 rs700519 (yanlış anlamlı varyant), bu bölgedeki genetik polimorfizmlerin genotiplenmesi (G alelinin 15:51215771 pozisyonundaki A aleli ile değiştirilmesi) amacıyla çalışıldı. CYP11A1 rs700519'un moleküler boyutu 720 bp idi (Şekil 4.1.). CYP11A1 rs700519'un Sanger yöntemiyle yapılan PCR dizileme sonuçları, genin bu bölgesinde herhangi bir genetik varyasyonun bulunmadığını, tüm PKOS ve kontrol

gruplarının GG genotipine sahip olduğunu gösterdi. Ayrıca ek bir genetik varyasyon da ortaya çıkmadı. Amplifiye segmentteki rs700519. Tablo 4.8. ve 4.9., CYP11A1 rs700519'un genotiplemesini ve alel frekanslarını göstermektedir.



Şekil 4.1. 50 dakika boyunca 100 voltajda Red Safe lekeli (Intron, Kore) ile boyanmış %1,5 agaroz jel üzerinde CYP11A1 rs700519'un jel elektroforezi. Amplikonun moleküler boyutu 720 bp idi, L: Evrensel DNA merdiveni (Intron, Kore), 1 – 12: çoğaltılmış örnekler.

Tablo 4.8. PKOS grubunda CYP11A1 rs700519 genotiplemesinin kontrollerle karşılaştırıldığında Hardy-Weinberg denge analizi.

CYP11A1 rs700519 genotipleme sıklığı (%)	PKOS grubu (n= 50)		Kontrol grubu (n= 50)	
	Gözlemlendi	Beklenen	Gözlemlendi	Beklenen
GG	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)
GA	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
AA	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)
P-HWE Sayılamayan Sayılamayan	P-HWE Sayılamayan		P-HWE Sayılamayan	

P-HWE: Hardy-Weinberg dengesinin olasılığı

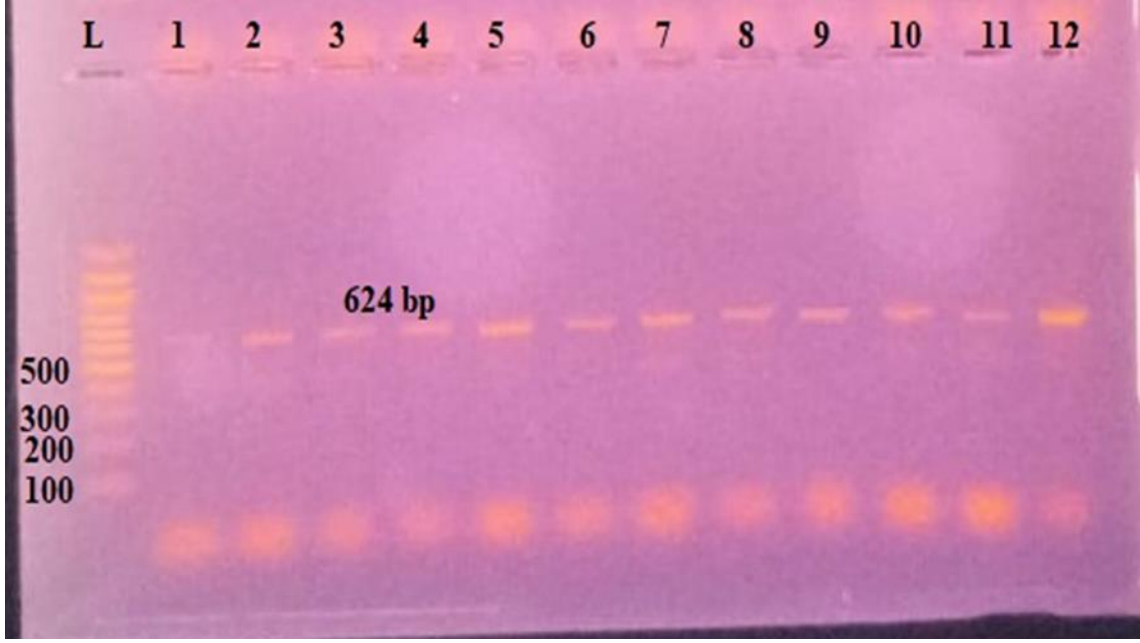
Tablo 4.9. PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CYP11A1 rs700519 genotipi ve alel frekansları.

CYP11A1 rs700519 genotiplenmesi ve alelleri	frekanslar (%)		OR	95% CI	p değeri	pc- değeri
	PKOS grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)				
G	100 (100.0)	100 (100.0)	-	-	Sayılamayan	Sayılamayan
A	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	Sayılamayan	Sayılamayan
İyi oyun	50 (100.0)	50 (100.0)	-	-	Sayılamayan	Sayılamayan
GA	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	Sayılamayan	Sayılamayan
AA	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	Sayılamayan	Sayılamayan
Toplam	50 (100.0)	50 (100.0)	-	-	Sayılamayan	Sayılamayan

veya: tek oran, %95 GA: %95 güven aralıkları, p-değeri: Fisher'in kesin olasılık değeri, pc-değeri: Bonferroni düzeltilmiş olasılık değeri

4.7.2. CYP19A1 rs2414096

CYP11A1 rs2414096 (bir intron varyantı), bu bölgedeki genetik polimorfizmlerin genotiplenmesi (G alelinin 15:51237582 pozisyonundaki A aleli ile değiştirilmesi) amacıyla çalışıldı. CYP11A1 rs2414096'nın moleküler boyutu 624 bp idi (Şekil 4.2.). CYP11A1 rs2414096'nın Sanger yöntemiyle PCR dizilemesinin sonuçları, her iki grubun genotiplenme sıklığının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olduğunu gösterdi (Tablo 4.10, CYP11A1 rs2414096'nın genotiplenmesini ve alel frekanslarını göstermektedir. CYP19A1 rs2414096, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PKOS grubunda GG, GA ve G alelinin düzeltilmiş, anlamlı olmayan azalma yüzdesini gösterdi (%24,0 vs. %26,0, OR: 0,8, pc: 0,821; %48,0 vs. %60,0), OR: 0.62, pc: %0.233 ve %48,0 vs. %56,0, OR: 0.0.73, pc: 0.260, sırasıyla) AA genotipi ve A aleli sonuçları PKOS'ta düzeltilmiş anlamlı olmayan bir artış yüzdesi gösterdi. grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (%28,0 vs. %14,0, OR: 2,39, pc: 0,091 ve %52,0 vs. %44,0, OR: 1,38, pc: 0,260). Bahsedilen GG, GA genotipleri ve G allelindeki tek oranın düşük değeri PKOS için koruyucu bir fraksiyon olabilirken, bahsedilen AA genotipi ve A allelindeki tek oranın yüksek değeri PKOS için göreceli bir fraksiyon olabilir.



Şekil 4.2.50 dakika boyunca 100 voltajda Red Safe boyası (Intron, Kore) ile boyanmış %1,5 agaroz jel üzerinde CYP19A1 rs2414096'nın jel elektroforezi. Amplikonun moleküler boyutu 624 bp idi, L: Evrensel DNA merdiveni (Intron, Kore), 1 – 12: çoğaltılmış örnekler.

Tablo 4.10. PKOS grubunda CYP19A1 rs2414096 genotiplemesinin kontrollerle karşılaştırıldığında Hardy-Weinberg denge analizi.

CYP11A1 rs2414096 genotipleme sıklığı (%)	PKOS grubu (n= 50)		Kontrol grubu (n= 50)	
	Gözlemlendi	Beklenen	Gözlemlendi	Beklenen
GG	12 (24.0)	11.52 (23.04)	13 (26.0)	15.68 (31.36)
GA	24 (48.0)	24.96 (49.92)	30 (60.0)	24.64 (49.28)
AA	14 (28.0)	13.52 (27.04)	7 (14.0)	9.68 (19.36)
Total	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)
<i>P</i> -HWE	0.7856		0.1240	

P-HWE: Hardy-Weinberg dengesinin olasılığı

Tablo 4.11. PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CYP11A1 rs2414096 genotipi ve alel frekansları.

CYP11A1 rs2414096 genotipleme ve alel	frekansları (%)		VEYA	95% CI	p- değer	pc- değer
	PKOS grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)				
G	48 (48.0)	56 (56.0)	0.73	0.42-1.26	0.322	0.260
A	52 (52.0)	44 (44.0)	1.38	0.79-2.40	0.322	0.260
GG	12 (24.0)	13 (26.0)	0.90	0.37-2.20	1.0	0.821
GA	24 (48.0)	30 (60.0)	0.62	0.28-1.35	0.316	0.233
AA	14 (28.0)	7 (14.0)	2.39	0.88-6.49	0.140	0.091
Toplam	50 (100.0)	50 (100.0)				

veya: tek oran, %95 GA: %95 güven aralıkları, p-değeri: Fisher'in kesin olasılık değeri, pc-değeri: Bonferroni düzeltilmiş olasılık değeri

Tablo 4.12. PKOS grubunda CYP19A1 rs2414096 genotiplemesinin kontrollerle karşılaştırıldığında Hardy-Weinberg denge analizi.

CYP11A1 rs2414096 genotipleme sıklığı (%)	PKOS grubu (n= 50)		Kontrol grubu (n= 50)	
	Gözlemlendi	Beklenen	Gözlemlendi	Beklenen
GG	12 (24.0)	11.52 (23.04)	13 (26.0)	15.68 (31.36)
GA	24 (48.0)	24.96 (49.92)	30 (60.0)	24.64 (49.28)
AA	14 (28.0)	13.52 (27.04)	7 (14.0)	9.68 (19.36)
Total	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)	50 (100.0)
P-HWE	0.7856		0.1240	

P-HWE: Hardy-Weinberg dengesinin olasılığı

Tablo 4.13. PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CYP11A1 rs2414096 genotipi ve alel frekansları.

CYP11A1 rs2414096 genotipleme ve alel	frekansları (%)		VEYA	95% CI	p- değer	pc- değer
	PKOS grubu (n= 50)	Kontrol grubu (n= 50)				
G	48 (48.0)	56 (56.0)	0.73	0.42-1.26	0.322	0.260
A	52 (52.0)	44 (44.0)	1.38	0.79-2.40	0.322	0.260
GG	12 (24.0)	13 (26.0)	0.90	0.37-2.20	1.0	0.821
GA	24 (48.0)	30 (60.0)	0.62	0.28-1.35	0.316	0.233
AA	14 (28.0)	7 (14.0)	2.39	0.88-6.49	0.140	0.091
Total	50 (100.0)	50 (100.0)				

veya: tek oran, %95 GA: %95 güven aralıkları, p-değeri: Fisher'in kesin olasılık değeri, pc-değeri: Bonferroni düzeltilmiş olasılık değeri

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Kan şekeri, HbA1c, insülin direnci, böbrek fonksiyonu ve lipit profili düzeylerinin mevcut sonuçları farklı anlamlılık göstermiştir. Kan şekeri, HbA1c, insülin direnci, S. HDL ve S. LDL testleri PKOS grubunda kontrol grubuna göre oldukça anlamlı çıkmıştır. BU, S. Chol, S.TG ve karaciğer fonksiyon testleri açısından PKOS grubunda kontrol grubuna göre oldukça anlamsız çıkmıştır. Buna karşılık s. kreatinin seviyesi, PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olmayan bir azalma göstermektedir. Bu mevcut sonuçlar önceki diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (95, 96, 97, 98).

Böbrek fonksiyon testi sonuçları önceki çalışmalarla aynı fikirde olmasa da PKOS ile böbrek hastalıkları gelişimi arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (19, 98, 99).

Ayrıca, mevcut sonuçlarda, PKOS grubunda prolaktin dışındaki seks hormonlarının düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı, PKOS grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı olmayan bir artış olduğu ortaya çıkmıştır. Önceki çalışmalar PKOS gelişimi ile LH, FSH ve estradiol hormonlarının düzeyleri arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (100). PKOS hastalarında cinsiyet hormonal bozukluklarından kaynaklanan çeşitli metabolik bozukluklar görülmektedir (101, 102). Ayrıca seks hormonlarına ilişkin sonuçlarımız, Güngör ve Güngör'ün (2023) PKOS hastalarında seks hormonları ve AMH düzeylerinde önemli bir artış olduğunu bildiren çalışmasıyla uyumlu bulunmuştur. Ayrıca Xing vd., (2022) seks hormonu bozuklukları ile kan şekeri düzeyleri, lipit profili ve karaciğer fonksiyon testleri arasında anlamlı ilişki olduğunu bildirmiştir (16, 102, 103).

Tiroid fonksiyonunun sonuçları, PKOS hastalarında tiroid hormon düzeylerinde önemli bir artış olduğunu gösteren önceki çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur, ancak tiroid hormonlarının rolü hala belirsizdir (103 104).

Sonuçlarımız PKOS grubunda kontrol grubuna göre leptin hormonu düzeyinde anlamlı bir artış olduğunu göstermektedir; bu sonuçlar, leptin hormonu artışı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gösteren ve leptin hormonunun kontrol grubuna göre PKOS'un tanı ve

tedavisi için önemli bir gösterge olduğu sonucuna varılan önceki bir çalışmayla uyumlu bulunmuştur (105). Ayrıca Sharif (2022), hiperinsülinemi PKOS hastalarında leptin hormonu ile BMI ve insülin direnci arasında anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna varmıştır. Ayrıca PKOS hastalarında leptin hormonu ile bazı seks hormonları arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (61, 106, 107).

Moleküler çalışmaya ilişkin olarak, mevcut çalışma hem PKOS'ta hem de kontrol grubunda CYP11A1 rs700519 için genetik çeşitlilik göstermemiştir. Sonuçlar CYP19A1 rs2414096 ve rs2414097 frekansında anlamlı olmayan bir artış gösterirken, CYP19A1 rs2414096 sonuçları PKOS grubunda kontrol grubuna göre AA genotipi ve A allel frekansında anlamlı olmayan bir artış olduğunu göstermektedir. CYP11A1 rs700519 ve CYP19A1 rs2414096 genetik polimorfizmi arasındaki ilişki için de benzer araştırmalar ortaya çıkmıştır ve bu polimorfizmlerin PKOS gelişimi ve infertilite için risk faktörleri ve önemli arttırıcılar olabileceği bildirilmiştir (1, 85, 108, 109). Chauba vd., (2021) ve Ashraf vd., (2021) CYP19A1 rs2414096 sonuçlarına katılmamış, GG, GA genotipleri ve G alelinin PKOS gelişimi ve infertilite için risk faktörleri olabileceğini bildirmişlerdir(2, 110) . CYP19A1 rs2414097'nin etkisini ele alan daha önce veya yakın zamanda yapılmış bir çalışma yoktur ve mevcut sonuçlar ilk kez rapor edilmiştir. CYP19A1 rs2414097'nin genetik polimorfizmleri, PKOS grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında GG genotipleri ve G allel frekansında anlamlı olmayan bir artış göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Heidarzadehpilehrood R, Pirhoushiaran M, Abdollahzadeh R et al. A Review on CYP11A1, CYP17A1, and CYP19A1 Polymorphism Studies: Candidate Susceptibility Genes for Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Infertility. *Genes*. 2022;13: 302.
2. Chauba K, Anupama S, Vineet VM. Polycystic ovary syndrome: environmental/occupational and lifestyle factors - an overview. *Journal of the Turkish-German Society of Gynecology*. 2019; 20(4).
3. Firoozabadi AD, Firouzabadi RD, Eftekhar M. Maternal and neonatal outcomes among pregnant women with different “PCOS” phenotypes: A cross-sectional study. *International Journal of Reproduction Biomedical*. 2020; 18: 339.
4. Aktan M, Aytaçoğlu H, Özbakır B. Regulation of the CYP11A1 gene by lncRNAs in human oocytes obtained from patients with polycystic ovaries. *Russian Journal of Genetics*. 2023; 59: 106–109.
5. Han Y, Wu H, Sun S, Zhao R, Ding Y, Zeng S. The effect of high-fat diet on the development of polycystic ovary syndrome and lifestyle intervention strategies. *Nutrients*. 2023; 8:15(9):2230.
6. Visser JA. The importance of metabolic dysfunction in “PCOS”. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2021; 17:77–78.
7. Gambineri A, Cecchetti C, Altieri P, Ribichini D, Lo Preiato V, Fanelli F, Pagotto U. Secondary PCOS: well-defined causes, leading to the PCOS phenotype. In Diamanti-Kandarakis E (ed.), *Polycystic Ovary Syndr*, Netherlands: Elsevier; 2022, pp. 15-22.
8. Hong X, Qin P, Yin J, Shi Y, Xuan Y, Chen Z, Zhou X, Yu H, Peng D, Wang B. Clinical manifestations of “PCOS” and associations with the vaginal microbiome: A cross-sectional based exploratory study *Front Endocrinol*. 2021; 12: 662725.

9. Geraghty P. Each Woman's Menopause an Evidence Based Resource. Springer; Berlin/Heidelberg, Germany: The Interaction of Menopause and Chronic Disease. 2022; 91–120.
10. Walker K, Decherney AH, Saunders R. Menstrual dysfunction in "PCOS". Clin. Obstet. Gynecol. 2021; 64: 119–125.
11. Almeshari WK, Alsubaie AK, Alanazi RI, Almalki YA, Masud N, Mahmoud SH. Depressive and anxiety symptom assessment in adults with polycystic ovarian syndrome. Depression Res. Treat. 2021; 2021: 6652133.
12. Tehrani FR, Behboudi-Gandevani S, Yarandi RB, Naz MSG, Carmina E. Prevalence of acne vulgaris among women with "PCOS": A systemic review and meta-analysis. Gynecol. Endocrinol. 2021; 37:3 92–405.
13. Pundir CS, Deswal R, Narwal V, Dang A. The prevalence of "PCOS": A brief systematic review. Journal Hum. Reproduction. 2020; 13: 261–271.
14. Guo F, Huang Y, Fernando T, Shi Y. Altered Molecular Pathways and Biomarkers of Endometrial Receptivity in Infertile Women with "PCOS". Reprod. 2022; 1:1–11.
15. Kałużna M, Człapka-Matyasik M, Wachowiak-Ochmańska K, Moczko J, Kaczmarek J, Janicki A, Piątek K, Ruchała M, Ziemnicka K. Effect of central obesity and hyperandrogenism on selected inflammatory markers in patients with "PCOS": A WHtR-matched case-control study. J. Clin. Med. 2020; 9: 3024.
16. Chen X, Koivuaho E, Piltonen TT, Gissler M, Lavebratt C. Reply: Association of Maternal "PCOS" or Anovulatory Infertility with Obesity and Diabetes in Offspring: A Population-Based Cohort Study. Hum. Reprod. 2021; 37: 193–194.
17. Liu S, Mo M, Xiao S, Li L, Hu X, Hong L, Wang L, Lian R, Huang C, Zeng Y. Pregnancy outcomes of women with "PCOS" for the first in vitro fertilization treatment: A retrospective cohort study with 7678 patients. Front. Endocrinol. 2020; 11: 1.
18. Nazarenko TA, Mishieva NG. Infertility and age: ways to solve the problem. 2nd ed. Moscow: Medpress-inform, 2014.

19. Joham AE, Teede HJ, Ranasinha S, Zoungas S, Boyle J. Prevalence of infertility and use of fertility treatment in women with “PCOS”: data from a large community-based cohort study. *J Womens Health*. 2015; 24(4): 299-307.
20. Lizneva D, Suturina L, Walker W. Criteria, prevalence, and phenotypes of “PCOS”. *Endocr Rev*. 2016; 106(1): 6-15.
21. Du, Y, Li F, Li S, Ding L, Liu M. Causal relationship between polycystic ovary syndrome and chronic kidney disease: A Mendelian randomization study. *Frontiers in Endocrinology*, 2023; 14.
22. Jiangfeng Y, Wenting Z, Han L, Yuchan M, Fan J, Jun Z. Environmental exposure to triclosan and “PCOS”: a cross-sectional study in China. *BMJ Open*, 2018; 8(10): e019707.
23. Chaudhuri A.” PCOS”: Causes, symptoms, pathophysiology, and remedies. *Science Direct*. 2022; 39: 100480.
24. Joseph S, Barai RS, Bhujbalrao R, Idicula-Thomas S. A Knowledgebase on genes, diseases, ontology terms and biochemical pathways associated with Polycystic Ovary Syndrome. *Nucleic Acids Res*. 2015; 44(1): 1032-1035.
25. Stener-Victorin E, Deng Q. Epigenetic inheritance of “PCOS”-Challenges and opportunities for treatment. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2021; 17: 521–533.
26. Stener-Victorin E, Padmanabhan V, Walters KA, Campbell RE, Benrick A, Giacobini P, Dumesic DA, Abbott DH. Animal Models to Understand the Etiology and Pathophysiology of “PCOS”. *Endocr. Rev*. 2020; 41.
27. Skinner MK. Endocrine disruptor induction of epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Mol. Cell. Endocrinol*. 2014; 398: 4–12.
28. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, Slagboom PE, Lumey LH. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2008; 105: 17046–17049.
29. Murrin CM, Kelly GE, Tremblay R, Kelleher CC. Body mass index and height over three generations: Evidence from the Lifeways cross-generational cohort study. *BMC Public Health*. 2012; 12: 81.

30. Van Dijk SJ, EpiSCOPE MO, Molloy P, Varinli H, Morrison J, Muhlhausler BS. Epigenetics and human obesity. *Int. J. Obes.* 2015; 39:85–97.
31. Abbott DH, Dumesic DA, Levine JE. Hyperandrogenic origins of “PCOS”— Implications for pathophysiology and therapy. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 2019; 14: 131–143.
32. Mimouni NEH, Paiva I, Barbotin AL, Timzoura FE, Plassard D, Le Gras S, Ternier G, Pigny P, Catteau-Jonard S, Simon V. ”PCOS” is transmitted via a transgenerational epigenetic process. *Cell Metab.* 2021;33:513–530. doi: 10.1016/j.cmet.2021.01.004
33. Dumesic DA, Hoyos LR, Chazenbalk GD, Naik R, Padmanabhan V, Abbott DH. Mechanisms of intergenerational transmission of “PCOS”. *Reproduction.* 2020;159: 1–13.
34. McGee EA. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr. Rev.* 2000; 21: 200–214.
35. Jaeger K, Saben JL, Moley KH. Transmission of metabolic dysfunction across generations. *Physiology.* 2017; 32: 51–59.
36. Liu H, Zhao H, Chen ZJ. Genome-wide association studies for “PCOS”. *Semin. Reprod. Med.* 2016; 34: 224–229.
37. Tian Y, Li J, Su S, Cao Y, Wang Z, Zhao S, Zhao H. ”PCOS”-GWAS Susceptibility Variants in THADA, INSR, TOX3, and DENND1A are associated with metabolic syndrome or insulin resistance in women with “PCOS”. *Front. Endocrinol.* 2020; 11: 274.
38. Hiam D, Moreno-Asso A, Teede HJ, Laven JS, Stepto NK, Moran LJ, Gibson-Helm M. The genetics of “PCOS”: An overview of candidate gene systematic reviews and genome-wide association studies. *J. Clin. Med.* 2019; 8: 1606.
39. Jiang NX, Li XL. The disorders of endometrial receptivity in “PCOS” and its mechanisms. *Reprod. Sci.* 2021; 1–12.

40. Kara M, Ozcan SS, Aran T, Kara O, Yilmaz N. Evaluation of endometrial receptivity by measuring HOXA-10, HOXA-11, and leukemia inhibitory factor expression in patients with “PCOS”. *Gynecol. Minim. Invasive Ther.* 2019; 8: 118–122.
41. Abutorabi ES, Rashidi BH, Irani S, Haghollahi F, Bagheri M. Investigation of the FSHR, CYP11, and INSR mutations and polymorphisms in iranian infertile women with “PCOS” (“PCOS”) *Rep. Biochem. Mol. Biol.* 2021; 9: 470–477.
42. Yilmaz B, Yildiz BO. Endocrinology of Hirsutism: From Androgens to Androgen Excess Disorders *HYPERANDROGENISM IN WOMEN: BEYOND “PCOS”*, 2019; 53: 108-119
43. Deswal R, Narwal V, Suneja A, Pundir C. The Prevalence of “PCOS”: A Brief Systematic Review. *Journal of Human Reproductive Sciences.* 2020; 13(4): 261.
44. Henigsman S, Whelan C. Can Your Diet Relieve Symptoms of “PCOS” [Internet]. 2022 [Erişim tarihi 10 Temmuz 2024]. Erişim adresi: <https://www.healthline.com/health/”PCOS”-diet>.
45. Chaudhary H, Patel J, Jain NK, Joshi R. The role of polymorphism in various potential genes on “PCOS” susceptibility and pathogenesis. *J. Ovarian Res.* 2021; 14: 1–21.
46. Kaur R, Kaur T, Sudhir N, Kaur A. Association Analysis of CYP11A1 variants with “PCOS”: A case-control study from North India. *Reprod. Sci.* 2021; 28: 2951–2960.
47. Zeng X, Xie YJ, Liu YT, Long SL, Mo ZC. Polycystic ovarian syndrome: Correlation between hyperandrogenism, insulin resistance and obesity. *Clin. Chim. Acta.* 2020; 502: 214–221.
48. De Leo V, Musacchio MC, Cappelli V, Massaro MG, Morgante G, Petraglia F. Genetic, hormonal and metabolic aspects of “PCOS”: An update. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2016; 14: 1–17.
49. Otto-Buczowska E, Gliwice MSCI, Grzyb K, Jainta N.” PCOS” (“PCOS”) and the accompanying disorders of glucose homeostasis among girls at the time of puberty. *Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab.* 2018; 24: 40–44.

50. Zhang J, Yang M, Luan P, Jia W, Liu Q, Ma Z, Dang J, Lu H, Ma Q, Wang Y. Associations between cytochrome P450 (CYP) gene single-nucleotide polymorphisms and second-to-fourth digit ratio in Chinese university students. *Med Sci. Monit.* 2021; 27: e93059.
51. Wang M, Strand MJ, Lanser BJ, Santos C, Bendelja K, Fish J, Esterl EA, Ashino S, Abbott JK, Knight V. Expression and activation of the steroidogenic enzyme CYP11A1 is associated with IL-13 production in T cells from peanut allergic children. *PLoS ONE.* 2020; 15: e0233563.
52. Reddy KR, Deepika MLN, Supriya K, Latha KP, Rao SSL, Rani VU, Jahan P. CYP11A1 microsatellite (TTTA)_n polymorphism in “PCOS” women from South India. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014; 31: 857–863.
53. Gharani N, Waterworth DM, Batty S, White D, Gilling-Smith C, Conway GS, McCarthy M, Franks S, Williamson R. Association of the steroid synthesis gene Cyp11a with “PCOS” and hyperandrogenism. *Hum. Mol. Genet.* 1997; 6: 397–402.
54. Pérez MS, Cerrone G, Benencia H, Márquez N, De Piano E, Frechtel GD. Polymorphism in CYP11 α and CYP17 genes and the etiology of hyperandrogenism in patients with “PCOS”. *Medicina.* 2008; 68: 129–134.
55. Prazakova S, Vaňková M, Bradnova O, Lukášová P. [(TTTTA)_n], polymorphism in the promoter of the CYP11A1 gene in the pathogenesis of “PCOS” Institute of Endocrinology. *Casopis Lékařů Českých.* 2010; 149(11): 5-520
56. Diamanti-Kandarakis E, Bartzis M, Bergiele AT, Tsianateli TC, Kouli CR. Microsatellite polymorphism (TTTA)_n at –528 base pairs of gene CYP11 α influences hyperandrogenemia in patients with “PCOS”. *Fertil. Steril.* 2000; 73: 735–741.
57. Pusalkar M, Meherji P, Gokral J, Chinnaraj S, Maitra A. CYP11A1 and CYP17 promoter polymorphisms associate with hyperandrogenemia in “PCOS”. *Fertil. Steril.* 2009; 92: 653–659.
58. Zhang CW, Zhang XL, Xia YJ, Cao YX, Wang WJ, Xu P, Che YN, Wu XK, Yi L, Gao Q. Association between polymorphisms of the CYP11A1 gene and “PCOS” in Chinese women. *Mol. Biol. Rep.* 2012; 39: 8379–8385.

59. Abdel-Mageed WS, Dabous E, Gerguis A. Association between polymorphisms of the CYP11A1 gene and “PCOS” in egyptian female. *Res. J. Appl. Biotechnol.* 2016; 2: 19–28.
60. Liu T, Huang Y, Lin H. Estrogen disorders: Interpreting the abnormal regulation of aromatase in granulosa cells (Review) *Int. J. Mol. Med.* 2021; 47: 1–12.
61. Zaidi SK, Shen WJ, Cortez Y, Bittner S, Bittner A, Arshad S, Huang TT, Kraemer FB, Azhar S. SOD2 deficiency-induced oxidative stress attenuates steroidogenesis in mouse ovarian granulosa cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2020; 519: 110888.
62. Jiao X, Chen W, Zhang J, Wang W, Song J, Chen D, Zhu W, Shi Y, Yu X. Variant Alleles of the ESR1, PPARG, HMGA2, and MTHFR genes are associated with “PCOS” risk in a chinese population: A case-control study. *Front. Endocrinol.* 2018; 9: 504.
63. Li T, Guijin Z. Role of the pentanucleotide (tttta)_n polymorphisms of CYP11 α gene in the pathogenesis of hyperandrogenism in chinese women with “PCOS”. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol.* 2005; 25: 212–214.
64. Millán JS. Role of the pentanucleotide (tttta)_n polymorphism in the promoter of the CYP11 α gene in the pathogenesis of hirsutism. *Fertil. Steril.* 2001; 75: 797–802.
65. Fathy P, Cheraghi E, Miresmaeili SM. Association Between Single Nucleotide Polymorphisms (rs1484215 and rs6495096) in CYP11A1 Gene in Iranian Women with “PCOS”. *J Reprod Infertil.* 2023; 24(1): 18-25.
66. Hao CF, Bao HC, Zhang N, Gu HE, Chen ZJ. Evaluation of association between the CYP11 α promoter pen-tannucleotide (TTTTA)_n polymorphism and polycystic ovarian syndrome among Han Chinese women. *Neuroendocrinol. Lett.* 2009; 30: 56–60.
67. Shen W, Li T, Hu Y, Liu H, Song M. Common polymorphisms in the CYP1A1 and CYP11A1 genes and “PCOS” risk: A meta-analysis and meta-regression. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2013; 289: 107–118.
68. Gaasenbeek M, Powell BL, Sovio U, Haddad L, Gharani N, Bennett A, Groves CJ, Rush K, Goh MJ, Conway GS. Large-scale analysis of the relationship between

- CYP11A promoter variation, polycystic ovarian syndrome, and serum testosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 2408–2413.
69. Masiutin M, Yadav M. "Alternative androgen pathways". *WikiJournal of Medicine.* 2023; 10.
70. Slominski A, Zjawiony J, Wortsman J, Semak I, Stewart J, Pisarchik A, Sweatman T, Marcos J, Dunbar C. A novel pathway for sequential transformation of 7-dehydrocholesterol and expression of the P450scc system in mammalian skin, *Eur J Biochem.* 2004; 271: 4178–88.
71. Slominski RM, Tuckey RC, Manna PR, Jetten AM, Postlethwaite A, Raman C and Slominski AT. Extra-adrenal glucocorticoid biosynthesis: implications for autoimmune and inflammatory disorders, *Genes Immun.* 2020; 21: 150–168.
72. Gelfand EW, Joetham A, Wang M, Takeda K and Schedel M. Spectrum of T-lymphocyte activities regulating allergic lung inflammation, *Immunol Rev.* 2017; 278: 63–86.
73. Slominski AT, Kim TK, Li W, Yi AK, Postlethwaite A, Tuckey RC. The role of CYP11A1 in the production of vitamin D metabolites and their role in the regulation of epidermal functions, *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014; 144: 28–39.
74. Tuckey RC, Cheng CYS, Slominski AT. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover, *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019; 186: 4–21.
75. Louwers Y, Stolk L, Uitterlinden A, Laven J. Cross-ethnic meta-analysis of genetic variants for “PCOS”. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98: E2006–E2012.
76. Xita N, Georgiou I, Lazaros L, Psofaki V, Kolios G, Tsatsoulis A. The role of sex hormone-binding globulin and androgen receptor gene variants in the development of “PCOS”. *Hum. Reprod.* 2008; 23: 693–698.
77. Altmäe S, Haller K, Peters M, Saare M, Hovatta O, Stavreus-Evers A, Velthut A, Karro H, Metspalu A, Salumets A. Aromatase gene (CYP19A1) variants, female infertility and ovarian stimulation outcome: A preliminary report. *Reprod. Biomed. Online.* 2009; 18: 651–657.

78. Lee SJ, Kim WY, Choi JY, Lee SS, Shin JG. Identification of CYP19A1 single-nucleotide polymorphisms and their haplotype distributions in a Korean population. *J. Hum. Genet.* 2010; 55: 189–193.
79. Setiawan VW, Doherty JA, Shu XO, Akbari MR, Chen C, De Vivo I, DeMichele A, Garcia-Closas M, Goodman MT, Haiman CA. Two estrogen-related variants in CYP19A1 and endometrial cancer risk: A pooled analysis in the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium. *Cancer Epidemiol. Prev. Biomark.* 2009; 18: 242–247.
80. Wang L, Lu X, Wang D, Qu W, Li W, Xu X, Huang Q, Han X. CYP19 gene variant confers susceptibility to endometriosis-associated infertility in Chinese women. *Exp. Mol. Med.* 2014; 46: e103.
81. Lazaros LA, Hatzi EG, Xita NV, Makrydimas GV, Kaponis AI, Takenaka A, Kosmas IP, Sofikitis NV, Stefos TI, Zikopoulos KA. Aromatase (CYP19) gene variants influence ovarian response to standard gonadotrophin stimulation. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2012; 29: 203–209.
82. Wang Y, Zhang XL, Zhang CW, Xu P, Liang FJ, Che YN, Xia YJ, Cao YX, Wu XK, Wang WJ. SNP rs2470152 in CYP19 is correlated to aromatase activity in Chinese “PCOS” patients. *Mol. Med. Rep.* 2011; 5: 245–249.
83. Lazaros L, Xita N, Hatzi E, Takenaka A, Kaponis A, Makrydimas G, Sofikitis N, Stefos T, Zikopoulos K, Georgiou I. CYP19 gene variants affect the assisted reproduction outcome of women with “PCOS”. *Gynecol. Endocrinol.* 2013; 29: 478–482.
84. Mehdizadeh A, Kalantar SM, Sheikhha MH, Aali BS, Ghanei A. Association of SNP rs.2414096 CYP19 gene with polycystic ovarian syndrome in Iranian women. *Int. J. Reprod. Biomed.* 2017; 15: 491–496.
85. Goldstone J, Sundaramoorthy M, Zhao B, Waterman MR, Stegeman JJ, Lamb DC. Genetic and structural analyses of cytochrome P450 hydroxylases in sex hormone biosynthesis: Sequential origin and subsequent coevolution. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2016; 94: 676–687.

86. Kaur R, Kaur T, Kaur A. Genetic association study from North India to analyze association of CYP19A1 and CYP17A1 with “PCOS”. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2018; 35: 1123–1129.
87. Feng-Jing L, Sun J, Ge HJ, Cao YX, Wu XK, Liang FJ, Sun HX, Xiao-Ke W, Yi L, Wu ZW. Association between CYP19 gene SNP rs2414096 Polymorphism and “PCOS” in Chinese women. *BMC Med. Genet.* 2009; 10: 139.
88. Xita N, Lazaros L, Georgiou I, Tsatsoulis A. CYP19 gene: A genetic modifier of “PCOS” phenotype. *Fertil. Steril.* 2010; 94: 250–254.
89. Che X, Jian F, Chen C, Liu C, Liu G, Feng W.” PCOS” serum-derived exosomal miR-27a-5p stimulates endometrial cancer cells migration and invasion. *J. Mol. Endocrinol.* 2020; 64: 1–12.
90. Lees B, Hampton JM, Trentham-Dietz A, Newcomb P, Spencer R. A population-based study of causes of death after endometrial cancer according to major risk factors. *Gynecol. Oncol.* 2021; 160: 655–659.
91. Zhu T, Cui J, Goodarzi MO. “PCOS” and Risk of Type 2 Diabetes, Coronary Heart Disease, and Stroke. *Diabetes.* 2020; 70: 627–637.
92. Ayyob AN, Al-Badran AI, Abood RA. Association of TTTA polymorphism in CYP19 gene with endometrial and ovarian cancers risk in Basrah. *Gene Rep.* 2019; 16: 100453.
93. Harris HR, Terry KL. ”PCOS” and risk of endometrial, ovarian, and breast cancer: A systematic review. *Fertil. Res. Pract.* 2016; 2: 1–9.
94. Kusum K, Patel S, Chaube R, Ashish A, Rai S. Aromatase gene polymorphism (rs2470152) in “PCOS” patients of eastern Uttar Pradesh. *J. Clin. Diagn. Res.* 2020; 3–8.
95. Mostafa RA, Al-Sherbeeny MM, Fahmy AA, Farghali MM, Abdel-Fatah MA, Mahran MZ. Relation between aromatase gene CYP19 variation and hyperandrogenism in “PCOS” Egyptian women. *J. Infertil. Reprod. Biol.* 2016; 4: 1–5.

96. Rezaee M, Asadi N, Pournalborz Y, Ghodrat M, Habibi S. A Review on Glycosylated Hemoglobin in Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2016; 29(6): 562-566.
97. Lerchbaum E, Schwetz V, Giuliani A. Assessment of glucose metabolism in polycystic ovary syndrome: HbA1c or fasting glucose compared with the oral glucose tolerance test as a screening method. *Human Reproduction*. 2013; 28(9): 2537-2544.
98. Numbi D, Dophie T, Luzolo G, Nyota P, Ngandu P, Zita M, et al. Importance of the Glycated Hemoglobin Assay in Congolese Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Case-Control Study in Kinshasa, DR Congo. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019; 09: 1492-1509.
99. Rostami Dovom M, Rahmati M, Amanollahi Soudmand S, Ziaeefar P, Azizi F, Ramezani Tehrani F. The Hidden Link between Polycystic Ovary Syndrome and Kidney Stones: Finding from the Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). *Diagnostics*. 2022; 13(17): 2814.
100. El-Eshmawy MM, Ibrahim A, Bahriz R. Serum uric acid/creatinine ratio and free androgen index are synergistically associated with increased risk of polycystic ovary syndrome in obese women. *BMC Endocr Disord* 2022; 22: 315.
101. Mansour A, Mirahmad M, Mohajeri-Tehrani MR, Jamalizadeh M, Hosseinimousa S, Rashidi F, Asili P, Sajjadi-Jazi SM. Risk factors for insulin resistance related to polycystic ovarian syndrome in Iranian population. *Scientific Reports*. 2023; 13.
102. Güngör K, Dokuzeylül Güngör N. The Relationship between Anti-mullerian Hormone and Prolactin Levels in Polycystic Ovarian Syndrome. *AJFAMED* 2023; 6(3): 128–134.
103. Xing C, Zhang J, Zhao H, He B. Effect of Sex Hormone-Binding Globulin on Polycystic Ovary Syndrome: Mechanisms, Manifestations, Genetics, and Treatment. *International Journal of Women's Health*. 2022; 14: 91-105.
104. Fan H, Ren Q, Sheng Z, Deng G, Li L. The role of the thyroid in polycystic ovary syndrome. *Front. Endocrinol*. 2023; 14: 1242050.

105. Kirkegaard S, Uldall Torp NM, Andersen S. Endometriosis, polycystic ovary syndrome, and the thyroid: a review. *Endocrine Connections*. 2024; 13(2): e230431.
106. Sharif HY. Serum leptin level-insulin resistance-based correlation in polycystic ovary syndrome obese and non-obese sufferer female. *Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology*. 2022; 29(02): 11-19.
107. Peng Y, Yang H, Song J, Feng D, Na Z, Jiang H, Meng Y, Shi B, Li D. Elevated Serum Leptin Levels as a Predictive Marker for Polycystic Ovary Syndrome. *Front. Endocrinol*. 2022; 13: 845165.
108. Ramanand SJ, Ramanand JB, Jain SS, Raparti GT, Ghanghas RR, Halasawadekar NR, Patil PT, Pawar MP. Leptin in non PCOS and PCOS women: a comparative study. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2017; 3(1): 186–193.
109. Ajmal N, Khan SZ, Shaikh R. Polycystic ovary syndrome (PCOS) and genetic predisposition: A review article. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2019; 8: 100060.
110. Ashraf S, Rasool SUA, Nabi M, Ganie MA, Jabeen F, Rashid F, Amin S. CYP17 gene polymorphic sequence variation is associated with hyperandrogenism in Kashmiri women with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol. Endocrinol*. 2021; 37: 230–234.

EKLER

Ek 1: ETİK KURUL İZNI

University of Baghdad
College of Science
Ethics Committee
csec@sc.uobaghdad.edu.iq

December 8, 2023
Ref.: CSEC/1223/0128

To: Dr. Ali Hafedh Abbas

Proposal title: Investigating of the CYP11A1 and CYP19A1 Gene Polymorphism in Patients with polycystic ovaries in Iraqi women

Approval letter

Dear Dr. Ali Hafedh Abbas,

The College of Science Research Ethics Committee has recently reviewed and discussed your application to conduct the research proposal and documents outlined below in the Tropical Biological Research Unit.


1. The proposal description.
2. Consent Form.

The College of Science Research Ethics Committee approves the research proposal to be conducted in the presented form. None of the investigators and co-investigators participating in this study took part in the decision-making and voting procedure for this study.


The College of Science Ethics Research Committee expects to be informed about the progress of the study, any serious adverse events occurring in the course of the study, any revision in the protocol and patient information/informed consent and ask to be provided with a copy of the final report.

This committee is working following College of Science guidelines on biomedical research.

Truly yours,



Prof. Harith Jabbar Fahad Al-Mathkhury, Ph.D.
The Chair of The College of Science Research Ethics Committee



Ek 2: Sözlü sunum sertifikaları



Ek 3: Özgeçmiş

<u>Kişisel</u> <u>Bilgiler</u>	
Adı, Soyadı	Sarah Shamil Blasim
Doğum Yeri - Tarihi	
Uyruğu	IRAK
Yabancı Dili	İngilizce

<u>Eğitim</u> <u>Bilgileri</u>	
<u>Lisans</u>	
Üniversite	Misan Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	2015

<u>Eğitim</u> <u>Bilgileri</u>	
<u>Yüksek Lisans:</u>	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Tıp
Mezuniyet Yılı	