



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**ERGENLİK POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA
SERUM ENDOTROFİN SEVİYELERİNİN
BİYOBELİRTEÇ POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ÇAĞLA EMİRAL

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

OCAK 2025



**ERGENLİK POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA SERUM
ENDOTROFİN SEVİYELERİNİN BİYOBELİRTEÇ POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Çağla EMİRAL

**DOKTORA TEZİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2025

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Çağla EMİRAL

04/01/2025

ERGENLİK POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA SERUM ENDOTROFİN SEVİYELERİNİN BİYOBELİRTEÇ POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Çağla EMİRAL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2025

ÖZET

Polikistik over sendromu (PKOS), nedenleri ve etiyolojisi tam olarak bilinmeyen, kadınlarda heterojen bir bozukluk olarak ortaya çıkan endokrin bir sendromdur. Tipik olarak ergenlik döneminde ortaya çıkar ve yüksek androjen seviyeleri en belirgin biyokimyasal anormalliktir. Endotrofin, hücre dışı matrikste bulunan kolajen tip VI'nın A3 α kolunun bozunma ürünü olan bir peptid olarak tanımlanmıştır. Yağ hücrelerinden bol miktarda salgınır ve metabolik düzensizliğe, inflamasyona, fibrozise ve tümör destekleyici özelliğe sahiptir. Bir periselüler kolajenaz olan matriks metalloproteinaz 14 (MMP14) endotrofini üretmek için Kolajen VI'yı substrat olarak kullanmaktadır. Polikistik over sendromlu ergenlerde endotrofinin ve onu üreten MMP14'ün serum düzeyleri, inflamasyon sitokinleri ve MMP14 6767 gen polimorfizmi ile ilişkisini ortaya çıkarmayı amaçladık. Çalışmamıza normal kiloda PKOS'lu 50 ergen, aşırı kilolu PKOS'lu 100 ergen, aşırı kilolu 41 ergen ve sağlıklı 98 ergen dahil edilmiştir. Ergenlerden alınan serum örneklerinden serum endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6 ve IL-8 düzeyleri ticari Elisa kit yardımıyla belirlenmiştir. Ayrıca ergenlerden alınan tam kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış ve MMP14 6767 gen polimorfizmi çalışılmıştır. Normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum endotrofin değerleri, aşırı kilolu, sağlıklı kontrol grubu ve aşırı kilolu PKOS gruplarındaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,001$ ve $p=0,009$ sırasıyla). Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum endotrofin değerleri aşırı kilolu ergenlere göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Normal kilolu PKOS'lu ergenlerin serum MMP14 düzeyleri, kontrol grubu ergenlerin serum MMP14 düzeylerinden anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Aşırı kilolu PKOS ve aşırı kilolu ergen gruplarının serum MMP14 seviyeleri, kontrol grubu ergenlerin serum MMP14 seviyelerine göre belirgin bir şekilde yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır ($p>0,05$). MMP14 6767 gen polimorfizmi ile endotrofin serum düzeyleri arasındaki ilişki karşılaştırıldığında, MMP14 6767 AG aleli normal kilolu PKOS'lu grupta anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). Elde ettiğimiz sonuçlara göre endotrofin değerleri AG genotipine sahip normal kilolu PKOS'lularda GG genotipine göre daha yüksek bulunmuştur. TNF- α , IL-6 ve PAI1 düzeyleri gruplar arasında farklılıklar göstermiştir. Aşırı kilolu PKOS grubunda endotrofin ile IL-8 ve PAI1 arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir (0,242/0,020 ve 0,248/0,022, sırasıyla). Sonuçlarımıza göre, endotrofin düzeylerinin normal kilolu PKOS'lu ergenlerde, sağlıklı, aşırı kilolu PKOS'lu ve aşırı kilolu ergenlere göre yüksek çıkması endotrofinin obeziteden bağımsız bir faktör olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 10103.11
Anahtar Kelimeler : PKOS, Endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8, gen polimorfizmi.
Sayfa Adedi : 124
Danışman : Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN

INVESTIGATION OF THE BIOMARKER POTENTIAL OF SERUM ENDOTROPHIN LEVELS IN ADOLESCENT POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME

(Ph. D. Thesis)

Çağla EMİRAL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2025

ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine syndrome that occurs as a heterogeneous disorder in women, the causes and etiology of which are not fully known. It typically occurs during puberty and high androgen levels are the most prominent biochemical abnormality. Endotrophin has been defined as a peptide that is a degradation product of the A3 α arm of collagen type VI found in the extracellular matrix. It is released in large amounts from fat cells and has metabolic dysregulation, inflammation, fibrosis and tumor-supporting properties. Matrix metalloproteinase 14 (MMP14), a pericellular collagenase, uses Collagen VI as a substrate to produce endotrophin. We aimed to investigate the relationship between serum levels of endotrophin and its producer MMP14, inflammatory cytokines and MMP14 6767 gene polymorphism in adolescents with polycystic ovary syndrome. Our study included 50 normal weight adolescents with PCOS, 100 overweight adolescents with PCOS, 41 overweight adolescents and 98 healthy adolescents. Serum endotrophin, MMP14, TNF- α , IL-6 and IL-8 levels were determined from serum samples taken from adolescents by using a commercial ELISA kit. In addition, DNA was isolated from whole blood samples taken from adolescents and MMP14 6767 gene polymorphism was studied. Serum endotrophin values in adolescents in the normal weight PCOS group were found to be significantly higher than in adolescents in the overweight, healthy control and overweight PCOS groups ($p=0.001$, $p=0.001$ and $p=0.009$, respectively). Although serum endotrophin levels in the overweight PCOS group were higher than those in the overweight adolescents, no statistical significance was found ($p>0.05$). Serum MMP14 levels in normal weight PCOS adolescents were significantly higher than those in the control group adolescents ($p<0.05$). Although serum MMP14 levels in the overweight PCOS and overweight adolescent groups were significantly higher than those in the control group adolescents, no statistical significance was found ($p>0.05$). When the relationship between the MMP14 6767 gene polymorphism and endotrophin serum levels was compared, the MMP14 6767 AG allele was found to be significantly higher in the normal weight PCOS group ($p<0.05$). According to our results, endotrophin values were found to be higher in normal weight PCOS patients with the AG genotype than in those with the GG genotype. TNF- α , IL-6 and PAI1 levels differed between groups. A positive correlation was observed between endotrophin and IL-8 and PAI1 in the overweight PCOS group (0.242/0.020 and 0.248/0.022, respectively). According to our results, the higher endotrophin levels in normal weight PCOS adolescents compared to healthy, overweight PCOS and overweight adolescents indicate that endotrophin can be considered as a factor independent of obesity.

Science Code : 10103.11
Keywords : PCOS, Endotrophin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8, gene polymorphism.
Page Number : 124
Supervisor : Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde ve tüm lisans üstü öğrenim sürecim boyunca değerli bilgilerini, deneyimlerini, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen, bana ilham veren, inancımı ve kararlılığımı kaybetmeme izin vermeyen, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN'a sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunuyorum. Gen polimorfizmi çalışmasında bana rehberlik eden çok değerli hocam Prof. Dr. Bensu KARAHALİL'e ve çalışmalarımda yardımcı olan Dr. Aylin ELKAMA'ya, örnek toplamamda katkısı olan Prof. Dr. Ayşe Derya BULUŞ'a ve Dr. Yüksel YAŞARTEKİN'e ve benden desteğini esirgemeyen Dr. Ece MİSER SALİHOĞLU'na teşekkürü borç bilirim. Bu zorlu süreçte küçük yaşına rağmen büyük bir sabırla ve olgunlukla beni destekleyen en büyük şansım canım oğlum Alp Mete'ye, tüm zorlukları benimle birlikte göğüsleyen çok değerli aileme, Samet GÜRSOY'a ve bana destek olan tüm çalışma arkadaşlarıma, yöneticilerime ve Emrah KÖMÜRCÜ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Biriminin TDK-2023-8311 numaralı yüksek lisans tez projesi ve TÜBİTAK Araştırma Destek Projesi Başkanlığı (ARDEB) 324S257 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Polikistik Over Sendromu (PKOS)	3
2.1.1. PKOS'un genetik faktörleri	6
2.1.2. PKOS'ta çevresel etkiler.....	7
2.1.3. PKOS'ta hormonal değişiklikler.....	7
2.1.4. PKOS ve ROT (Reaktif Oksijen Türleri.....	10
2.1.5. PKOS ve inflamasyon sitokinleri	12
2.1.6. PKOS ve obezite.....	17
2.1.7. PKOS ve infertilite	20
2.2.Ergenlikte PKOS	20
2.2.1. Ergenlerde PKOS ve obezite ilişkisi.....	24
2.3.Kolajen VI ve Endotrofin	26
2.3.1. Kolajen VI	26
2.3.2. Kolajen VI $\alpha 3$	28
2.3.3. Endotrofin	29
2.4.MMP Gen Ailesi.....	34

	Sayfa
2.4.1. MMP14	37
2.4.2. MMP14 gen polimorfizmi	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	45
3.2. Çalışma Grubu.....	45
3.2.1. PKOS ergen grubu	47
3.2.2. Aşırı kilolu ergen grubu.....	47
3.2.3. Aşırı kilolu PKOS’lu ergen grubu	48
3.2.4. Sağlıklı ergen grubu.....	49
3.2.5. Çalışmaya dahil edilme kriterleri.....	49
3.2.6. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri.....	49
3.3. Deneysel Ölçümler	50
3.3.1. ELISA kitleri	50
3.3.2. Gen Polimorfizmi Çalışması.....	62
3.4. İstatistiksel Analiz	68
4. BULGULAR.....	69
4.1. Rutin Biyokimyasal ve Hormonal Parametreler.....	70
4.2. Endotrofin, MMP14 ve İnflamasyon Sitokinlerinin Sonuçları	72
4.3. MMP14 +6767 gen polimorfizmi çalışması sonuçları	77
4.4. Obezite durumuna ve PKOS’a göre endotrofin, MMP14 ve inflamasyon sitokinleri.....	82
4.5. Parametreler Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi	83
5. TARTIŞMA.....	87
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	99
KAYNAKLAR.....	103
EKLER	119

Sayfa

EK-1. Etik Kurul Onayı.....	120
EK 2. Anket Formu.....	122
ÖZGEÇMİŞ	124

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3. 1. Endotrofin standart çözeltilerinin absorbens değerleri	51
Çizelge 3. 2. Serum MMP14 standart çözeltilerinin absorbens değerleri.....	53
Çizelge 3. 3. Serum TNF- α standart çözeltilerinin absorbens değerleri	55
Çizelge 3. 4. Serum IL-6 standart çözeltilerinin absorbens değerleri.....	57
Çizelge 3. 5. Serum IL-8 standart çözeltilerinin absorbens değerleri.....	59
Çizelge 3. 6. Serum PAI1 standart çözeltilerinin absorbens değerleri	61
Çizelge 3. 7. Kullanılan Primer Dizileri	67
Çizelge 4.1. Çalışmaya katılan ergenlerin başlıca özellikleri	69
Çizelge 4.2. Çalışmaya katılan ergenlerin rutin biyokimya ve hormon testleri.....	70
Çizelge 4.3. Çalışmaya katılan ergenlerin endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI1 düzeylerinin ilişkisi.....	72
Çizelge 4.4. <i>MMP14</i> +6767 gen polimorfizmi PKOS ve kontrol grupları ilişkisi.....	78
Çizelge 4.5. Gruplara göre olguların gen polimorfizmi açısından dağılımları	78
Çizelge 4.6. Tüm ergenlerde serum endotrofin ve MMP14 düzeylerinin <i>MMP14</i> +6767 A/G gen polimorfizmi ilişkisi.	79
Çizelge 4.7. Obezite durumuna ve PKOS'a göre endotrofin, MMP14, IL-6, IL-8 ve PAI1 sonuçları.....	82
Çizelge 4.8. Tüm çalışma grupları arasındaki endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI1 düzeyleri arasındaki ilişki.	84
Çizelge 4.9. Endotrofinin gruplara göre yaş, BKİ, serum biyokimyasal ve hormonal parametreler ile ilişkisi.....	85

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1. Normal over ve polikistik over ultrason görüntüsü	5
Şekil 2.2. Hipotalamus – Hipofiz – Yumurtalık arasında üreme sistemi eksenini	8
Şekil 2. 2. Sağlıklı ve sağlıksız alışkanlıkların PKOS gelişimindeki rolü.....	18
Şekil 2. 3. Kolajenin monomer, dimer, tetramer ve mikrofibril formları	26
Şekil 2. 4. Kolajen VI domain yapısının şematik diyagramı	28
Şekil 2. 5. Endotrofinin beyaz yağ dokusunun farklı hücre popülasyonlarında işlevleri için çalışma modeli	30
Şekil 2. 6. Tümör ilerlemesine ve kemoterapi direncine katkıda bulunan kolajen VI için sinyal yollarının şematik diyagramı	32
Şekil 2. 7. Tipik bir MMP ve MMP-14'ün korunan alanları.....	35
Şekil 2. 8. Tümör invazyonu, tümör ilerlemesi, anjiyojenez ve metastaz sürecinde MMP-2, MMP-9, MMP-14, TIMP-1, TIMP-2 ve VEGF-A	36
Şekil 2. 9. MMP14'ün 3 boyutlu yapısı.....	37
Şekil 2. 10. MMP14'ün plazma membran ekspresyonu.....	38
Şekil 2. 11. Homo sapiens'teki MMP14 geninin ekzon ve intron yapısı	43
Şekil 3.1. Endotrofin kalibrasyon grafiği.....	52
Şekil.3.2. MMP14 kalibrasyon grafiği.....	54
Şekil 3.3. TNF-a kalibrasyon eğrisi.	56
Şekil 3.4. IL-6 kalibrasyon eğrisi.....	58
Şekil3.5. IL-8 Kalibrasyon Eğrisi	60
Şekil 3.6. PAI1 kalibrasyon eğrisi	62
Şekil 4.1. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum Endotrofin düzeyleri	73
Şekil 4.2. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum MMP14 düzeyleri	74
Şekil 4.3. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum TNF- α düzeyleri.....	74
Şekil 4.4. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum IL-6 düzeyleri.....	75
Şekil 4.5. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum IL-8 düzeyleri.....	76

Şekil	Sayfa
Şekil 4.6. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum PAI1 düzeyleri	76
Şekil 4.8. Kruskal-Wallis testi AG genotipi Endotrofin düzeyleri	80
Şekil 4.9. Kruskal-Wallis testi GG genotipi Endotrofin düzeyleri	80
Şekil 4.10. Kruskal-Wallis testi AG genotipi MMP14 düzeyleri	81
Şekil 4.11. Kruskal-Wallis testi GG genotipi MMP14 düzeyleri	81

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. MMP14 6767 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü.....	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı kısaltmalar açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

α

Alfa

β

Beta

Kısaltmalar

Açıklama

AMH

Antimüllerian hormon

BKİ

Beden kitle indeksi

Col6

Kolajen 6

CRP

C reaktif protein

DM

Tip 2 diyabet

ECM

Ekrtraselüler matriks

ETP

Endotrofin

FSH

Folikül uyarıcı hormon

GnRH

Gonadotropin salgılatıcı hormon

HOMA-IR

İnsülin direnci için homoestaz modeli değerlendirmesi

IGT

Bozulmuş glikoz toleransı

IL-6

İnterlökin 6

IL-8

İnterlökin 8

KVH

Kardiovasküler hastalık

LEAP-2

Karaciğerle zenginleştirilmiş antimikrobiyal peptid 2

LH

Lüteinize edici hormon

MMP

Matriks metalloproteinaz

MTMMP

Membran tipi matriks metalloproteinaz

PAI1

Plazminojen aktivatör inhibitör 1

PKOS

Polikistik over sendromu

TG

Trigliserit

TK

Total kolesterol

TME

Tümör mikroçevresi

Kısaltmalar**Açıklama****TNF- α**

Tümör nekroz faktör alfa

WHO

Dünya sağlık örgütü

1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS), genellikle ergenlik döneminde ortaya çıkan, dünya çapında ergen ve genç yetişkin kadınların yaklaşık %10-20'sinde görülen yaygın kronik ve endokrin bir bozukluktur. Polikistik over sendromu, kadınların karşılaştığı tüm endokrin bozuklukların en yaygın olanı olarak kabul edilir. Bozukluğun kronik yapısı ve çok sayıda sağlık sorunuyla ilişkisi göz önüne alındığında, PKOS'un doğru teşhisi halk sağlığı açısından kritik öneme sahiptir [1-3].

Temel özellikleri yumurtlama bozukluğu, insülin direnci, hirsutizm, kısırlık ve akne gibi ciddi semptomlara yol açan overlerin aşırı androjen üretimidir [4]. Hormonal dengesizlikler sonucu yumurtalık foliküllerinde birden fazla kist oluştuğunda 'Polikistik Over Sendromu' olarak adlandırılır. Polikistik over sendromuna sahip kadınlarda yumurtlama engellendiği için hamile kalmak da zorlaşır [5].

PKOS'a neden olan faktörler birden çoktur. Genetik, kimyasal maruziyetler veya yaşam tarzı farklılıkları ve bunların kombinasyonları PKOS'a neden olabilir [5].

PKOS'un belirti ve semptomları tipik olarak ergenlik döneminde ortaya çıkar. Ancak PKOS'un klinik ve laboratuvar özellikleri ergenliğin fizyolojik özelliklerini taklit eder. Geçici postmenarşel anovülasyon ve multikistik overlerle karakterize olan ergenliğin normal varyantı, PKOS ile ilişkili kalıcı anovülasyon ve polikistik over morfolojisinden kolayca ayırt edilemez [6].

PKOS'un temel özelliklerinden biri, over fibrozisi ile ilişkili olan hiperandrojenizmdir. Artmış androjen üretimini yönlendiren potansiyel faktör olan hiperinsülinemi PKOS'ta yaygındır. Ayrıca kronik inflamasyon da PKOS'un patofizyolojik mekanizmalarında yer almaktadır [7].

Son yıllarda yapılan ileri çalışmalar, inflamasyon süreçlerinin yumurtlamada ve over foliküler dinamiklerinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Visseral yağ dokusu adipositlerde inflamasyon tepkisine ve inflamasyon durumunun sürdürülmesine neden

olabilir. Bu nedenle, PKOS düşük dereceli bir inflamasyon durumu ve inflamasyon belirteçleriyle ilişkili olabilmektedir [4].

Endotrofin, yeni keşfedilen bir adipokin olarak, tip VI kollajenin A3 α zincirinin çözünür bir proteolitik ürünüdür. Özellikle yağ dokusunda inflamasyon, kemotaksi, apoptoz, anjiyojenez ve miyofibroblast birikiminin düzenlenmesi gibi birçok olayda önemli bir rol oynar. Bu birikim sonunda hem yağ dokusunun hem de vücuttaki diğer dokuların hücre dışı ortamında fibrozise yol açar. Endotrofin proinflamatuvar sitokinleri artırır ve insülin direncine neden olur. Ayrıca diabetes mellitus, ateroskleroz, metabolik sendrom patolojileri ve meme ve kolon kanserleri gibi bazı kanser patolojileriyle de ilişkilidir [8].

Matriks metalloproteinazlar (MMP), tümör gelişimi ve ilerlemesi sırasında ekstraselüler matrikste meydana gelen değişikliklerin birçoğunu aracılık eden bir grup proteolitik enzimdir. İnsanlarda, 6 farklı membran tipi matriks metalloproteinaz (MT-MMP) tanımlanmıştır. MMP14 ilk olarak tümör hücresi istilasını başlatmak için pro-MMP2'yi aktive eden bir transmembran protein olarak tanımlanmıştır [9]. MMP14'ün obez yağ dokusunda aşırı ifade edildiği ve COL6 α 3'ün sindirerek MMP14'ün fibrozis ve inflamasyonun güçlü bir yardımcı uyarıcısı olan endotrofini ürettiği keşfedilmiştir [10].

PKOS'lu kadınların, PKOS'suz kadınlara kıyasla endometrial kanser geliştirme olasılığı yaklaşık üç kat daha fazla olarak bulunmuştur. PKOS'lu kadınların çoğu (%91) endometriyal kanser geliştirmese de yapılan çalışmalar bu kadınların daha yüksek risk altında olduğunu göstermiştir [11].

Bu çalışmada, PKOS, obez ve sağlıklı ergenlerdeki yeni adipokin endotrofinin serum düzeylerinin karşılaştırılması ve onu parçalayan enzim MMP14'ün gen polimorfizminin diğer inflamasyon sitokinleri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Polikistik over sendromu (PKOS), Stein-Leventhal sendromu olarak da bilinir ve ilk olarak 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından ortaya atılmıştır [12]. Premenopozal kadınlar arasında Polikistik Over Sendromu (PKOS), üreme sistemini ve metabolik ritimleri etkileyen ve adet düzensizlikleri, kısırlık, akne, hirsutizm ve metabolik bozukluklar gibi çeşitli semptomları kapsayan en yaygın endokrinopatidir [13, 14]. PKOS ilk olarak oligomenore ve polikistik over sendromu olarak tanımlanmıştır [15]. Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (ESHRE) ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) tarafından belirlenen kriterlere göre, kadınların yaklaşık %15-20'sine PKOS teşhisi konulmaktadır [16]. Ayrıca PKOS, belirti ve semptomların bir kombinasyonunu içerdiğinden, heterojen bir bozukluk olarak kabul edilir [2].

Polikistik over sendromu (PKOS) ile endometrial karsinom arasındaki ilişki ilk olarak 1949'da öne sürüldü. O zamandan beri, bu ilişkiyi destekler görünen birkaç çalışma yayınlanmıştır [17].

Son derece yaygın olmasına rağmen, başlıca semptomların yaşa göre değişebilmesi ve tedavinin bireysel ihtiyaçların özel gereksinimlerine göre düzenlenebilmesi nedeniyle tanı ve yönetiminde zorluklar yaratan gizemli bir rahatsızlıktır [18]. Ayrıca, genetik ve çevresel olarak endokrinopatilere ve metabolik hastalıklara yatkınlık nedeniyle PKOS'un klinik görünümünde ırksal ve etnik farklılıkların da rol oynayabileceği bilinmektedir [14]. PKOS'un olası tanı şemalarının ve tedavi önerilerinin geniş yelpazesinin titiz bir şekilde incelenmesi ve yayınlanan tanı kriterlerinin yönetimi konusunda kanıta dayalı kılavuzlar üretmek için 2018'de büyük bir uluslararası konsorsiyum kurulmasına sebep olmuştur [18]. PKOS'un patofizyolojisi, bozulmuş gonadotropin salgılanması ve etkisi, over folikülojenezinde işlev bozukluğu, hiperinsülinemi eşliğinde insülin direnci ve hiperandrojenizm arasındaki bir etkileşimdir [19].

PKOS'un patojenezi diyet, yaşam tarzı faktörleri, epigenetik, çevresel ve kuşaklar arası bileşenler de dahil olmak üzere karmaşık ve çok faktörlüdür. PKOS tipik olarak ergenlik döneminde ortaya çıkar ve klasik olarak anovülasyon özellikleri (amenore, oligomenore,

düzensiz adet döngüleri), androjen fazlalığı (hirsutizm, akne, alopesi), yağ dokusu birikimi, lipotoksisite ve oksidatif stresle birlikte işlev bozukluğu semptomlarıyla bir arada görülür. En karakteristik biyokimyasal anormallikler, serum androjen konsantrasyonlarının (en tutarlı endokrin anormallik) ve lüteinizan hormon (LH) konsantrasyonları yükselirken, folikül uyarıcı hormon (FSH) seviyeleri normaldir [18, 20, 21].

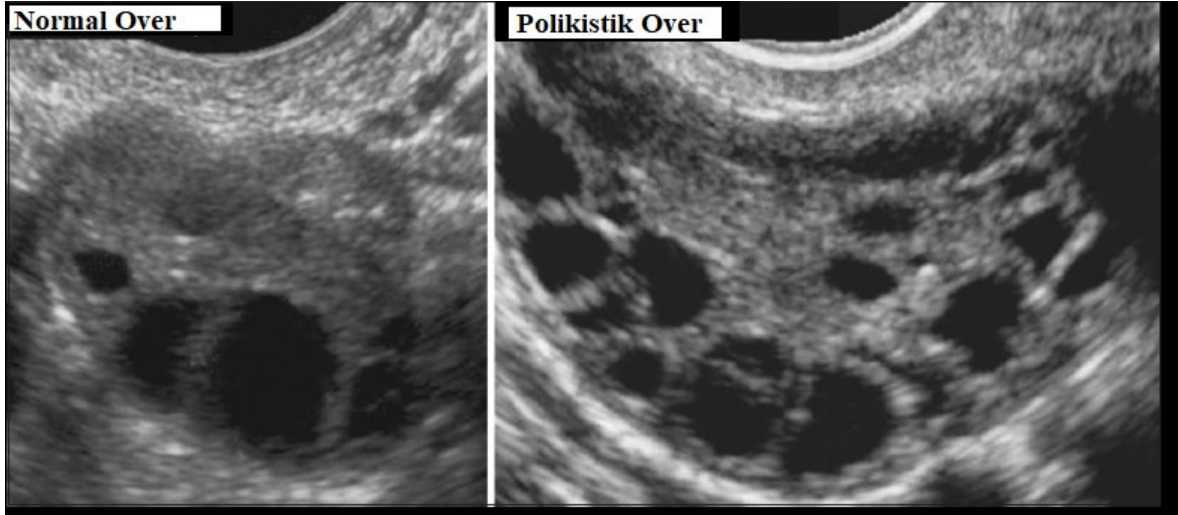
Hipotalamustan gelen pulsatil gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) salgılanmasının bozulması PKOS'tan sorumlu bir faktördür. GnRH, hipofiz bezinin folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinize edici hormon (LH) salgılamasını sağlar. Bu iki hormon, adet döngüsünün iki ayrı evresi için gereklidir. PKOS'ta, bu hormonlar yetersiz olduğundan, yumurta ya oluşmaz ya da folikülden serbest bırakılamaz. Bunun sonucu olarak yumurtalık foliküllerinde keseler şeklinde kistlerin oluşumu gözlenir. Bu şekilde boyutları 10 mm ile 10 cm arasında değişen kistlerin oluşumu sonucu yumurtlama engellenmiş ve adet döngüsü bozulmuş olur. PKOS'lu hastalarda sıklıkla görülen yumurtalıkların polikistik görünümü, farklı olgunlaşma ve/veya atrezi aşamalarındaki yumurtalık foliküllerinin birikmesinden kaynaklanır [5, 20].

Ancak, esas olarak yumurtalık ultrasonografisinin uygulanması sayesinde, PKOS'un çeşitliliğinin androjen fazlalığı semptomları göstermeyen anovülasyonlu kadınları (çoğunun serum androjen konsantrasyonları yükselmiş olmasına rağmen) ve hiperandrojenizmi olan ancak düzenli adet gören kadınları da içerdiği açıklığa kavuşmuştur [21].

Androjen Fazlalığı ve Polikistik Over Sendromu Derneği 2014 yılında yayınladığı kılavuzda polikistik over morfolojisi (PCOM) tanımı için yalnızca yumurtalık foliküllerinin maksimum çözünürlüğünü sağlayan daha yeni bir teknoloji kullanıldığında yumurtalık başına folikül sayısının (FNPO) kullanılmasını ve eşiğin ≥ 25 olarak ayarlanmasını önerdi [18, 21].

PKOS'u kesin olarak tanımlayan spesifik bir tanı testi yoktur, bunun yerine tanı, oligo-anovülasyon, klinik veya biyokimyasal androjen fazlalığı ve yumurtalık morfolojisinin ultrason değerlendirmesi unsurlarının varlığına dayanır (Şekil 2.1). 1990 yılında, Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) tarafından düzenlenen bir konferans, PKOS'un belirti ve semptomlarını tanımladı ve bu, orijinal tanı kriterleri olarak hizmet etti. Daha sonra Uluslararası Kanıta Dayalı Kılavuz, yetişkin kadınlarda tanı için 3 tanı kriterinden 2'sinin

mevcut olmasını gerektiren Rotterdam kriterlerinin kullanımını onaylamıştır. 2003 yılında düzenlenen Rotterdam konsensüs çalıştay, hiperandrojenizm, adet düzensizlikleri ve insülin direncini PKOS'un temel özellikleri olarak nitelendirdi. Rotterdam kriterleri yetişkin kadınlar için kabul edilirken, ergen kızlarda PKOS için farklı tanı kriterleri belirlenmiştir [5, 18, 22].



Şekil 2. 1. Normal over ve polikistik over ultrason görüntüsü [23]

PKOS'lu kadınlarda kardiyovasküler hastalığın daha yaygın olduğuna inanılmaktadır ve bu kadınların miyokard enfarktüsü riskinin de önemli ölçüde arttığı tahmin edilmektedir [24]. Ayrıca endometrial kanser, kadınlarda dördüncü en sık görülen malignite ve ABD'de en sık görülen jinekolojik kanserdir [25].

PKOS teşhisi, semptomlarının belirsizliği nedeniyle zaman alıcı bir süreçtir. Ayrıca teşhis için harcanan maliyet yüksektir. PKOS'un erken teşhisi önemlidir çünkü minimum test ve görüntüleme teknikleri gerektirir [26]. Erken tanı, PKOS'un kötüleşmesini önlemeye yardımcı olabilir. Jinekologlar, PKOS'u hastaların belirti tanımlarından (oligomenore öyküsü gibi) ve morfolojik özelliklerden (hirsutizm) anlayabilir [5]. Polikistik overde, over morfolojisini değerlendirmek üzere transvajinal ultrason kullanılması tavsiye edilmektedir [27]. Antromorfometrik (kan basıncı, döngü süresi) ve ultrason (folikül sayısı, ortalama over hacmi) parametreleri, endokrin (SHBG, testosteron, serbest androjen indeksi (FAI), FSH, AMH (Antimüllerian hormon), tiroit fonksiyon testleri), glikoz tolerans testi (GTT), prolaktin testi ve lipid profilleri PKOS'u gösterebilmektedir [5].

Hiperprolaktinemi, androjen salgılayan tümörler, Cushing sendromu (aşırı kortizol seviyeleriyle ilişkili bir sendrom) ve konjenital adrenal hiperplazi PKOS patojenezini yönlendirebilen nedenler arasında sayılır [5].

2.1.1. PKOS'un genetik faktörleri

Genetik yatkınlık PKOS'un bir risk faktörüdür. Değişken penetrasyona sahip otozomal dominant bir özellik olarak kalıtıldığı görülen PKOS'un ailesel vakaları uzun zaman önce fark edilmiştir. PKOS'a aracılık eden bir dizi gen ve yol tanımlanmıştır. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), delesyonlar, eklemeler, inversiyonlar, translokasyonlar gibi bu genlerdeki varyasyonlar PKOS gelişiminin muhtemel nedenleridir. Bu tür nedensel genlerin birçoğu polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve yeni nesil dizileme yöntemleri ile genotiplendirilmiştir [5, 15].

PKOS'lu 93 hastanın annelerinin ve kız kardeşlerinin klinik ve biyokimyasal değerlendirmesi sonucu, 78 anneden 19'unun (%24) ve 50 kız kardeşten 16'sının (%32) PKOS'tan etkilendiği görülmüştür. Sadece hormon almayan premenopozal kadınlar dikkate alındığında daha yüksek bir PKOS oranı görülmektedir [28].

Genetik faktörler ve ailesel aktarımlar erken PKOS literatüründe tanımlanmıştır; ancak daha fazla genetik veri birikmeye başladıkça, sendromun multigenetik bir arka plana sahip olduğu açık hale gelmiştir. Özdeş ikizlerde özdeş olmayan ikizlere kıyasla PKOS semptomlarının daha fazla uyduğu görülmüştür. Ayrıca PKOS'un endokrin ve metabolik özelliklerinin kalıtsal olduğuna dair kanıtlar da bulunmaktadır. Hayvan çalışmaları ve insan verileri, sendromun kuşaklar arası kökenlere sahip olduğunu ve PKOS'lu annelerden doğan kız çocuklarının sendromu gösterme riskinin 5 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir [18, 21, 29].

Genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS), PKOS genetiğinde önemli bir dönüm noktasıdır. GWAS, PKOS için duyarlılık loküsleri ve kantitatif özellikleri için tüm genom araştırmasını sağlamıştır [14]. Kalıtım şekli henüz net değildir; tek gen etkisini düşündüren otozomal dominant bir bozukluk ileri sürülmüştür ancak genom çapında ilişki çalışmaları, nöroendokrin, metabolik ve üreme yollarında bulunan PKOS için toplam 19 risk gen lokusu belirlemiştir [18, 21].

2.1.2. PKOS'ta çevresel etkiler

Çevresel faktörler, DNA metilasyonu gibi epigenetik değişikliklerin indüklenmesi yoluyla etkilerini gösterir ve bu değişiklikler yaşamın ilerleyen dönemlerinde hastalığa yakalanma olasılığının artmasına neden olabilir [30]. PKOS'un etiyojisi genetik yatkınlıklar, yaşam tarzı belirleyicileri ve çevresel etkileri kapsayan çok faktörlü olmaya devam etse de, çağdaş araştırmalar bu durumun patojenezinde çevresel endokrin bozucu kimyasalların (EDC'ler) rolünü giderek daha fazla incelemektedir [31].

PKOS patojenezinde çevrenin rolü yakın zamanda atmosferde yaygın olarak dağılmış ve tüm hormon duyarlılığı sistemlerine müdahale etme potansiyeline sahip geniş bir endüstriyel kimyasallar kategorisini içerecek şekilde genişlemiştir. Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler (PCDD'ler) ve dibenzofuranlar (PCDF'ler), poliklorlu bifeniller (PCB'ler) ve polibromlu eterler (PBDE'ler), kloronaftalenler (PCN'ler) ve bisfenol A (BPA) gibi kalıcı organik kirleticiler (POP'ler), doğurganlığı etkileyen ve ovotoksik etki, yumurtlama eksikliği, erken yumurtalık yetmezliği (POF) veya polikistik over sendromu dahil olmak üzere ciddi üreme sorunlarına neden olan stabil, lipofilik kirleticilerdir. Bu ajanlar ilk sentez ve salgılanmalarından atılmalarına kadar doğal kan yoluyla taşınan hormon metabolizmasının çeşitli aşamalarıyla etkileşime girebilir ve çeşitli biyolojik süreçleri değiştirebilir. Geleneksel östrojen ve androjen reseptörleri aracılı yolların dışında birden fazla etki yoluyla metabolizmanın ve üremenin endokrin düzenlenmesini bozmaktadırlar [32, 33].

DNA hipometilasyonunun (metillenmiş sitozin bazlarının sayısının “normal” metilasyon seviyesine göre azaldığı bir durumu) PKOS ile ilişkili anahtar genleri düzenlediğini ve farklı şekilde metillenmiş genlerin birçoğunun sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında PKOS'lu kadınlardan alınan kan örneklerinde de değiştiği görülmüştür [30].

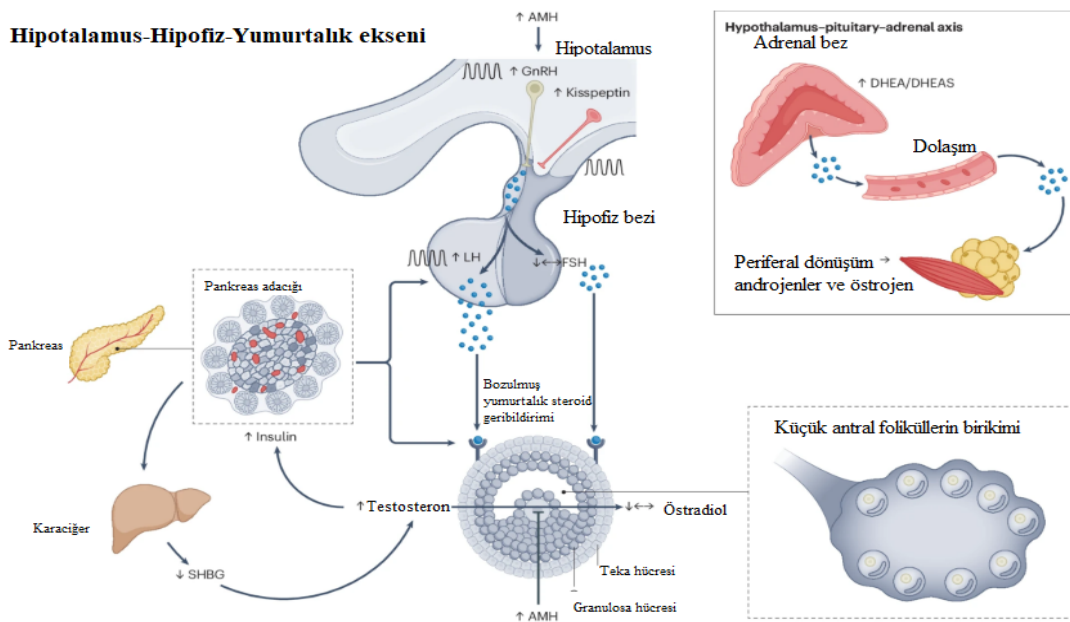
2.1.3. PKOS'ta hormonal değişiklikler

Hormonal değişiklikler PKOS'lu kadınlarda patolojik semptomlara neden olmaktadır. İnsülin, büyüme hormonları (GH), ghrelin, LEAP-2, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), luteinize edici hormon/folikül uyarıcı hormon (LH/FSH) oranı, androjenler ve östrojenler gibi hormonlar PKOS'lu kadınlarda anormaldir ve bu hormonlar, PKOS hastalarında diyabet ve insülin direnci, aşırı kilo ve obezite, kısırlık ve bozulmuş adet

döngüsü gibi metabolik bozukluklarla ilişkilidir [34]. PKOS'ta progesteron seviyeleri normalden düşükken androjen seviyeleri yüksektir. Bu hormonların dengesizliği kistlerden kaynaklıdır [35]. PKOS hastalarında gözlenen yüksek luteinize edici hormon (LH) ve normal veya düşük folikül uyarıcı hormon (FSH) seviyeleri ise hipotalamik disfonksiyondan kaynaklanır [16].

Yumurtalık fonksiyonları hormonal ve nöral sinyallerle düzenlenir. Yumurtalık fonksiyonlarını düzenleyen hormonal sinyaller hipofiz, adrenal, yumurtalıklar, timüs ve tiroitten kaynaklanır; nöral sinyaller ise üst yumurtalık siniri (SON), plexus yumurtalık siniri (OPN) ve vagus siniri aracılığıyla yumurtalıklara ulaşır. Nöral sinyaller, hormonal sinyallerin foliküler, luteal ve interstisyel bölmeler üzerindeki etkilerini düzenler [36].

Üreme ekseninin düzenlenmesi hipotalamusta, nörosekretuar hücrelerin gonadotropin salgılatıcı hormonu (GnRH) sentezlemesi ve hipotalamik-hipofiz-portal dolaşıma pulsatil bir şekilde salması ile başlar. Buna karşılık, ön hipofizdeki gonadotropinler, her ikisi de gonadal işlevi kontrol eden gonadotropinler olan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormonu (LH) sentezler ve salar. Kadınlarda, yumurtalık foliküllerinin büyümesi ve olgunlaşması için FSH tarafından uyarılır; LH yumurtlamayı ve korpus luteum oluşumunu uyarır [37].



Şekil 2.2. Hipotalamus – Hipofiz – Yumurtalık arasında üreme sistemi eksenini [38]

Hipotalamusta bulunan GnRH nöronları, üreme ekseninin merkezi kontrolünü yapar ve ergenliğin başlangıcı ve gonadal fonksiyonun kontrolünde hayati bir rol oynar. Kisspeptin, GnRH salgılanmasında anahtar aktivatör düzenleyicisidir. Kisspeptin, hipotalamik GnRH salgılanmasını aktive etmek için G-protein-bağlı reseptörler GRP54, diğer adıyla Kiss1R aracılığıyla etki eder; ayrıca, periferik steroid hormon bilgisini hipotalamusa iletir ve GnRH salgılanmasının steroid geribildirim kontrolüne aracılık eder [39].

FSH, FSH reseptörüne bağlanarak onu aktive eder ve çoğalmayı artırarak estradiol üretimini teşvik eder. Ayrıca granuloza hücresi fonksiyonlarını düzenler. LH, granuloza hücrelerinde östrojenlere dönüştürülen androjenlerin üretimine yol açan LH reseptörüne bağlanarak teka hücrelerini düzenler. Estradiol ise reseptörü aracılığıyla granuloza hücresi çoğalmasında, FSH reseptör aktivasyonunun düzenlenmesinde ve granuloza hücrelerinde FSH'a yanıt olarak LH reseptörünün indüklenmesinde kritik rol oynar [40].

Hiperandrojenizmde androjenler, yumurtalıklar ve adrenal bezler tarafından üretilen steroid hormonlardır. PKOS'ta androjen üretimi ve metabolizma arasındaki dengesizlik, dolaşımda androjen seviyelerinin yükselmesine yol açar [41]. Artan testosteron foliküler büyümeyi engeller ve bu da birçok küçük antral folikülün birikmesine yol açar. Küçük antral foliküllerdeki granuloza hücreleri aşırı miktarda anti-Müllerian hormonu (AMH) üretir [38]. AMH, erken gelişen foliküllerin granuloza hücreleri tarafından üretilen doku büyüme faktörü β ailesine ait bir hormondur [42]. AMH granuloza hücrelerinde FSH reseptörü ve aromataz ekspresyonunu azaltabilir, bu da folikül büyümesini bozar ve foliküler durmaya yol açarak kısır bir döngü oluşturur [39]. PKOS'lu kadınlardaki yüksek AMH seviyeleri testosteronun östradiole dönüşümünü engeller [38].

Hiperinsülinemi de teka hücrelerini uyarır ve seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) üretimini baskılayarak hiperandrojenemiye katkıda bulunur. Ek olarak, adrenal bez aşırı miktarda dehidroepiandrosteron (DHEA) ve dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS) üretir ve bunlar dolaşım yoluyla periferik organlara (örneğin yağ dokusu, iskelet kası ve karaciğer) ulaşır ve burada östrojenlere ve androjenlere dönüştürülür. Böylece steroid geri bildirimi genel olarak bozulmuş olur [38].

Östrojen, menopoz öncesi ve sonrası kadınlarda farklı biyosentez yapan bilinen bir hormondur. Menopoz öncesi kadınlar östrojenleri esas olarak yumurtalıkta sentezler, ancak

menopozdan sonra yağ dokusu da dahil olmak üzere periferik bölgeler östrojenlerin birincil kaynağıdır. Bu bağlamda, menopoz sonrası kadınlarda östron, östradiol ve serbest östradioldeki önemli artışlar artan BKİ ile ilişkilidir [43].

Hiperinsülinemi de PKOS'un insülin direnciyle doğal ilişkisine atfedilebilir yaygın bir özelliktir [6]. PKOS'lu kadınlarda artan androjenler, insülin direncine ve diabetes mellitusa ve ilişkili diyabete neden olabilir. Fonksiyonel insülin reseptörünün (IR) varlığı yumurtalık teka hücrelerinde ve kemik osteoblastında tespit edilmiştir. İnsülin doğrudan teka hücreleri tarafından aşırı androjen üretimine neden olabilir. Bu sebeple hiperinsülinemi, hiperandrojenemi için nedensel bir faktör olarak kabul edilir [44].

İnsülin direnci (IR), PKOS patojenezinde birincil etiyolojik faktördür ve obezite ile ilişkili değildir [45]. İnsülin direnci, PKOS'lu kadınlarda çeşitli üreme anormallikleri ile ilişkilidir. Normal bireylerde dolaşımdaki insülin seviyesi 6–15 $\mu\text{IU/mL}$ 'dir. PKOS'lu kadınlarda seviye 22 $\mu\text{IU/mL}$ 'ye kadar çıkar [44].

Obezite, ergenlik döneminde kızların gelişimini etkiler ve PKOS riskini artırır. Klinik gözlemler, çocukluk çağı obezitesinin insülin direncinin ilk belirtisi ve PKOS'un öncüsü olduğunu göstermiştir [46].

2.1.4. PKOS ve ROT (Reaktif Oksijen Türleri)

Fizyolojik hücresel fonksiyonların korunması oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki homeostatik dengeye bağlıdır. Aşırı ROT vücudun doğal antioksidan savunma sistemini alt ederek, antioksidan:oksidan durumu dengede olmayan, kadın fizyolojik reaksiyonları için uygun olmayan bir ortam yaratır [47]. Son zamanlarda yapılan birçok araştırma, oksidatif dolaşım belirteçlerinin PKOS'lu hastalarda sağlıklılarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde arttığını, PKOS patojenezinin potansiyel bir indükleyicisi olarak kabul edildiğini ve kısırlık çeken PKOS'lu kadınlarda da belgelendiğini ortaya koymuştur [47, 48].

Oksidatif stresin kronik düşük dereceli inflamasyonda önemli bir rolü olduğu ve PKOS'ta pro-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonu ile önemli ölçüde artırılabilceği açıkça ortaya konmuştur [4]. Oksidatif stres ve kronik inflamasyon birbirleriyle yakından ilişkilidir; aslında, kapsamlı kanıtlar, inflamasyonun reaktif oksijen türlerinin oluşumunu indüklediği,

oksidatif stresin ise inflamasyonu teşvik ettiği ve ağırlaştırdığı kısır döngü kavramını desteklemektedir [49].

Lipid peroksidasyonu, protein karbonilasyonu ve DNA hasarı ile yansıtılan oksidatif stres, hem yağ dokusunda hem de ciddi derecede obez insanların plazmasında ve özellikle insülin direnci olanlarda artar [50]. Oksidatif stres ve insülin direncinin ardından gelen hiperinsülineminin, PKOS'ta hiperandrojenizmin ve yumurtlama disfonksiyonunun bir destekleyicisi olduğu ileri sürülmüştür. PKOS'taki mitokondriyal mutasyonlar, bozulmuş oksidatif fosforilasyona, adenozin trifosfat (ATP) üretiminin azalmasına ve reaktif oksijen türlerinin üretiminin artmasına yol açabilir; bu da insülin sinyal yollarını ve glukoz metabolizmasını bozarak bu durumdaki metabolik ve hormonal düzensizliğe katkıda bulunabilir [51].

Yumurtalık içi ortamda yaşa bağlı oksidatif stresin artması, dişi doğurganlığındaki düşüşle ilişkilendirilmiştir. Oositler, oosit sağlığını ve olgunlaşmasını korumak için gereken protein seviyesinde dengesizliğe yol açan oksitleyici ortama karşı son derece savunmasızdır [42]. Yumurtlama sürecinde yeterli miktarda reaktif oksijen türünün (ROS) normal fizyolojik süreci düzenlediği, ancak ROT üretimindeki artışın üreme fonksiyonlarını olumsuz etkilediği bilinmektedir. Dengesiz ROT üretimi inflamasyon sinyal yollarını uyararak kistik over oluşumuna ve normal yumurtlamanın bozulmasına yol açar. PKOS, antioksidanların azalması ve oksidatif durumun ve inflamatuvar durumun sürdürülmesi ile ilişkilidir [4]. PKOS'un granüloza hücrelerinde, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres kaynaklı apoptozun mevcut olduğu bildirilmiştir. Granüloza hücreleri oosit olgunlaşması, döllenme ve sonraki implantasyonda önemli rol oynar. Bu nedenle, granüloza hücrelerindeki apoptoz, PKOS'lu hastalarda zayıf oosit kalitesi ve in vitro fertilizasyon sonuçları ile ilişkilidir [52].

Reaktif oksijen türleri, kanser gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunan DNA mutasyonlarını indükler [43]. Genel olarak, düşük ROT seviyeleri mitozu tetikler ve hücre çoğalmasını ve hayatta kalmasını desteklerken, orta seviyeler geçici veya kalıcı hücre döngüsü durmasına neden olur ve hücre farklılaşmasını başlatır. ROT üretimi hücre canlılığını geri dönüşümsüz bir şekilde değiştirmese de, kanser ilerlemesine yol açan birkaç hücre içi sinyalleme kaskadı düzenleyerek birincil bir haberci olarak hareket edebilir [43].

PKOS'lu kadınlarda çok sayıda reaktif oksijen türünün oluşumu nedeniyle oksidatif stres artar. Oksidatif stres belirteçleri PKOS'lu kadınların foliküler sıvısında ve serumunda yükselir. Oksidatif strese bağlı DNA'nın oksidatif hasarının PKOS hastalarında over karsinomu ile bağlantılı olduğu gösterilmektedir [2].

2.1.5. PKOS ve inflamasyon sitokinleri

Kronik düşük dereceli inflamasyon, Polikistik Over Sendromu'nun (PKOS) patojenezinde önemli bir katkıda bulunan faktör olarak ortaya çıkmıştır [53]. Bilinen verilere göre, inflamasyon belirteçleri veya bunların gen belirteçleri PKOS hastalarında daha yüksektir [54]. Enflamasyonun en önemli belirteçlerinden biri CRP'dir. CRP, interlökin (IL)-6 ve tümör nekroz faktörü α (TNF α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin uyarıcı kontrolü altında hepatositler tarafından üretilen bir akut faz reaktanıdır [49]. PKOS'lu kadınlarda C-reaktif protein (CRP), interlökin 18 (IL-18), tümör nekroz faktörü (TNF- α), interlökin 6 (IL-6) ve ferritin düzeylerinin yaş ve BKİ eşleştirilmiş kontrollerle karşılaştırıldığında arttığı bulunmuştur. Diğer faktörler arasında yüksek WBC düzeyleri, plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI1), anjiyotensin-renin sisteminin (RAS) aktivitesi ve serbest yağ asitleri (FFA) yer alır [54]. PKOS'ta oksidatif stres ve inflamasyon belirteçleri dolaşımdaki androjenlerle yüksek oranda ilişkilidir [53]. İnflamasyonun ayrıca insülin direnci ve endotel disfonksiyonu gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörleri dahil olmak üzere PKOS'un diğer belirin komplikasyonlarıyla ilişkili olması muhtemeldir [47, 49, 55].

Yağ dokusu PKOS'ta disfonksiyoneldir; visceral yağ dokusunda katekolamin aracılı lipoliz artar ve IR gelişimini teşvik eder ve subkutan yağ hücrelerinde katekolamin kaynaklı lipoliz azalır ve bu da yağ hücresi hipertrofisine ve inflamasyonuna neden olur [56].

Endotrofinin makrofajların ve endotel hücrelerinin katılımıyla fibrozu, anjiyojenezi ve inflamasyonu artırdığı belirtilmiştir. Endotrofinin, kanser hücrelerini mezenkimal hücre benzeri özellikler sürdürmeye teşvik ettiği ve tümör stromasındaki fibroblastları aktive ederek lokal fibrozu artırdığı ve sonunda metastatik büyümeyi güçlendirdiği gözlemlenmiştir [57].

TNF- α

Tümör nekroz faktörü α (TNF- α) esas olarak mikroglia tarafından salgılanır ve merkezi sinir sisteminde homeostazın korunmasında önemli bir rol oynar. Mikroglialar, periferik makrofajlardan türetilen fagositik hücrelerdir ve normalde merkezi sinir sisteminde (MSS) dinlenme veya durgun halde bulunurlar. Aynı zamanda, TNF- α , parkinson hastalığı, alzheimer hastalığı, multipl skleroz, iskemik beyin hasarı vb. dahil olmak üzere çeşitli nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili, insülin direncinin bilinen bir aracısı olan proinflamatuvar sitokindir [53, 58]. Mononükleer hücrelerden glikoz uyarılı TNF- α salınımı, inflamasyonun moleküler belirteçleriyle birlikte PKOS'ta insülin direnciyle ilişkili bulunmuştur [53].

TNF- α , obez kişilerde salgı seviyeleri artan yağ hücreleri tarafından salgılanan proinflamatuvar bir sitokindir [43]. Diyetteki aşırı yağ, yağ hücreleri tarafından alındığında, bu hücreler büyür ve yağ dokusu makrofajlarını etkileyen yağ asitlerini serbest bırakmaya başlar ve bu da TNF- α 'nın üretiminde artışa yol açar. Artan TNF- α , yağ hücrelerini aktive eder. Bu süreç, obezitede karakteristik olan inflamatuvar durumu besleyen bir kısır döngüye yol açar [59].

Aşırı TNF- α , inflamatuvar yanıtı güçlendirerek ve şiddetlendirerek ve ciddi vakalarda sistemik inflamatuvar yanıtı tetikleyerek inflamatuvar reaksiyonlar dizisiyle ilişkilidir [58]. TNF- α 'nın proinflamatuvar rolü, hücresel dönüşüm, sağkalım, çoğalma, invazyon, anjiyojenez ve metastaz dahil olmak üzere tümör oluşumunda yer alan tüm adımlarla ilişkilendirilmiştir [43]. Pro inflamatuvar makrofajlar TNF- α ve IL-6 sinyalleme ile tümör gelişimine katkıda bulunur ve hücre proliferasyonunu ve neoanjiyojenik hücre özelliklerini artırarak karsinojenezi güçlendirir. TNF- α , yağ dokusunda aromataz ve IL-6 ekspresyonunu artırarak östrojen sentezini artırır ve meme kanseri hücre hatlarında ERK1 aktivasyonu yoluyla IL-6 sentezini indükler [43, 60].

Yakın zamanlı bir çalışma, MMP14 ekspresyonunu artıran en önemli faktörün TNF sinyal yolu olduğunu bildirmiştir. TNF sinyal yolunun, MMP'lerin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir [58].

PKOS'lu kadınların serumunda TNF- α sitokin düzeyinin sağlıklı kadınlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Yüksek TNF- α düzeyi, teka intra hücrelerinin proliferasyonunu

uyarabilir ve folikül hiperplazisine yol açabilir ve sayılarını artırabilir. TNF- α 'nın mekanizması JNK yolunun aktivasyonu yoluyla gerçekleşir. PKOS hastalarının foliküler sıvısındaki TNF- α düzeyleri de PKOS olmayan kadınlara göre daha yüksek gözlemlenmektedir [4].

IL-6

İnterlökin-6 (IL-6), 184 amino asitten oluşan dört sarmallı bir proteindir [61]. İnterlökin 6 (IL-6), yaygın olarak incelenmiş, çok işlevli ve homeostazı korumak için prototipik bir sitokindir. Bağışıklık tepkisi, inflamasyon, hematopoez, kemik metabolizması ve doku onarımı gibi patofizyolojik süreçlerde rol oynar [62]. Homeostaz enfeksiyonlar veya doku yaralanmaları nedeniyle bozulduğunda, IL-6 hemen üretilir ve akut faz ve bağışıklık tepkilerinin aktivasyonu yoluyla bu tür acil strese karşı konak savunmasına katkıda bulunur. Ancak, düzensiz aşırı ve sürekli IL-6 sentezi sırasıyla akut sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve kronik immün aracılı hastalıklar üzerinde patolojik bir etkiye sahiptir [63].

IL-6 reseptörü (IL-6R), IL-6'nın bağlanmasında kilit bir rol oynar ve bu bağlanma yüksek bir afiniteyle gerçekleşir fakat sinyal noktasını tetiklemek için yeterli değildir. Bu kompleksin fonksiyonel sinyal yayılımını başlatmak için gp130 adı verilen bir transmembran protein ile iletişim kurması gerekir. IL-6 ve IL-6R kompleksi, GP130'un dimerizasyonunu indükler ve hücre içi sinyal yollarının aktivasyonu başlar. Sinyalizasyon, JAK/STAT yolunun aktive olmasıyla gerçekleşir [61].

IL-6 hepatositler üzerinde etki ettiğinde C-reaktif protein (CRP), kompleman C3, serum amiloid A (SAA), fibrinojen, trombopoietin, hepsidin, haptoglobin ve α 1-antikimotripsin gibi geniş bir yelpazede akut faz proteinlerini indükler ve böylece IL-6'yı akut faz yanıtının hayati bir aracısı haline getirir [63].

Artmış IL-6 seviyeleri, romatoid artrit, Castleman hastalığı ve sistemik juvenil idiyopatik artrit gibi çeşitli insan inflamatuvar hastalıklarında gözlemlenir. IL-6 ayrıca deneysel olarak indüklenen otoimmün hastalıklarda da kritik bir rol oynar. Tüm klinik bulgular ve hayvan modelleri, IL-6'nın otoimmün hastalıkların patojenezinde bir dizi kritik rol oynadığını göstermektedir [64].

PKOS'ta insülin direnci, inflamasyon ve obezite ile IL-6 üretimini ilişkilendirmek için insanlar üzerine yürütülen benzer çalışmaların sonuçlarının çoğu, obez fenotipe sahip PKOS hastalarında diğer sitokinler arasında yükselmiş bir IL-6 seviyesi göstermektedir. Bu, kilo kaybından sonra azalmış bir IL-6 ekspresyonu gösteren çalışmalarla desteklenmektedir ve böylece PKOS'ta inflamasyonda visceral yağın rolüne ışık tutmaktadır [65].

Pleiotropik bir sitokin olan interlökin-6 (IL-6), endokrin sisteminde, özellikle yumurta olgunlaşması, dölleme ve implantasyon süreçlerinde önemli bir rol oynar. IL-6'nın ayrıca yumurtalık gelişimini ve işlevini düzenlediği gösterilmiştir. Bu nedenle, IL-6 PKOS'ta düşük dereceli kronik inflamasyonun önemli bir aracısı olabilir [66]. PKOS'lu obez kadınlarda, IL-6 düzeyindeki artışın over disfonksiyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca IL-6 gen polimorfizmlerinin PKOS'lu hastalarda insülin direnci riskini artırmada rol oynadığı gösterilmiştir [4]. Dahası, IL-6 gibi kronik subklinik inflamasyon belirteçlerinin tip 2 diyabet gelişimi için bağımsız risk öngörücüleri olduğu gösterilmiştir [66].

Kanser hastalarında IL-6'nın yüksek düzeyleri hastalığın agresifliği ve kötü prognozla ilişkilidir. Yüksek IL-6 düzeyleri meme kanserinin zayıf prognozu ile ilişkilidir. IL-6, MAPK yollarını aktive ederek meme kanseri hücre göçünü başlatır. Yağ hücrelerinde ve meme kanseri hücrelerinde aromataz ekspresyonunu ve östrojen sentezini artırır, bu da meme kanseri ilerlemesine katkıda bulunur [60]. Diğer çalışmalar, IL-6'nın makrofajlar, nötrofiller, bazı T hücreleri ve hepatositler gibi belirli hücre tiplerinin hücre zarındaki IL-6 reseptörünün aktivasyonu yoluyla klasik sinyalleme yoluyla etki eden bir anti-inflamatuvar sitokin olarak rolünü ortaya koymuştur [43].

Yağ hücreleri tarafından salgılanan iyi bilinen bir adipokin olan interlökin (IL)-6, östrojen sentezini desteklemek için yağ dokusunda aromataz ekspresyonunu indükler ; bu, menopoz sonrası obez kadınlarda meme kanseri riskini artırabilir [60].

IL-8

İnterlökin-8 genellikle lenfositler, monositler, makrofajlar, fibroblastlar ve epitel hücreleri gibi birden fazla hücreden üretilen bir kemotaktik sitokindir. Sadece nötrofillerin endotel hücrelerine yapışmasını sağlayarak değil aynı zamanda lizozomal enzimlerin salınımıyla ilişkili nötrofil granüllerinin ekzositozunu uyarak polimorfonükleer lökosit fonksiyonunun

düzenlenmesinde önemli bir etkiye sahiptir. IL-8 üretimi, bir organizmanın inflamatuvar yanıtını düzenlemek için önemlidir [67].

IL-8'in PI3K/Akt yolunun aktivasyonu yoluyla hepatosellüler karsinoma hücrelerinin invazyonunu desteklediği bildirilmiştir [68].

Yapılan bir çalışmada PKOS hastalarında IL-8, IL-18 ve IL-17 gibi pro-inflamatuvar sitokin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Bu sitokinler inflamatuvar yanıtta rol oynar ve PKOS hastalarında yüksek seyretmesi inflamasyonun PKOS'ta rol oynadığını düşündürmektedir. Yine aynı çalışmada IL-8'in yumurtlamada önemli bir rol oynadığı ve dengesizliğinin yumurtlama disfonksiyonuna ve anovülasyona yol açtığı gösterilmiştir [41].

IL-8, immünoşüpresif hücre toplanması, inflamasyon, anjiyojenez ve metastazdan sorumludur. Yağ stromal hücrelerinden türetilen IL-8, ağırlıklı olarak meme kanseri hücrelerinin invazivliğini ve parakrin bir şekilde yapışmayan büyüme yeteneğini arttırmıştır [62].

PAI1

Serin proteaz inhibitörü (serpin) süper ailesine ait 50 kDa'lık tek zincirli bir glikoprotein olan PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitörü 1), başlangıçta kültürlenmiş insan endotel hücrelerinin şartlandırılmış ortamında tanımlanmıştır. Genetik varyasyonların yanı sıra, PAI-1 ekspresyonu lipid ve glikoz metabolitleri, vücut kitle indeksi (VKİ), çevresel faktörler, inflamasyon, yaş ve yaşam tarzı tarafından düzenlenebilir. TNF- α , hormonlar, inflamasyon sitokinleri, büyüme faktörleri ve endotoksinler dahil olmak üzere farklı türde kimyasal haberciler de dolaşımdaki PAI-1'in değişimine aracılık edebilir [69].

PAI-1, kanda plazminojen aktivasyonunun birincil fizyolojik inhibitörü gibi görünmektedir, çünkü insan plazmasında PA ile kompleks oluşturmuş tek PAI'dir. PAI-1, miyokard enfarktüsü, hızlanmış ateroskleroz, hipertansiyon, glikoz intoleransı, insülin direnci, hiperinsülinemi ve tip2 diyabet için artmış risk ile ilişkili karmaşık bir durum olan obezitede önemli ölçüde yukarı düzenlenir [70]. Fibrinolitik sistemlerin kritik endojen düzenleyicisi, pıhtılaşma belirteci olan PAI-1, fibrinolizis aktivitesini kontrol ederek, merkezi obezite,

metabolik hastalıklar, insüline bağımlı olmayan diyabet ve tromboz ilerlemesi gibi insüline dirençli durumları teşvik eder [71].

Mevcut çalışmalar, insan yağ dokusunda, stromal hücrelerin, yüksek plazma PAI-1 seviyelerine sahip obez hastalarda bile, hücre içi PAI-1'in ana kaynağı olduğunu göstermektedir [72].

PAI-1 ile genetik veya farmakolojik müdahale kullanan çalışmaların çoğunluğunun azalmış adiposit farklılaşmasını gösterdiği ve obeziteyi önlediği göz önüne alındığında, obezite veya metabolik sendromun tedavisi için PAI-1'i bir hedef olarak takip etmek mümkündür [73]. PAI-1, antifibrinolitik bir molekül olarak işlevinin ötesinde, tümör oluşumu, anjiyogenez, yara iyileşmesi, yumurtlama ve embriyogenez gibi yeterince anlaşılmamış pleyotropik süreçlerde yer alır [73].

Oksidatif stres, inflamasyon ve trombozda rol oynayan birçok etken, PKOS'taki endotel hücre hasarını gösteren kardiyovasküler risk belirteçleri olarak gösterilmiştir. Plazminojen aktivatör inhibitörü-I (PAI-I) aktivitesi bu belirteçler arasında yer almaktadır [54]. Yapılan bir araştırmada PKOS'lu kadınların plazma PAI-1 seviyelerinin arttığı bulunmuştur [71].

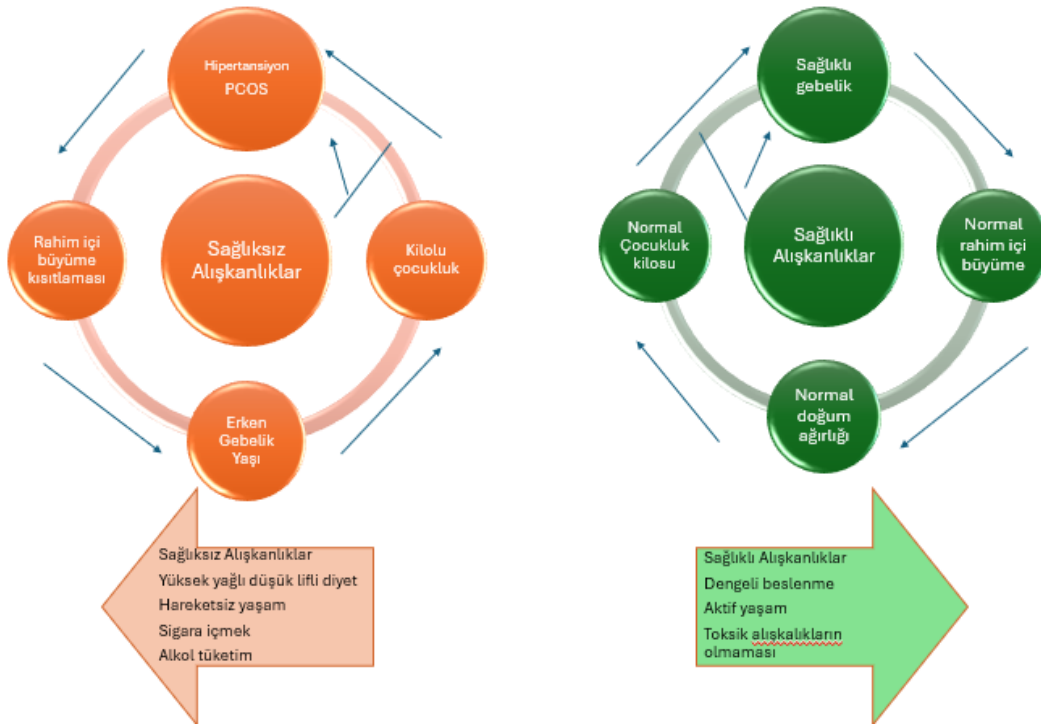
2.1.6. PKOS ve obezite

Obezite, bir dizi genetik, epigenetik ve çevresel faktör tarafından koordine edilen karmaşık bir süreç tarafından yönlendirilir. PKOS'lu kadınlarda obezite riskinin kontrollerle karşılaştırıldığında dört kat daha yüksek olduğu ve ayrıca beyaz kadınlarda Asyalı kadınlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir [18, 74]. PKOS hastalarının yarısından fazlasında obezite, özellikle de abdominal obezite görülürken, obez olmayan PKOS hastaları tüm hastaların sadece %30-50'sini oluşturmaktadır [12].

Obezitenin yumurtlamama, gebelik kaybı ve geç gebelik komplikasyonları ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Obezite PKOS'lu kadınlarda yumurtlama indüksiyonu için sunulan çeşitli tedavi protokollerine yanıtta başarısızlık veya gecikme ile bağlantılıdır [75].

Rahim içi büyüme geriliği ve insülin direnci, genetik olmayan kalıtım örnekleri olarak, çevresel faktörlerden belirgin şekilde etkilenir. Gebelik sırasındaki hakaretler, gebelik

yaşına göre küçük bebeklerde tutumlu bir fenotipe neden olan rahim içi büyüme geriliğine yol açabilir. Bu çocuklar, yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde hipertansiyon, glikoz intoleransı ve polikistik over sendromu (PKOS) geliştirebilirler (hareketsiz bir yaşam tarzı, doymuş yağ açısından zengin bir diyet, sigara ve aşırı alkol tüketimi gibi çevresel risk faktörlerine maruz kalırlarsa), ayrıca egzersiz ve diyetin ebeveyn alışkanlıklarından büyük ölçüde etkilenmesi nedeniyle bazı ailelerde belirginleşebilir. Ancak, sağlıklı çevre daha sağlıklı seçeneklere (yeterli diyet, aktif yaşam tarzı ve toksik alışkanlıklar olmadığında) dönüşürse, genetik olmayan kalıtım en azından teoride önlenabilir [20] (Şekil 2.2).



Şekil 2. 2. Sağlıklı ve sağlıklı olmayan alışkanlıkların PKOS gelişimindeki rolü [20]

Visseral yağ dokusunun inflamasyonun gelişimiyle bağlantılı olduğu dikkat çekicidir. Aynı şekilde, abdominal obezite PKOS'lu kadınlarda daha yaygındır. Visseral yağ dokusu, inflamatuvar sitokinlerin, monosit kemotaktik proteinlerin (MCP'ler) ve bağışıklık hücrelerinin katılımının artırılmasıyla inflamatuvar bir yanıtı yol açar ve adipositlerde inflamatuvar durumun devamlılığını sağlar [4].

Obezite ile tip 2 diabetes mellitus (T2D), alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı ve siroz, obstrüktif uyku apnesi sendromu, diğer solunum değişiklikleri, hipertansiyon ve

kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişki vardır. Ayrıca hipotalamik hipofiz fonksiyonunu etkileyebilecek birden fazla faktörle ilişkilidir. İnsülin direnci ve hiperinsülinemi, düzensiz gonadotropin salgılanmasını destekleyebilecek doğrudan hipotalamik etkilerle ilişkilendirilmiştir. Hipofizdeki insülin reseptörünün nakavt edildiği obez farelerde normal gonadotropin salgılanmasının çözülmesi ve doğurganlığın artması, PKOS'ta insülin etkisinin doğrudan bir rolü olduğunu işaret etmektedir [43, 76].

İnsülin direnci, artmış serum trigliserit seviyeleri, obezite, glikoz intoleransı, tip 2 diyabet (T2D) geliştirme riskinde artış, obstrüktif uyku apnesi, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkla ilişkili komorbiditeler gibi metabolik bozukluklar kümesi PKOS'lu kadınlar tarafından yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde karşılaşılabılır [13].

Yapılan bir meta analizde PKOS'lu kadınların %70 kadarında insülin direnci bildirilmiştir ve obeziteye bağlı olmaksızın PKOS'lu kadınlarda insülin duyarlılığı yaklaşık %40 oranında azaldığı ifade edilmiştir [55]. İnsülin direnci ve hiperinsülinemi, overlerdeki teka hücrelerinin aşırı miktarda androjen ve LH salgılamasını tetikleyerek hiperandrojenizmi tespit etmede çok önemlidir. PKOS'lu kadınların %90'ına kadarında daha yüksek bir beden kitle indeksi (BKİ) bulunur ve bu insülin direncini yoğunlaştırarak diyabetle sonuçlanma sürecini hızlandırmaktadır. Genellikle, PKOS'lu hastaların karın, kalça ve uyluk bölgelerinde aşırı vücut yağı olduğu görülür ve buna merkezi adipozite denir [2].

Obezite (karın yağ kütlesi, yüksek bel çevresi ve yüksek BKİ (>25) ile karakterize) PKOS'u kötüleştiren temel nedenlerden biridir. Karın yağının kaybı durumunda iltihap azalır, androjen seviyesi düşer, yumurtlama başlatılır ve metabolik işlevler geri kazandırılır. PKOS'lu aşırı kilolu hastalarda BKİ'yi düşürmek için fiziksel aktivitede bulunmak ve sağlıklı beslenme alışkanlıklarına uymak daha iyidir. Kilo vermenin PKOS'un olumsuz semptomlarının çoğunu hafiflettiği gözlemlenmiştir [5].

Artık hem normal kadınlarda hem de PKOS'lu kadınlarda kilo alımının artan insülin direnciyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak PKOS'lu kadınların çoğu yaş ve BKİ'leri eşleştirilmiş kontrol kadınlarından önemli ölçüde daha fazla insülin direncine sahiptir ve bu farklılık daha yüksek BKİ'ye sahip bireylerde daha belirgindir [77].

Yüksek insülin seviyesi, karın çevresinde yağ birikmesinden veya merkezi adipoziteden sorumludur. Hipertansiyon, kardiyovasküler sorunlar, dislipidemi gibi belirtiler PKOS'un komorbiditeleridir. Bu nedenle, obezitenin mevcut salgını PKOS'lu kadınların uzun vadeli sağlığı için çok ciddi sonuçlar doğurmaktadır [5, 21].

Kadınlarda basit obezite her zaman PKOS gelişimine yol açmaz. Bu nedenle obezitenin PKOS'a neden olduğunu söylemek yanlıştır. Ancak obezitenin birçok kadında fenotipi (hem metabolik hem de üreme) kötüleştirdiğine dair kanıtlar vardır ve kilo kaybı sahip olunan en iyi tedavi olmaya devam etmektedir [77].

2.1.7. PKOS ve infertilite

Polikistik over sendromu, kısırlığın baskın nedenidir. PKOS günümüzde anovulatuvar infertilitenin birinci nedenidir ve etkilenen kadınların %70 ila %80'inde kısırlık görülmektedir. PKOS'lu kadınların doğurganlığını iyileştirmek için davranışsal, tıbbi ve cerrahi tedaviler kullanılmaktadır. Yaşam tarzı değişiklikleri (sigarayı bırakma, fiziksel egzersiz ve gerektiğinde kilo verme) son derece önemlidir [78]. PKOS'ta azalan GH, artan LEAP-2 seviyeleri, yüksek LH bazal, artan LH/FSH oranı, yüksek androjenler ve düşük östrojen gösterilmiştir ve kısırlıkla ilişkilendirilmiştir [34].

Yumurtalıkta, oositlerin kökeninden başlayarak foliküllerin gelişimine ve dejenerasyonuna kadar uygun işlevsel otofaji gerekir. Otofaji, normal koşullar altında oositlerin gelişimini, foliküler büyümeyi ve farklılaşmayı, foliküler atreziye ve üreme döngüsünü sürdürmek için foliküler hücreler için gereklidir. Düşük kaliteli oositler, yumurtalık foliküler hücrelerindeki kusurlu otofaji sonucu kadın kısırlığına yol açar [42].

2.2.Ergenlikte PKOS

Ergenlik dönemi PKOS'unun tanı kriterleri uzun zamandır tartışma konusu olmuştur. Bunun başlıca nedeni yetişkin kadınlardaki tanı kriterlerini oluşturan bazı PKOS özelliklerinin, ergenlik dönemi kızlarda hala normal olgunlaşmanın bir parçası olabilmesidir [18, 79]. Ergenlerde adet düzensizliği kriteri de yeniden tanımlanmıştır. Düzensiz adet döngüleri, adetten sonraki ilk yılda normal olarak kabul edilmiştir [14].

2013 yılında Endokrin Topluluğu konsensüs bildirisi ve 2018 yılında (2023'te güncellendi) Uluslararası Kanıta Dayalı PKOS Kılavuzları yetişkin ve ergen kriterlerini farklılaştırdı ve ergen tanısının hem tanımlanmış yumurtlama disfonksiyonunu hem de hiperandrojenizmi içermesini önerdi. Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği ve Avrupa Endokrinoloji Topluluğu da dahil olmak üzere 39 uluslararası topluluk tarafından onaylanan kılavuzlar, polikistik over morfolojisinin menarş sonrası fizyolojik geçişin bir parçası olduğunu ve zayıf özgülüğün aşırı tanıya yol açabileceğini bu sebeple ergen tanısında atlanması gerektiğini belirtmiştir [80].

PKOS'un ergenlerin %3 ila %11'ini etkilediği tahmin edilmektedir. PKOS'un yüksek yaygınlığı ve beraberinde getirdiği çeşitli sağlık sorunları nedeniyle, risk grubundan ergen kızları seçmek, etkili bir tanı koymak, uygun tedaviye başlamak ve hastayı mümkün olan en kısa sürede bir yaşam tarzı değişikliğine yönlendirmek gerekmektedir [81].

Ergen popülasyonda PKOS konusunda artan bir farkındalık, teşhis sayısında artış ile obezite ve tip 2 diyabet gibi yerleşik eş zamanlı hastalıkların görülme sıklığında artışı beraberinde getirmektedir. PKOS'un çeşitli belirtileri, bir kızın genç bir kadına dönüştüğü erken yaşlarda başlar. PKOS, erken pubarş (kasık tüylenmesi) ve telarş (göğüs belirginleşmesi) geliştiren kızlarda daha genç yaşlarda ortaya çıkabilir. Bu nedenle, PKOS'u düşündüren risk faktörleri olan genç kızlarda erken ve geç dönem olumsuzluklarını önlemek, tanı ve inceleme önemlidir [3].

Ergen kızlarda tanı özellikleri adet düzensizliği, klinik hiperandrojenizm ve/veya hiperandrojenemidir. PKOS'un kesin tanısı konulmadan önce bile, PKOS'un özellikleri olan androjen fazlalığı ve oligomenore/amenore klinik belirtileri gösteren ergenler PKOS riski altında kabul edilebilir [22].

Ergenlik dönemindeki karakteristikler ve anatomik değişiklikler, PKOS tanısını zorlaştırmaktadır. Ergenliğe adım atan ergen kızların yaklaşık %75'i, adet döngülerinin 21-45 gün arasında sürdüğü belirtilmektedir. Araştırmalar, düzenli adetlerin başlangıçtan sonraki 2-3 yıl içinde kazanıldığını göstermektedir. Ayrıca, anovülasyon (yumurtlamanın olmaması), erken menarşın (ilk adet görme) ardından ergenlerde gözlemlenen önemli bir tanı kriteridir [48].

Yakın zamanlı yapılan bir çalışmada PKOS'lu ergenlerin sendromu kendi kendilerine algılama şiddetlerinin yüksek olmasının, yaşam kalitelerinin olumsuz etkilenmesiyle sonuçlandığını göstermektedir. Kimlik gelişimi ve beden imajı farkındalığının en yüksek olduğu dönemde olan PKOS'lu ergen hastalarda yaşam kalitesi de önemli ölçüde bozulabilir [82]. PKOS'lu ergenlerin sağlıklı ergen kızlara kıyasla daha düşük sağlıkla ilişkili yaşam kalitesine (HRQL) sahip olduğu gösterilmiştir. Yaşam kalitesindeki bu azalmalar büyük ölçüde obezite ile ilişkilidir, ancak hirsutizm, akne ve kısırlığın etkileri de literatürde oldukça yaygındır [83].

PKOS'lu ergenler tipik olarak orta ila şiddetli, yavaş ilerleyen hirsutizm (erkek tipi tüylenme), akne ve/veya sebore (yağlı cilt) ve oligomenore (adet düzensizliği) veya amenore dahil olmak üzere adet bozuklukları, anovülasyon, yumurtalık büyümesi, endometriyal kanser, kısırlık, tip II diyabet ve diğer kardiyovasküler hastalıklara yol açan hiperandrojenizm ve insülin direnci sergilerler [2, 84]. Oligomenoreik (adet düzensizliğine sahip) ergenlerin yakından incelenmesinden sonra, bu kızların önemli bir kısmının PKOS'a özgü biyokimyasal belirteçlere sahip olduğu ve sonunda sendromun daha ileri klinik özelliklerini geliştirdiği görülmektedir [6]. PKOS'tan etkilenen bireylerin yaklaşık yarısı obezdir ve abdominal obezite gösterirler; bu da yüksek düzeyde androjenlerin abdominal bölgedeki yağ dokusunu artırabileceğini gösterir [2].

Yapılan bir çalışmada, PKOS'lu ergenlerin 75gr oral glikoz yüklemesinden sonraki 2 saatlik plazma glikoz seviyesi ölçülmüş ve IGT (bozulmuş glikoz toleransı) ve DM (tip 2 diyabet) için artmış risk altında olduğu görülmüştür. Bu veriler, PKOS'lu yetişkinlerde yüksek oranda görülen (%30-40) glikoz intoleransı ve tip 2 diyabetin görülme sıklığının bu bozukluğa sahip ergenlerde de mevcut olduğunu göstermektedir [85].

Ergenlik dönemi PKOS'u genellikle doğumdaki ağırlıktan çocukluktaki BMI'ye doğru yükselen bir Z skoru değişikliği ile kendini gösterir [84]. Ergenlik dönemindeki PKOS'un en yaygın varyantlarının kökenlerine ilişkin son araştırmalar en az üç gelişimsel adım olduğunu ortaya koymaktadır. İlk adım azalmış prenatal kilo alımı ile artırılmış postnatal kilo alımı arasında yukarı doğru bir yüzdelik geçişin (veya 'uyumsuzluğun') gelişmesinden oluşur. İkinci adım, geç çocukluk döneminde ektopik yağa karşı adaptif bir yanıttır. 'Uyumsuz' kızlar, adrenarşın amplifikasyonu, gonadotropik eksenin yukarı düzenlenmesi, daha fazla serbest testosteron ve hızlandırılmış kemik olgunlaşması dahil olmak üzere koordineli

eylemlerle büyümelerini ve olgunlaşmalarını hızlandırırlar. Buna karşılık, erken puberte veya erken ergenliğe sahip kızların yüzdeleri, tanı anındaki BKİ'ye göre doğumdaki kilo açısından daha düşük olma eğilimindedir. Üçüncü adım, menarştan sonra, büyüme plaklarındaki epifiz füzyonunun kademeli olarak daha fazla boy kazanımını engellemesi ve böylece ektopik yağa verilen büyümeyi hızlandıran yanıtın homeostatik etkilerinin kaybolmasıyla gerçekleşir [79].

Adrenarş, normalde erken çocukluk döneminde başlayan adrenal androjen üretimindeki olgunlaşma artışıdır. Adrenokortikotropine (ACTH) karşı salgılama yanıtındaki değişikliklerden kaynaklanır ve en iyi dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS) artışıyla indekslenir [86].

13 ila 22 yaş aralığındaki 283 sağlıklı ve PKOS'lu ergen üzerinde yapılan bir çalışmada, PKOS'lu kızların %68'inin gelecekte hamile kalma olasılıkları konusunda endişeli oldukları ve sağlıklı akranlarına göre doğurganlıkları konusunda endişelenme olasılıklarının 3-4 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir [83].

Şu anda, ergenlik çağındaki PKOS için hala onaylı bir tedavi yoktur. PKOS'lu ergenler için metformin, oral kontraseptifler (yumurtlama fonksiyonunu susturan, düzenli yalancı adet görmeyi sağlayan ve SHBG'nin farmakolojik yukarı regülasyonu yoluyla androjen fazlalığını kısmen azaltan oral estroprogestojen kontraseptifler) ve miyoinositol gibi ilaçlar yardımcı olabilmektedir [79, 87]. Reçete edilen ilaçlar genellikle oral kontraseptifler sentetik progesteron ve kombine progesteron-östrojen haplarıdır. Sonuçlar, adet döngüsünün düzenliliğinde iyileşme, yüzdeki akne azalma, obezitede azalma, kan şekeri seviyesinde azalma ve toplam kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoproteininde iyileşme olduğunu göstermektedir. Ancak, oral kontraseptif kullanmadan önce yaşam tarzı, diyet ve vücut kitle indeksi değişiklikleri yapılması tercih edilmektedir. Tıbbi beslenme tedavisinin ve besin takviyelerinin hastaların belirti ve semptomlarını iyileştirdiği gözlemlenmiştir [87]. D vitamini, akarboz ve miyoinositol de PKOS tedavisinde faydalı olduğu kanıtlanmış karşılıklı ve isteğe bağlı klinik tedavilerden sadece birkaçıdır [88].

2.2.1. Ergenlerde PKOS ve obezite ilişkisi

İnsülin direnci ve hiperinsülinemi, ergenlerde hormonal ve metabolik anormalliklerin bu sürekli dizisinin altında yatan temel mekanizma olabilir. Bu dizi erken başlayabilir ve yaşam boyu devam edebilir. Hiperinsülinizm de PKOS'lu kızların ailesinden gelen genetik bir yatkınlığı olabilir. Pre- ve peripubertal obezite, PKOS gelişiminde katkıda bulunan bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Çevresel faktörler, özellikle beslenme, genetik olarak yatkın bireylerde PKOS'un klinik ve biyokimyasal fenotipini etkiler [6].

PKOS ile ilişkili insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar, abdominal obezite, psikolojik bozukluklar, kısırlık ve kanser gibi patofizyolojiler birbirleriyle ilişkilidir. Ergenlik döneminde, insülin duyarlılığı azalır ve insülin gereksinimleri artar. Bazal insülin seviyeleri ergenliğin sonunda ergenlik öncesi veya yetişkinliğe göre daha yüksektir. Hiperandrojenizm, insülin direncine ve hiperglisemiye neden olarak ROS oluşumuna, oksidatif strese ve abdominal yağlanmaya yol açar. Sonuç olarak inflamasyon, ROS üretimi, insülin direnci ve hiperandrojenemi de artar. Dolayısıyla ergenlikte ortaya çıkan PKOS gelişiminde hiperinsülineminin bir rolü olduğunu düşündürmektedir [2, 6].

Çocukluk çağı obezitesi çok faktörlü nedenlere sahip patolojik bir süreçtir. Çocuklar ve ergenler arasında aşırı kilo ve obezitenin yaygınlığı dünya çapında büyük oranda artmıştır ve bu durum onu bu yaş grubunda ve yetişkinlikte en yaygın kronik rahatsızlıklardan biri haline getirmiştir. Obezite kronik sağlık sorunlarına yol açarak morbiditeyi artırır [89, 90].

Obez çocukların çoğunda, boy büyüme hızının 50 persentilin üzerinde olması, normal zekâ, normal genital organlar ve endokrin anormalliği veya konjenital bir sendromun öyküsü veya fiziksel kanıtının olmaması ile karakterize ekzojen obezite vardır [91].

Obezite ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişkiye dair kanıtlar artmaktadır. Bu tümörler kolon, meme, endometriyum, prostat, tiroit, böbrek, yemek borusu, mide kardiyası, pankreas, safra kesesi ve karaciğer kanserinin yanı sıra multipl miyelomu da içerir [43].

Yağ dokusunun artması ve fibrozis ile ECM'in yeniden şekillenmesi

Hücre dışı ortam proteinazlar tarafından hassas bir şekilde düzenlenir ve kök hücre bakımı, embriyojenez, hücrel metabolizma, hücrel çoğalma, apoptoz ve doku oluşumu dahil olmak üzere biyolojik süreçlerde önemli olan hücrel davranışlar üzerinde yüksek bir etkiye sahiptir [92]. Ekstraselüler matriks (ECM) yeniden şekillenmesi hem fizyolojik hem de patolojik koşullar altında yağ dokusunun artmasını içerir. Kolajenler, lamininler, integrinler ve proteoglikanlardan oluşan bir ECM ağı yağ dokusunu çevreler. Özellikle kolajen fibrilleri, yağ dokusu ECM'sinin temel yapısal bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur. Adipojeniz sırasında, adipositler kolajen I, IV ve VI dahil olmak üzere çeşitli kolajen tiplerini farklı şekilde ifade eder ve salgılar [93].

ECM boyunca hücre göçünün temel adımları, istila üç adımlı modeliyle amaçlanmıştır. Bu teoriye göre, hücreler göç ettiklerinde, önce integrinler gibi yapışma molekülleri aracılığıyla ECM'yi tanır ve ona bağlanırlar; ikinci olarak, proteinazlar yerel ECM bozunumuna neden olmak için işe alınır; Son olarak, hücre gövdesi parçalanmış ECM boşluğuna hareket eder. Üç adımın tekrarlanması hücrelerin ECM boyunca göç etmesini sağlar [94].

Fibrozisin, ekstraselüler matriks (ECM) esnekliğini azaltarak yağ dokusu işlev bozukluğunda önemli bir oyuncu olduğu fikri son çalışmalarla desteklenmektedir. Ayrıca ECM yeniden şekillenmesi sırasında anormal kolajen birikimi, yağ dokusundaki lokal inflamasyonla sıkı bir şekilde ilişkilidir ve bu da sistemik insülin direncine yol açar [10].

Membran tipi matriks metaloproteazlar (MT-MMP'ler), kanser istilasını ve büyümesini teşvik etmek için bazal membranın ve interstisyel ekstraselüler matriksin (ECM) periselüler bozunmasından sorumlu proteolitik enzimlerdir [95].

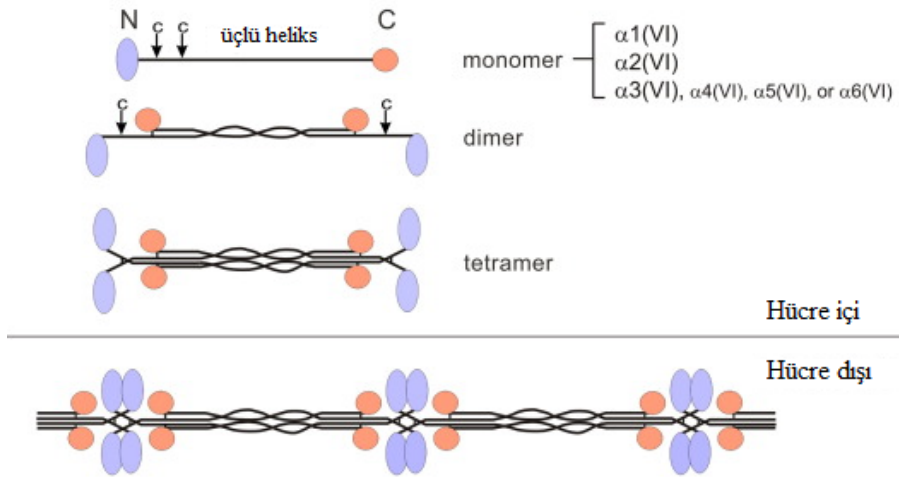
Obezitenin patojenezi sırasında adipokin profili önemli ölçüde değişir; bu değişiklikler proinflamatuvar sitokinlerin, mitojenik ve pro-anjiyojenik faktörlerin, lipid metabolitlerinin ve hücre dışı matriks moleküllerinin (ECM) farklı ifadesini içerir. Bu değişiklikler obezite ve kanser arasındaki sıkı ilişkinin altında yatan mekanik temeli oluşturabilirken, düzensiz yağ hücrelerinin tümör büyümesi üzerindeki etkisi yeterince incelenmemiştir [96].

2.3. Kolajen VI ve Endotrofin

2.3.1. Kolajen VI

Kolajen, ana ECM bileşenlerinden biridir ve bugüne kadar omurgalılarda tanımlanan 28 alt tip ile insan dokusunda en bol bulunan proteindir. Kolajenler, dokulardaki fizyolojik konumlarına göre alt gruplar halinde organize edilebilir. Bunlar, bazal membran (BM) veya interstisyel membran (IM) kolajen, klasik fibriler kolajen, ağ oluşturunca kolajen, kesintili heliksli fibrille ilişkili kolajen (FACIT), membran kesintili üçlü sarmallar (MACIT'ler), çoklu üçlü sarmal alanlar ve kesintiler (Multiplexins) ve boncuklu filaman oluşturan kolajen olarak sınıflandırılabilir [97].

Kolajen üçlü sarmal, düz veya bükülmüş bir çubuk oluşturabilir. Çeşitli supramoleküler yapılar kendi kendine bağlanma kapasitesine sahiptir ve ligandları ve reseptörleri bağlama potansiyeline sahiptir. Kolajenin bu yapısal özellikleri, çok çeşitli biyolojik rollere uyum sağlamıştır ve üçlü sarmal motifi, temel ve çok yönlü bir protein motifi olarak görülmektedir [98].



Şekil 2. 3. Kolajenin monomer, dimer, tetramer ve mikrofibril formları [99]

Üç zincir, üçlü sarmal monomerleri oluşturmak için hücre içinde bir araya gelir. Monomerler daha sonra disülfid bağlarıyla bağlanmış antiparalel örtüşen dimerler ve daha sonra disülfid bağlarıyla stabilize edilmiş tetramerler oluşturur. Tetramerler salgılanır ve bitişik

moleküllerin N-terminal uçları etkileşime girerek karakteristik boncuklu mikrofibrilleri oluşturmak için örtüşür [99] (Şekil 2.3).

Kolajen döngüsü, oluşum ve emilim süreçleri sırasında kemikte doğal olarak meydana gelen fizyolojik bir süreçtir. Bununla birlikte, kanser bağlamında kolajen yeniden şekillenmesi, tümörjenik süreçten kaynaklandığı ve çoğu durumda kanser hücrelerini desteklediği için patolojik olarak kabul edilebilir. Hipoksik bir ortamda hem tümör hücreleri hem de aktif stromal hücreler proteazları serbest bırakır. Proteazlar, ECM'nin kanser hücresi invazyonu için bozulmasına sebep olurlar. Kolajen VI'nın düzensiz üretimi fibrozise neden olur ve çeşitli kronik patolojik durumları ağırlaştırır [97, 100].

Bu veriler, Kolajen VI 'nın tümör oluşumunda olası bir rolünü düşündürülebilir. Bununla uyumlu olarak, Kolajen VI çeşitli kötü huylu kanser hücre hatlarında ve meme, kolon, pankreas veya akciğer dahil olmak üzere normal dokularla karşılaştırıldığında tümörlü dokularda yüksek oranda ifade edilmektedir ve tümör büyümesi, gelişimi ve metastazı da dahil olmak üzere tümör ilerlemesinin çeşitli adımlarında ve ayrıca kan ve tümör damarlarının yeniden şekillenmesinde rol oynadığı ve anjiyogeneze katkıda bulunduğu düşünülmektedir [59].

Kolajenler, tümör mikroçevresindeki hücre dışı matriksin ana bileşenleridir. Hem fibriler hem de fibriler olmayan kolajenler, tümörün ilerlemesinde rol oynar [101]. Kolajen VI son zamanlarda meme ve yumurtalık kanserlerindeki rolü nedeniyle ilgi çekmiştir [102].

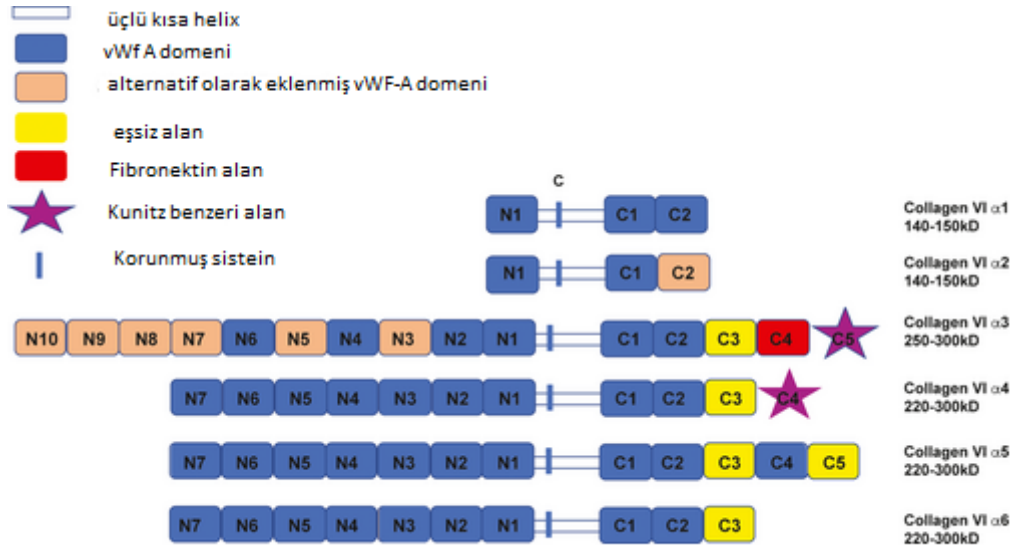
Kolajen VI başlangıçta bir hücre dışı matriks proteini olarak tanımlanmıştır. Bir mikro filament ağı oluşturur ve fibriler kolajenlerin organizasyonu ve bazal membrana yapışması için önemli olan işlevsel alt alanları aracılığıyla hücre dışı matriks proteinlerine bağlanır [102].

Kolajen VI, ekstraselüler matriksin (ECM) temel bir parçasıdır ve kanser hücrelerinin çevresel uyum ve hayatta kalma mekanizmalarında kritik bir rol oynamaktadır. Düzensiz ve dağınık bir ECM, tümörlerin kötü huylu gelişimine katkıda bulunarak, stromal hücrelerin düzensiz davranışıyla kolaylaştırılan tümörle ilişkili anjiyogeneze ve inflamasyona neden olur. Özellikle yumurtalık kanseri gibi malignitelerde, kolajen VI ekspresyonunun artışı,

tümör hücrelerinin kemoterapiye karşı direnç geliştirmesini destekleyen birkaç mekanizmayla ilişkilendirilmiştir [103, 104].

2.3.2. Kolajen VI $\alpha 3$

Tüm kolajen ailesi üyeleri arasında, kolajen VI (COL6) yağ dokusunda en bol bulunan mikrofilamenttir. Tip VI kolajen, sitozolde sentezlenip birbirleriyle oligomerler oluşturup, hücre dışı boşluğa salgılanan üç ana zincirden ($\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$) oluşan üçlü sarmal tetramerlerdir. Bu üç zincir heterotetramerlere birleştirilir ve ECM oluşturmak üzere ekstraselüler boşluğa salgılanır, burada daha fazla birleşerek olgun mikrofibriller oluştururlar. Bu üç alt birimden yağ dokusu iltihabı ile en fazla korelasyon gösteren alt birimin Col6A3 olduğu bulunmuştur [10] [105] [106].



Şekil 2. 4. Kolajen VI domain yapısının şematik diyagramı [107]

Genellikle, kolajen VI $\alpha 1$ (VI), $\alpha 2$ (VI) ve $\alpha 3$ (VI) zincirleri içerir. Her zincir, değişken sayıda von Willebrand faktör tipi A (vWF-A) modülleriyle çevrili kısa bir kolajen (COL) bölgeden oluşur. $\alpha 3$ (VI) zinciri, karboksil-terminal ucunda üç ek domain içerir ve C5 alanının kesilmesi ile endotrofin oluşur [108] (Şekil 2.4).

Kolajen VI'nın üç ana alt birimi olan alfa-1 (VI), alfa-2 (VI) ve alfa-3 (VI) zincirleri, sırasıyla COL6A1, COL6A2 ve COL6A3 genleri tarafından kodlanır. Alfa-3 zinciri 2500 ila 3100 amino asit (250–300 kDa) arasında değişen çoklu alternatif olarak eklenmiş varyantlara

sahiptir ve 1000 amino asit uzunluğundaki (140–150 kDa) alfa-1(VI) ve alfa-2(VI) zincirleriyle karşılaştırıldığında, ağırlık olarak yaklaşık 3 kat daha büyüktür. Kolajen VI'nın alt birimleri benzer bir moleküler yapıya sahiptir:

- Kısa üçlü sarmal alan (335–336 amino asitlik kolajen alanı)
- Von Willebrand faktör tipi A (vWF-A) modüllerine benzer 200 tekrarlayan amino asit motifinden oluşan iki büyük küre benzeri C-terminal
- N-terminal kolajen olmayan alan.

Alfa-1 (VI), alfa-2 (VI) ve alfa-3 (VI) zincirlerinin hepsinde bir N-terminal (N1) ve iki C-terminal (C1 ve C2) vWFA modülü bulunur. Ancak, kolajen VI alfa-3 zincirinin N terminalinde (N2-N10) 9 ek vWF-A modülü ve C terminalinde 3 özel alan bulunur;

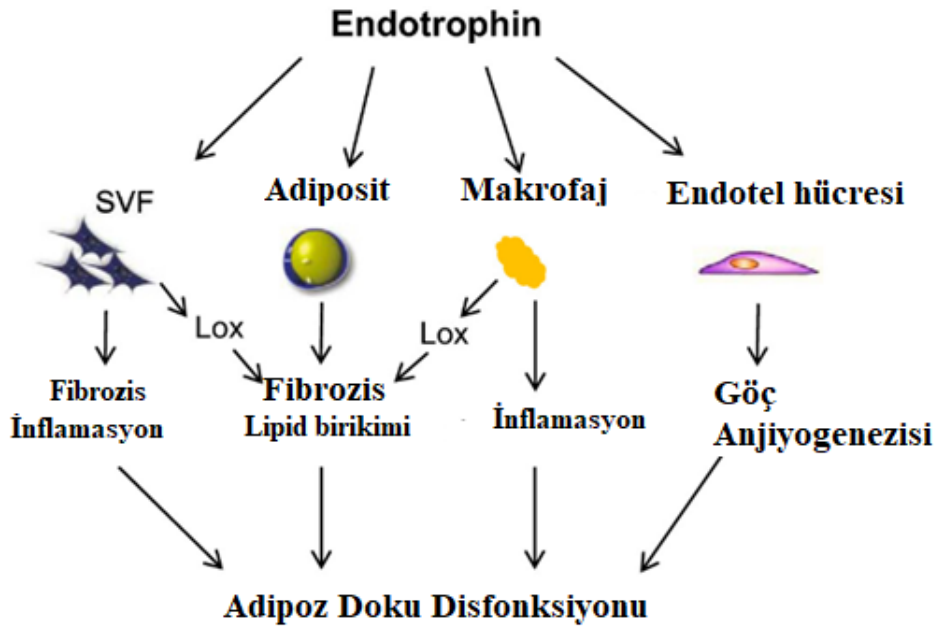
- Bir benzersiz alan (C3),
- Bir fibronektin tip III alanı ve
- Bir Kunitz alanı (C5) (Endotrofin) [103].

2.3.3. Endotrofin

Yakın zamanda kanser ve metabolizma ortamında çeşitli patolojik durumların gelişiminde kritik bir rol oynayan Col6A3'ten (Kolajen 6'nın 3.kolu) parçalanan bir ürün olan endotrofin tanımlanmıştır. Özellikle yağ dokularındaki endotrofin seviyeleri, obezite veya diyabette yükselmektedir ve yağ dokusu fibrozisi, inflamasyon ve anjiyogenez ile ilişkilidir. Endotrofin, obez yağ dokusunda birikir ve yağ dokusu iltihabını ve fibrozisini artıran bir sinyal molekülü olarak görev yapar. Bu da yağ dokularında metabolik işlev bozukluğuna ve sistemik insülin direncine yol açar. Ayrıca endotrofin, meme ve kolon kanseri biyopsilerinde tümör mikro çevresindeki hem kanser hücrelerinde hem de tümör stromal hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilir. Kanser ortamlarında, endotrofin, tümöre yatkın nişi etkileyen güçlü bir pro-fibrotik faktördür ve tümör mikro çevresinde tümör stromal genişlemesinin bir tetikleyicisidir [105, 109].

Endotrofin, yağ dokusunda bol miktarda eksprese edilir. Makrofajlar için bir kemoçekikidir, endotel hücreleri üzerinde etki gösterir ve epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) yoluyla tümör hücrelerinin ilerlemesini arttırmaktadır [110].

Güçlü biyoaktiviteye sahip küçük bir molekül olarak, endotrofinin farklı dokulardaki olumsuz etkileri kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve obez yağ dokusunda fibrozis ve inflamasyonu uyardığı bildirilmiştir. Endotrofinin daha fazla lipid birikimine ve daha büyük adipositlere neden olduğu gösterilmiştir [10, 111].



Şekil 2. 5. Endotrofinin beyaz yağ dokusunun farklı hücre popülasyonlarında işlevleri için çalışma modeli [111]

Metabolik olarak sağlıklı yağ dokusu mikro çevresinde endotrofin, ilaç ve fibrozis süreçlerini tetikleyerek insülin direncine katkıda bulunabilir. Endotrofini nötralize eden antikorlarla bloke edildiğinde olumsuz metabolik reaksiyonlar iyileştirilebilir ve yüksek yağlı diyet etkisi sırasında oluşan fonksiyon bozukluğu etkili bir şekilde tersine çevrilebilir. COL6A3 ve endotrofin, yağ dokusundaki inflamatuvar yanıtların temel yönlendiricileridir ve insülin direncine yol açan durumlarda kritik rol oynarlar [103] (Şekil 2.5).

Endotrofinle enfekte olmuş adipoz dokuda farklı hücre tiplerinde meydana gelen, anormal lipid birikimi, fibrozis, anjiyojenez ve inflamasyon gibi karmaşık olaylar gerçekleşir. Bu kritik hücre tipleri arasında, aşırı beslenmeye yanıt olarak hızla yeniden şekillenme süreci sırasında düzenlenmiş bir etkileşimler dizisi gerçekleşir ve bu da sonunda sistemik metabolik işlev bozukluğuna yol açar [111].

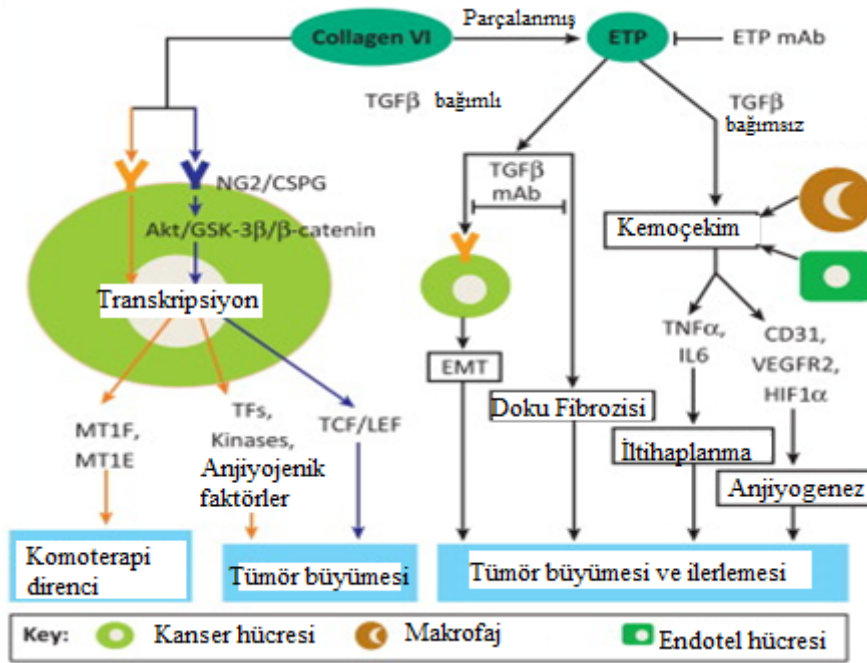
Endotrofin, yağ dokusu inflamasyonunu artıran bağışıklık hücresi toplanmasını ve aktivasyonunu teşvik eder. PKOS hastalarında daha yüksek endotrofin seviyeleri, gelişmiş insülin direnci indeksi homeostaz modeli değerlendirmesi ile PKOS'u öngörmüş olabileceği düşünülmektedir [112].

Endotrofin kanser ilişkisi

Tümör düzeni, tümör oluşumu ve ilerlemesi sırasında mikro çevre ile sıkı bir şekilde iş birliği yapar. Bu tümör mikro çevresi; dışı hücre matriksi (ECM), tümörler tarafından salgılanan biyolojik olarak aktif faktörler ve stromal bozulmanın yansıması lenfatik, damar ve sinir sistemleri tarafından korunur. Ekstraselüler matriksin (ECM) tümörlerin çoğalmasında, adezyonunda, invazyonunda, metastazında ve anjiyojenezinde kritik bir fonksiyona sahiptir. Bu lojistik, tümör değişimine yapısal destek sağlar, hücre sinyalleşmesi ve besin taşınması gibi dağıtımlarda önemli roller üstlenir. ECM'nin temel bölümlerden biri olan kolajen, yalnızca tümör mikro çevresi için değil, aynı zamanda kullanılan diğer dokular için hayati bir proteindir [101].

Kolajen VI'nın endotrofin peptidi in vitro endotel hücrelerinin göçünü ve tübül oluşumunu önemli ölçüde artıran bir proanjiyojenik faktör olarak da işlev görür. Her iki işlevin de anti-endotrofin antikoru tarafından ortadan kaldırılabildiği gösterilmiştir. Bu tür mekanizmaların, anti-Endotrofin antikoru ile inhibe edilebilmesi, kolajen VI'nın tümörle ilişkili iltihaplanmadaki rolüne karşı terapötik müdahaleler için bir hedef olabileceğini düşündürmektedir [108].

Endotrofin akciğer, yumurtalık, pankreas, kolon ve meme kanseri dokularında yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Endotrofinin meme kanserinde metastazı teşvik ettiği ve endotel hücrelerini tümör mikroçevresine çektiği bulunmuştur. Ayrıca interlökin-6 ve TNF-a gibi inflamatuvar belirteçleri yukarı düzenleyerek tümör mikroçevresinde inflamasyonu teşvik ettiğini bildirmiştir [113].



Şekil 2. 6. Tümör ilerlemesine ve kemoterapi direncine katkıda bulunan kolajen VI için sinyal yollarının şematik diyagramı [108]

Kolajen VI, transkripsiyon faktörlerinin (TF'ler), büyüme faktörlerinin, protein kinazların ve anjiyojenik faktörlerin yukarı düzenlenmesi ve Akt–GSK-3β–β-katenin–TCF/LEF yolunun aktivasyonu dahil olmak üzere çeşitli yollarla tümör oluşumunu doğrudan teşvik etmek için tümörlerde yüksek oranda ifade edilir (Kısaltmalar: TCF/LEF, T hücre faktörü/lenfoid güçlendirici faktör; VEGFR2, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 2; HIF1α, hipoksiye bağlı faktör 1 alfa) (Şekil 2.6) [108].

Yüksek endotrofin seviyelerinin, dokudaki mitojenik aktiviteyi artırmak için yeterli olduğu gösterilmektedir. Endotrofinin aşırı ekspresyonu farelerde daha yüksek bir tümör büyümesini desteklemektedir. Endotrofinin daha yüksek vücut kitle indekslerine sahip hastalarda daha agresif bir tümör fenotipi için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir. Endotrofinin hedeflenmesinin, özellikle obez hastalarda meme kanserinin tedavisinde faydalı olabileceği önerilmiştir. Çünkü obezitede işlevsiz yağ dokusu genişlemesi, adipositler aracılığıyla endotrofin zenginleşmesini teşvik eder [59]. Endotrofin ekspresyonu agresif meme tümörü büyümesi ve yüksek metastatik büyüme ile ilişkilendirilmiştir. Bu etkileri tümör hücrelerinin doku fibrozuna ve epitel-mezenkimal geçişine (EMT) katkıda bulunan gelişmiş TGF-β sinyalleme aracılığıyla gerçekleştirmiştir [57]. Tüm bu etkiler

endotrofini metabolizma ve kanser bağlamında potansiyel bir hedef olarak göstermektedir [10].

Endotrofin'in fibrozis ile ilişkisi

Yağ dokusu ECM'sinde daha yüksek COL6 mRNA seviyelerine sahip obez bireylerin daha büyük bir viseral adipoz doku kütesine ve daha yüksek derecede yağ iltihabına sahip olduğu gözlemlenmiştir [59].

Endotrofinin fibrozisi uyardığı, endotel hücre göçünü aktive ettiği ve büyüyen katı tümörlere makrofaj infiltrasyonunu desteklediği ve tüm bu adımlar nihayetinde artmış meme tümörü genişlemesine ve daha belirgin metastatik büyümeye yol açtığı gösterilmiştir [114]. Yakın zamanlı yapılan bir çalışmada, PKOS'lu hastalarda endotrofin düzeylerinin anlamlı derecede daha yüksek olduğu belirlenmiştir [8].

Giderek artan kanıtlar, özellikle ECM ve adipoz dokunun Col6 düzeylerinin patofizyolojik koşullarda yağ hücresi işlevi ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Col6 zincirleri ve bunların türevi ETP'nin, ayrıntılı moleküler mekanizmaları bilinmemekle birlikte, fizyolojik koşullar altında adipojenesis ve lipid metabolizmasında potansiyel olarak belirgin bir rolü vardır [93].

Endotrofin oluşumunda MMP14'ün rolü

MMP14, kolajen proteinlerini dönüştürür ve dolayısıyla genişlemiş yağ hücreleri üzerindeki mekanik stresi serbest bırakır. Bu bağlamda, MMP14 yağ dokusu genişlemesi için metabolik olarak gerekli etkileri sağlar [115]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, MMP14'ün obez yağ dokusunda aşırı ifade edildiği ve C5 alanındaki COL6α3'ü sindirerek endotrofin ürettiği, bunun da fibrozisi uyararak yağ dokusunda makrofaj birikimine yol açtığı ve farelerde olumsuz metabolik sonuçlara yol açtığı bildirilmiştir [106].

Artan MMP14 seviyeleri, özellikle COL6 olmak üzere, birden fazla fibrotik proteinle sıkı bir korelasyon gösterdiği gösterilmiştir. MMP14 endotrofini üreten anahtar kolejenaz olarak tanımlanmıştır. MMP14 ve bunun sonucunda artan endotrofin düzeylerinin obezite ve

obeziteyle ilişkili metabolik hastalıklar için terapötik bir bakış açısıyla büyük bir vaat taşıdığını göstermektedir [10].

2.4. MMP Gen Ailesi

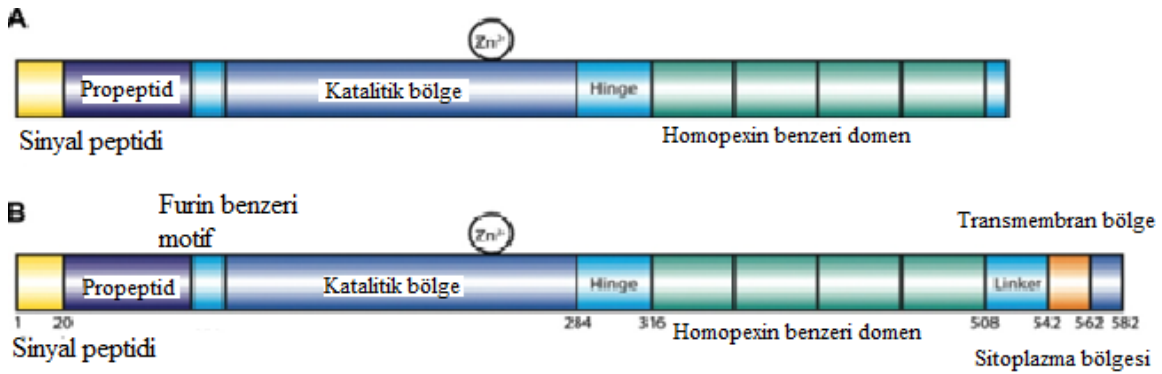
Hücrelerin normal fonksiyonu, yapısal desteği sağlayan ve sinyal iletimine aracılık eden karmaşık ve dinamik bir iskele olan hücre dışı matrikse (ECM) dayanır [100]. Matriks metalloproteinazlar, fibriler ve fibriler olmayan kolajenler, elastin, jelatin, fibronektin, laminin ve diğer glikoproteinler ve proteoglikanlar gibi ana ECM bileşenlerinin parçalanmasını katalize etmede protein sindiren enzimatik aktiviteleriyle matriks dönüşümü için temel araçlar olarak hareket eder [58, 116]. ECM ve bazal membranın (BM) düzenlenmesi birçok işlev için hayati önem taşır ve bireysel hücreler ile çevreleri arasındaki etkileşimleri düzenler [116]. Bu nedenle, MMP'ler doku büyümesi ve rejenerasyonu, yara iyileşmesi, embriyonik büyüme ve gelişme, implantasyon, anjiyojenez, apoptoz, sinir büyümesi, tümör invazyonu ve metastaz gibi normal fizyolojik ve patolojik süreçlerde yer alan büyük bir salgısal proteaz sınıfıdır [116, 117]. Bu enzimler, metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP'ler) adı verilen proteaz inhibitörleri tarafından sürekli olarak düzenlenir [106]. Ortak özellikleri, katalitik bölgede Zn^{2+} ya bağlanan üç histidin içeren oldukça korunmuş bir HEXXHXXGXXH(H/D) alanı ve aktif bölgenin karboksil tarafında son konformasyonlarından sorumlu bir Met-dönüşü oluşturan korunmuş bir metiyonin dizisidir (XBMX) [118]. Ek olarak, MMP-14'ün hücre içi moleküllerle etkileşime girdiği kısa bir sitoplazmik kuyruğu vardır [119].

MMP'ler, prodomain'deki bir sistein kalıntısı ile aktif bölgedeki bir çinko iyonu arasındaki etkileşimle oluşturulan ve aktif bölgeyi etkili bir şekilde bloke eden uykuda bir durumda bulunan zimojen proteinazlar (pro-MMP'ler) olarak salgılanır [119]. Bu enzimler, fibroblastlar, osteoblastlar, lenfositler, makrofajlar, endotel hücreleri ve sitotrofoblastlar dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde ifade edilir. Hücrelerden veya plazma membranına bağlanan proteoglikanlar aracılığıyla salınabilirler. MMP'lerin çeşitli hücre kökenleri ve dağılımları, bunların canlı organizmadaki farklı rollerini ve hastalıkları tedavi etmek için MMP düzeylerini değiştirme potansiyelini yansıtır [120].

Çoğu MMP, bir N-terminal propeptidin kesilmesi üzerine aktive olan inaktif pro-enzimler olarak salgılanır. MMP'ler gen ifadesi, bölümlendirme, proenzim aktivasyonu, dış molekül

manipölasyonu ve enzim inaktivasyonu düzeylerinde düzenlenir. Metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP'ler), MMP aktivitesini düzenlemede önemli bir rol oynar [119, 121].

MMP'ler normal dokularda veya çevresinde düşük seviyelerde ifade edildiği bilinirken, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, akciğer hastalıkları, artrit ve epilepsi ve çeşitli kanser türleri gibi merkezi sinir sistemi bozuklukları dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar sırasında aktive edildiği ve aşırı ifade edildiği bilinmektedir. Buna göre, MMP'ler kanser tedavisi için reseptörler, tanı belirteçleri ve ilaç salınım anahtarları olarak hedeflenebilir ve MMP aktivasyonu ile inhibisyonu arasındaki dengesizlik kanser patofizyolojisinde önemli bir rol oynar [122].



Şekil 2. 7. Tipik bir MMP ve MMP-14'ün korunan alanları [119]

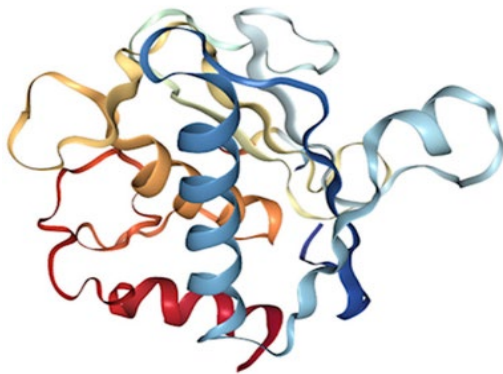
Tipik bir serbest bırakılmış MMP aile üyesinin alanları (A) ile membranla bağlı MMP-14'ün alanları (B) farklılıklar gösterir (Şekil 2.7.). MMP ailesi içinde membran tipi I MMP'nin (MT1-MMP, MMP14), kolajen açısından zengin bir ortamda hücre göçünü destekleyen tek MMP olduğu gösterilmiştir [94].

Kanser, inflamasyon, kardiyovasküler hastalıklar ve sinir sistemi bozuklukları dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar, tümör ilerlemesini, metastazı ve inflamasyonu teşvik edebilen belirli MMP alt tiplerinin düzensiz ekspresyonuyla ilişkilendirilmiştir [120].

Artan kanıtlar, tümör ilerlemesi sırasında mikro çevredeki değişiklikleri düzenlemek ve dolayısıyla tümör davranışını değiştirmek için hücre dışı proteinazların bir rolü olduğunu desteklemektedir. Bunlar arasında plazma zarlarına salgılanan veya bağlanan 20'den fazla çinko bağımlı endopeptidaz ailesi olan matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) yer almaktadır. Bu proteinlerin hücre yapışması ve göçünde, hücre temasının bozulmasında, tümör anjiyojenezinde ve sitokin ve büyüme faktörlerinin proteolitik işlenmesinde doğrudan bir rol oynadığı ve dolayısıyla karmaşık tümör oluşumu sürecinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir [124].

2.4.1. MMP14

MMP-14 (Matrix Metalloproteinase-14), başlangıçta inaktif bir zimogen olarak sentezlenir. Daha sonra plazma zarına yerleşerek 57 kDa'lık aktif bir peptit dönüştürülür (Şekil 2.9). Ancak bu aktif form, otokatalitik bir süreçle inaktif bir bozunma ürünü olan 44 kDa'lık bir peptit üretir. Bu otokatalitik aktivitenin özellikle MMP-14'ün hinge bölgesinde yoğunlaştığını, yani bu bölgenin bir "sıcak nokta" (hotspot) olarak kullanımının yaygınlaştığı belirtilmiştir [119].

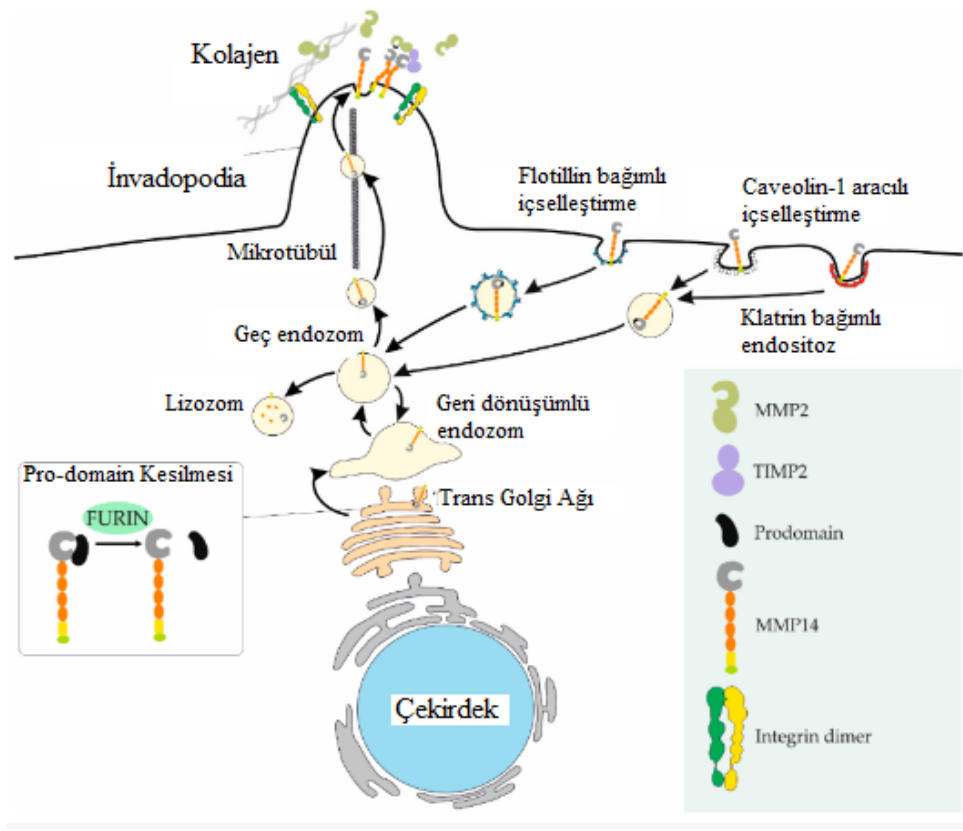


MMP-14

Şekil 2. 9. MMP14'ün 3 boyutlu yapısı [125]

Membran tip 14 matriks metalloproteinaz (ayrıca membran tipi 1 MMP, MT1-MMP olarak da adlandırılır) başlangıçta tümör hücrelerinde bulunan bir hücre yüzeyi proteazı olarak tanımlanmıştır. 20 yılı aşkın bir süredir MMP14 kanser ilerlemesinde anahtar bir bileşen

olarak kabul edilmiştir. Başlangıçta, MMP14'ün sadece proMMP-2'nin aktivasyonu ve fibriller kollajenin bozulmasında rol aldığı düşünülmekteydi [126].



Şekil 2. 10. MMP14'ün plazma membran ekspresyonu [9]

ECM bozunumu ve kanser hücresi invazivliğine katkısı ile ilgili olarak, kanser hücrelerinin invadopodia adı verilen sitoskeletal çıkıntılara sahip olduğu ileri sürülebilir. Bu yapıların tepesinde, MMP'lerin çevredeki ortama salınması gerçekleşir [127]. Invadopodia, kötü huylu hücrelerde matriks bozulmasından sorumlu en kapsamlı şekilde karakterize edilmiş yapılardır. Bunlar, iskele ve yapışma proteinleriyle çevrili aktin açısından zengin bir çekirdekten oluşur ve örneğin büyüme faktörü ve integrin sinyallemesine yanıt olarak oluşabilirler [95] (Şekil 2.10).

Translasyondan sonra MMP14, proprotein konvertazlar (yani furin) tarafından Trans-Golgi Ağı'nda kesilen inhibitör bir pro-domain içeren inaktif bir zimogendir. Daha sonra MMP14, mikrotübüller aracılığıyla yüksek matriks bozunma yeteneklerine sahip aktin açısından zengin çıkıntılar olan invadopodialara taşınır. MMP14'ün hücre içine alınması klatrin,

flotilin ve/veya caveolin 1'e bağılı endositoz yoluyla gerçekleşir. İçe alınan MMP14 daha sonra geç ve geri dönüşümlü endozomlarda depolanır ve burada plazma membranına yeniden yönlendirilebilir veya lizozomlarda parçalanabilir [9].

Çeşitli ekstraselüler aktivitelere sahip benzersiz bir zarla bağılı kolajenaz olan MMP14, ECM proteinlerini parçalamada, sitokin salınımını düzenlemede ve hücre yüzeyi reseptörlerinin ifadesini değiştirmede önemli bir rol oynar. Bu aktiviteler ECM'nin bütünlüğünü, matriks içindeki hücrelerin fenotipini ve davranışını kritik bir şekilde etkiler. Böylece metastazı teşvik eder. MMP14 ayrıca MMP2, MMP9 ve MMP13 dahil olmak üzere diğer MMP'leri aktive etme yeteneğiyle de bilinir ve kötü huylu kanser hücrelerinde olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde yaygın olarak ifade edilir [128].

Malign tümör hücrelerinin istilası ve metastazı, hücre dışı matrikslerin parçalanmasını ve çıkarılmasını gerektirir. Tümörün ilerlemesi sırasında, bazı habis hücreler uzak metastaz oluşturma yeteneği kazanır. Yapısal olarak ilişkili enzimlerin bir ailesi olan matriks metalloproteinazların (MMP'ler), bazal membranı ve hücre dışı matriks proteinlerini parçalayarak kanser hücresi istilasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir [129].

MMP alt sınıflarından biri olan MMP14, C-terminalinde benzersiz bir transmembran alanına sahiptir [125]. MMP14 mezenkimal kök hücreler, fibroblastlar, osteoblastlar, osteoklastlar, kondrositler, epitel hücreler, endotel hücreler, yağ hücreleri, miyeloid hücreler, nöronal hücreler, T hücreleri ve B hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tipinde ifade edilir. Dahası MMP14'ün birçok kanser hücresinde aşırı ifade edildiği ve bunun kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur [94].

MMP-14 proteolitik aktivitesi katalitik alanda merkezlenmiştir. Çinko, üç histidin ve bir metiyonin kalıntısıyla ilişki kurarak hidrofobik katalitik cebi stabilize eder. MMP-14'ün C-terminal alanı bir hinge bölge, hemopeksin alanı, transmembran çapa ve sitoplazmik kuyruktan oluşur. 24 amino asitten oluşan hidrofobik transmembran alan, MMP-14'ü hücre zarına, C-terminal alanının sitoplazmaya uzanacağı şekilde bağlar. Prolin açısından zengin esnek bağlayıcı bölge, glikozlanmış bölgeleri hem katalitik hem de hemopeksin alanlarının uygun şekilde yönlendirilmesindeki rolü nedeniyle substratlarla ilişkiyi kolaylaştırmaktadır [130]. MMP14 molekülünün aktivasyonu enzimatik katalitik alanı ile transmembran parçası arasında bulunan hemopeksin alanı tarafından düzenlenir. Hemopeksin alanı, MMP14'ün

proteolitik substratlarının tanınmasında rol oynar ve hemopeksinin dimerizasyonu , pro-MMP2 ve pro-MMP13'ü kesen ve aktive eden MMP14 aktivitesini önemli ölçüde artırır [131]. MMP-14 hemopeksin alanının substrat tanımadaki yüksek özgüllüğü, her bir yaprağın en dış ipliğinde bulunan ve her biri sekiz amino asitli bir peptit dizisinden oluşan ek halka yapılarına (diğer MMP'lerde bulunmayan) dayanır. [130]. Bu, ECM proteolizi daha da teşvik eder ve tümör hücrelerinin göçünün, invazyonunun ve metastatik yayılmasının artmasıyla sonuçlanır [131].

MMP geninin, diğer MMP'lere benzer ekzon-intron sınırlarına sahip 10 ekzon ve 9 intron bölgesi bulunur. MT1-MMP promotörü, -25 pozisyonunda korunan bir TATA kutusu ve -80 pozisyonunda bir AP-1 bağlanma bölgesinin olmaması nedeniyle diğer klasik MMP'lerden farklıdır [94].

Bir transmembran alanı veya GPI-çapa ile hücre zarlarına bağlı olan altı MT-MMP, bu işlevleri hücre yüzeyiyle ilişkili ekstraselüler matriks bozulması veya sinyal reseptörlerinin, yapışma moleküllerinin , büyüme faktörlerinin ve diğer periselüler proteinlerin dökülmesi veya salınması dahil olmak üzere proteolitik protein işlenmesi yoluyla uygulayabilir [95].

MMP-14 etkilerini 4 temel mekanizma yoluyla gösterir: 1) ECM moleküllerinin kesilmesi, 2) anjiyojenik faktörlerin yukarı düzenlenmesi, 3) hücre yüzeyinde ifade edilen hücresel yapışma molekülleriyle etkileşimler ve 4) antianjiyojenik faktörlerin bozulması. Tip I kolajenin kesilmesi yalnızca ECM'yi bozmakla kalmaz, aynı zamanda endotel hücrelerinin göçünü, organizasyonunu ve yeni damarlar oluşturmak üzere yönlendirilmesini uyarır [119].

MMP14, zarla çevrili bir kolajenazdır ve MMP2'nin ana aktivatörüdür. MMP14, tümör mikro çevresinde kullanılır ve tümör invazyonunu ve metastazını teşvik eder. MMP14 polimorfizmleri, serviks kanseri, özofageal skuamöz hücreli karsinom ve karaciğer karsinomu dahil olmak üzere kanser duyarlılığını ve klinik özelliklerini etkiler [132].

MMP14 ekspresyonu, melanom, mide kanseri, pankreas kanseri, ileri nöroblastom, küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mezotelyoma, dil yassı hücreli karsinom,

baş ve boyun kanseri, mesane kanseri, meme kanseri, kolorektal kanser ve yumurtalık kanseri olan hastalarda kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir [102, 126, 133-137].

MMP14'ün kanser ilerlemesindeki rolüne ilişkin ilk görüş metastazı kolaylaştırmak için proMMP-2'nin aktivasyonu ve fibriler kolajeni bozduğu yönündedir. Hücre içi MMP14 aktivitesi, kanser hücresi metabolik fonksiyonlarını düzenler. MMP14 anjiyogenezde önemli bir role sahiptir. Tümör mikro ortamı ayrıca yerel pH ve oksijen ve besin içeriğine dayalı olarak MMP14 aktivitesini de etkiler [126].

MMP14, kötü huylu over tümörlerinde ve karaciğer kanserinde aşırı ifade edilir ve ifade düzeyi zayıf genel sağ kalımla ilişkilidir. İnvazyon, göç ve büyüme ve anjiyogenez oluşumu gibi hücre davranışları MMP14 proteolizi ile değiştirilebilir. Bu nedenle MMP14, normal hücre gelişiminden kanser hücresi büyümesine kadar fizyolojik ve patolojik süreçlerde anahtar bir protein olarak kabul edilir [138].

Hem MMP-2 hem de MMP14, yüksek dereceli yumurtalık kanserlerinde, düşük dereceli yumurtalık kanserlerine göre önemli ölçüde daha yüksek yaygın pozitif oranlar göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, MMP-2, MMP14 ve TIMP-2'nin hepsinin yumurtalık karsinomlarında yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir [129]. MMP-14'ün yumurtalık kanseri hastalarında iyi huylu kitleleri olanlara veya sağlıklı kadınlara kıyasla önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. MMP-14'ün yumurtalık kanserindeki rolüne ilişkin ilk çalışma 1996 yılında gerçekleştirilmiştir. Western blotting, immünohistokimya (IHC) ve immünoöktürme ile birincil yumurtalık tümörlerinden, metastatik dokudan ve asitlerden türetilen kültürlenmiş yumurtalık kanseri hücrelerinin yüzeyinde MMP-14'ün varlığı gösterilmiştir [139].

2.4.2. MMP14 gen polimorfizmi

Genom çapında ilişki çalışmaları, birçok malignite de dahil olmak üzere karmaşık hastalıklara yatkınlıkla ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) keşfini hızlandırmıştır. Proteazların matriks metalloproteinaz (MMP) ailesi, özellikle hücre dışı matriksin bozunumu olmak üzere birçok hücre sürecinde yer alır ve gen ve protein ifadesindeki farklılıkların birçok kanserle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu genler içinde yer

alan SNP'lerin hiçbirisi bugüne kadar yayınlanan genom çapında ilişki çalışmalarında kanserle ilişkili olarak tanımlanmamıştır [140].

Kanserde çeşitli matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ilerleme ve metastazda önemli bir rol oynar. MMP'ler, kanser, inflamasyon ve yara iyileşmesi gibi patofizyolojik süreçlerdeki aktivitelerinin yanı sıra üreme gibi fizyolojik süreçlerde de önemli olan oldukça korunan proteazlardır [141].

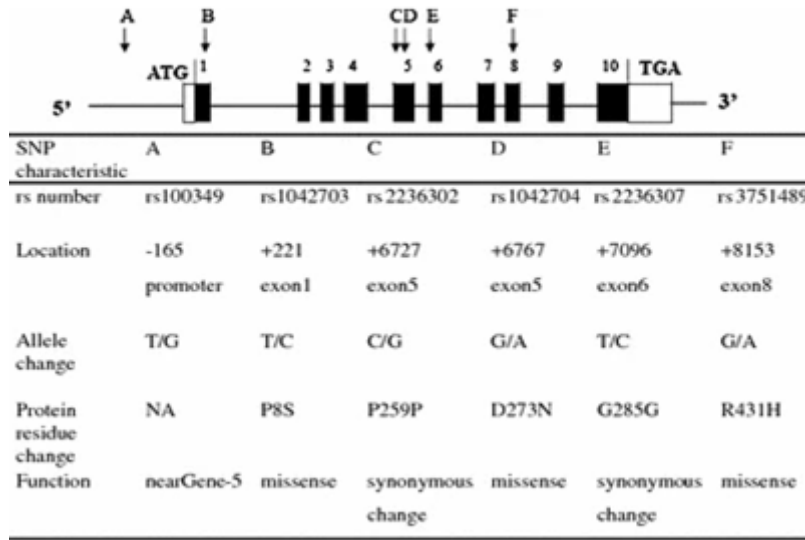
Yakın zamanlı yapılan bir çalışmada 52 endometrial kanser vakalasının 36'sında (%69,2) MMP14'ün pozitif membranöz ve sitoplazmik immünohistokimyasal ekspresyonu tespit edilmiştir. MMP14 immünohistokimyasal ekspresyonunun klinik-patolojik verilerle karşılaştırılması, istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılamasa da yüksek dereceli endometrial kanserlerde ve daha yüksek evrelerde daha düşük derecelere ve evrelere kıyasla daha yüksek MMP 14 ekspresyonu gösterdiği gözlenmiştir [142].

Epidemiyolojik çalışmalar, genetik faktörün bir bireyin kansere duyarlılığını düzenleyen önemli varyantlardan biri olduğunu göstermiştir. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP), bir genin paylaşılan dizisindeki tek bir nükleotidin bir türün üyeleri veya bir bireydeki eşleştirilmiş kromozomlar arasında farklılık göstermesi durumunda ortaya çıkan en yaygın DNA dizisi varyasyonu türüdür ve belirli hastalıkların oluşumu ve gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kanser riskini ve prognozunu tahmin etmek için, ilgili SNP'lerin genotiplendirilmesi basit ve değerli bir yöntem sağlayabilir [138].

MMP-14'ün belirli kanserlerin duyarlılığı veya klinikopatolojik özellikleri üzerindeki katkıları iyi belgelenmiştir. Bu özellikler, MMP-14'ü kanserin ilerlemesi ve metastazıyla doğrudan bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak, MMP-14'ün normal süreçteki süreçlerden kansere kadar geniş bir yelpazede kusurlu ve patolojik olaylarda anahtar rol oynayan bir protein olduğu varsayılmaktadır [143].

MMP-14 genindeki polimorfizmler üzerine çelişkili araştırma sonuçları vardır, bazı araştırmacılar artmış veya azalmış kanser riski bildirirken, diğerleri zayıf klinik sonuçlar bildirmektedir (Şekil 2.11). *MMP14* +6767 G/A genotipinin, karşılık gelen vahşi tip genotipine kıyasla HCC için daha düşük risk taşıdığını göstermiştir . +6767 bölgesi MMP14 geninin 5. eksonunda (+6639 ~ + 6800) yer almaktadır . +6767 G/A neden

olan protein kalıntısı D (aspartik asit) (GAC, GAU), N (asparagin) (AAU, AAC) ile yer değiştirir ve bu da MMP14 proteininin orijinal aktivitesini veya işlevini değiştirebilir. Bu değişim nedeniyle katalitik alandaki negatif yük kaybolur ve bu da MMP-14'ün substratları için enzim aktivitesini etkileyebilir. Bu tür değişiklikler enzim aktivitesindeki farklılıklara katkıda bulunabilir [138, 141].



Şekil 2. 11. Homo sapiens'teki MMP14 geninin ekzon ve intron yapısı [138]

Yumurtalık tümörü olan beyaz kadınlardan oluşan bir kohortta MMP-14 ve MMP-2 polimorfizmlerinin etkisini inceleyen bir çalışmada, *MMP-14* +6767 GG'nin GA'ya göre 2,09 (CI 1,00-4,35) risk oranıyla nüks içermeyen sağkalımı etkilediği bulunmuştur. Ancak bu anlamlılık, çoklu test için düzeltme yapıldıktan sonra ortadan kalkmıştır [141].

SNP- Tek Nükleotid Polimorfizmleri

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), insan genetik varyasyonunun en yaygın biçimidir ve karmaşık genetik özellikleri haritalamak için bir kaynaktır. Yüksek verimli dizileme projeleri tarafından üretilen büyük hacimli veriler, zengin ve büyük ölçüde kullanılmayan bir SNP kaynağıdır [144].

Tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) ortalama olarak 250-1000 bp'de bir kez meydana geldiği ve insan genomundaki DNA dizisi varyantlarının yaklaşık %90'ını oluşturduğu tahmin edilmektedir [145].

Yeni bir moleküler belirteç teknolojisi olan tek nükleotid polimorfizmi (SNP), DNA dizisindeki belirli bir lokustaki tek bir nükleotid mutasyonunun neden olduğu bir dizi polimorfizmi ifade eder. Bu tür polimorfizm, tek baz geçişlerini, tranversiyonları, eklemeleri ve delesyonları içerir. Minör alel frekansı %1 veya daha fazla olmalıdır. Tüm mutasyon tipleri arasında SNP en yaygın olanıdır (yaklaşık %66,6). Şu anda, SNP belirteçleri genomda bol miktarda bulundukları, genetik olarak kararlı oldukları ve yüksek verimli otomatik analize uygun oldukları için tercih edilen genotipleme yaklaşımlarından biridir [146].

Genetik varyantlar protein seviyelerinde ve yapısında anormalliklere yol açabilir ve bu da bir bireyin çeşitli hastalıklara karşı duyarlılığını etkileyebilir. SNP, incelenen en yaygın DNA dizisi varyasyon türüdür [147].

Belirli bir genin, kodlama, promotör veya düzenleyici bölgesinde ortaya çıkan bir SNP'nin işlevsel sonuçları olabilir. Bir genin ifadesinin, genin promotöründe veya diğer düzenleyici bölgelerinde bulunan tek bir nükleotid polimorfizminden (SNP) etkilendiği ve çevrilen proteininin üretimi veya aktivitesinin daha da modüle edildiği bilinmektedir. SNP, bir genin paylaşılan dizisindeki tek bir nükleotidin bir türün üyeleri veya bir bireydeki eşleştirilmiş kromozomlar arasında farklılık göstermesi durumunda ortaya çıkan en yaygın DNA dizisi varyasyonu türüdür ve belirli hastalıkların oluşumu ve gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [143].

Mevcut SNP genotipleme teknikleri neredeyse yalnızca PCR ile hedef DNA dizisinin amplifikasyonuna dayanır, ancak farklı aleller arasında ayırım yapma araçları bakımından farklılık gösterir, bazıları önemli PCR sonrası manipülasyonları içerir [145].

MMP'lerin tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) doğumdan itibaren mevcuttur ve transkripsiyonel aktivite, ifade ve MMP'lerin enzimatik aktivitelerindeki değişikliklerle ilişkili olduğu bilinmektedir [58].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı bünyesinde gerçekleştirilen çalışmada yararlanılan araç ve gereçler:

- Buzdolabı: Arçelik
- Derin Dondurucu (-20): Bosch
- Derin Dondurucu (-80): New Brunswick Scientific U410 Premium
- Vorteks: Select Bio Products
- Çok Kanallı Mikropipet: Socorex
- pH metre: Inolab
- Mikroplaka Okuyucu: Azure biosystems
- Ultra saf su cihazı: Direct-Q 3UV
- Hassas terazi: Sartorius

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Laboratuvarı bünyesinde gerçekleştirilen çalışmada yararlanılan araç ve gereçler:

- Thermal cyclers: Techne, TC-412
- Thermal cyclers: BIO-RAD, T100
- Mikrodalga fırın: White westinghouse
- UV Transluminatör: Syngene, Ingenius
- İnkübatör: Nüve EN400
- Santrifüj cihazı: Nüve NF800R
- Elektroforez cihazı: Cleaver Scientific
- Vorteks: Labnet

3.2. Çalışma Grubu

Bu tez çalışmasında PKOS'lu ergenlerde serum endotrofin ve MMP14 düzeyleri ile diğer inflamasyon sitokinlerinin ilişkisi, PKOS hastalığında genotip-fenotip kombine bilgisi

değerlendirilerek endotrofin ve ile MMP14 gen polimorfizminin rolü ve bireysel farklılıkların nasıl bir etkiye sahip olacağı kesitsel olarak incelenmiştir.

Çalışmaya Ankara Atatürk Sanatoryum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrinolojisi Kliniği'ne başvuran 10-18 yaş grubu 100 aşırı kilolu PKOS'lu ergen, 50 normal kilolu PKOS'lu ergen, 41 aşırı kilolu PKOS'lu olmayan ergen ve Sağlam Çocuk Polikliniği'ne başvuran aynı yaş grubu sağlıklı ve normal kilolu 98 ergen dahil edilmiştir. Çocukların serum ve kan örnekleri Ankara Atatürk Sanatoryum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrinoloji ve Sağlam Çocuk Polikliniklerinden toplanarak Gazi üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD laboratuvarı ve Gazi üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji ABD laboratuvarında çalışılmıştır.

Çalışma için örnek toplamadan önce Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı (26.09.2022 tarihli 020-685'nolu karar) alındı (EK.1). Proje Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi (BAPSİS) tarafından (BAP Proje kodu: TDK-2023-8311) ve TÜBİTAK tarafından (ARDEB proje kodu: 324S257) desteklendi. Çocuklara ve ailelere çalışmaya dahil edilmeden önce çalışmanın detayları hakkında sözlü ve yazılı olarak bilgi verildi. Ayrıca hem ebeveynlere hem de çocuklara bilgilendirilmiş gönüllü olur formları (BGOF) imzalatılarak izin alınmıştır.

Kayıtlı her bir ergen için Olgu Rapor Formu doldurulmuş ve çalışma personelinden yetkili bir temsilci tarafından imzalanmıştır.

Ergenlerin demografik bilgileri yüz yüze uygulanan anket yöntemi ile belirlenmiştir. Vücut ağırlığı (kg), boy uzunluğu (cm), BKİ (kg/m^2) gibi antropometrik ölçümleri belirtilen yöntemlere uygun olarak alınmıştır (Ek-2).

Kan örnekleri ve serum örnekleri çalışmaya katılan ergenlerden en az 8 saatlik açlık sonrasında venöz damardan en az 3 ml olacak şekilde biyokimya tüpüne ve en az 5 ml olacak şekilde EDTA'lı tüpe alınmıştır. Serum için alınan örnekler santrifüj edilerek porsiyonlanmış, tam kan örnekleri hemoliz olmamasına dikkat edilerek soğutularak her iki numune türü de -20°C 'de saklanmıştır.

3.2.1. PKOS ergen grubu

PKOS'un klasik özellikleri arasında klinik veya biyokimyasal hiperandrojenizm, kronik anovülasyonla ilişkili oligomenore veya amenore ve polikistik over morfolojisi yer alır [148]. Mevcut fikir birliği, Rotterdam kriterlerinin yetişkin kadınlar için uygun olduğudur. PKOS tanısı için kadınların üç özellikten ikisini karşılaması gerekir: oligo-ovülasyon veya anovülasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm veya diğer bozuklukların dışlanmasıyla ultrasonda polikistik over morfolojisi. Ancak, ergenlik çağındaki kızlarda PKOS için uygun tanı kriterlerini belirlemek zordur çünkü düzensiz âdet kanamaları, kistik akne, hafif hiperandrojenizm ve multifoliküler over morfolojisi normal ergenlik olgunlaşması sırasında da ortaya çıkar. Normal ergenlik gelişimi ile PKOS ile ilişkili klinik özellikler arasındaki bu benzerlikler ergenlik çağındaki kızlarda tanıyı zorlaştırır [149-151]. Yetişkin kadınların değerlendirilmesine benzer şekilde, düzensiz âdet kanamaları ve/veya hiperandrojenizm ile ilişkili diğer bozuklukların dışlanması gerekir. Bu bozukluklar arasında KAH (Konjenital Adrenal Hiperplazi), tipik olarak klasik olmayan 21-hidroksilaz eksikliği, androjen salgılayan tümörler, tiroid disfonksiyonu, hiperprolaktinemi, Cushing sendromu, steroid hormonlarının/ androjenlerin ekzojen kullanımı veya şiddetli IR (insülin direnci) sendromu bulunur. Çalışmamıza seçilenler, bu dışlamalar yapıldıktan sonra kriterlere uyan hastalar PKOS grubu olarak alınmıştır. Çalışmamızda Çocuk Endokrinoloji polikliniğine başvuran 150 PKOS'lu ergen (normal kilolu ya da aşırı kilolu) değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.2. Aşırı kilolu ergen grubu

Ülkemizde yapılan “Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması-2010” obezite sıklığının erkeklerde %20,5, kadınlarda %41 ve toplamda %30,3 olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada fazla kilolu olma sıklığı %34,6 olarak bildirilmiştir [152]. Yine ülkemizde yapılan saha çalışmalarında çocuklarda obezite prevalansı %9,7-12,8 bulunmuştur [153]. İstanbul ilinde yapılan bir çalışmada fazla kilolu olma prevalansının kızlarda 12-13 yaşlarında %21, erkeklerde 11-12 yaşlarında %27 ile en yüksek düzeye çıktığı görülmüştür. Bundak ve ark.'nın çalışmasında 18 yaş erkek çocuklarda fazla kilolu olma sıklığı %25, obez olma sıklığı ise %4 olarak verilmiştir [154].

Obezitenin tanımlanmasında vücut ağırlığı tek başına yeterli değildir. Bu nedenle vücut ağırlığın (kg), ölçülen boy uzunluğunun karesine (m^2) bölünmesi ile bulunan BKİ değerleri kullanılmaktadır.

BKİ: Kilogram cinsinden vücut ağırlığı $\div$ (metre cinsinden boy)² formülü ile hesaplanır.

Etnik kökenlere göre değişiklik göstermesi, kısa boylu çocuklarda ve kas kitlesinin fazla olup yağ dokusunun az olduğu çocuklarda yüksek çıkması bu yöntemin duyarlılığını azaltsa da hala günümüzde obeziteyi tanımlamak için 2 yaşından büyük çocuklarda en sık başvurulan yöntemdir [155].

Çocuklarda erişkinlerdeki gibi sabit BKİ değerleri yerine yaş ve cinsiyete göre hazırlanmış persentil eğrileri kullanılmaktadır. Etnik gruplar arasında farklılıklar olabileceği için her ülkenin kendi çocukları için hazırlanmış persentil eğrilerini kullanması gerekmektedir. ABD’de, CDC (The Centers for Disease Control and Prevention) tarafından hazırlanan BKİ normogramları mevcut olsa da ülkemizde, bu amaçla Olcay Neyzi ve arkadaşlarının hazırladıkları BKİ persentil değerleri kullanılmaktadır [156].

BKİ’nin yaş ve cinsiyete göre 5 persentilden küçük olması “zayıf”, 5-85 persentil arasında olması “normal kilolu”, 85-95 persentil aralığında olması “fazla kilolu”, 95 persentil ve üzerinde olması “obez”, 95 persentil değerinin %120’sinin üzerinde veya BKİ’nin ≥ 35 kg/ m^2 (hangisi daha düşükse) olması “şiddetli obezite” olarak tanımlanır [157, 158].

Standart sapma skoruna (SDS) göre sınıflandırılırken de cinsiyete ve yaşa göre, BKİ’nin SDS’si -1-1 arasında ise “normal kilolu”; 1-2 arasında ise “fazla kilolu”, ≥ 2 ise “obez” olarak değerlendirilir [159, 160]. Çalışmamıza Çocuk Endokrinoloji polikliniğine başvuran 41 aşırı kilolu ergen dahil edilmiştir.

3.2.3. Aşırı kilolu PKOS’lu ergen grubu

Hem PKOS hem de obez özelliği taşıyan çocukların olduğu grubu kapsar. Çalışmamızda Çocuk Endokrinoloji polikliniğine başvuran 100 PKOS’lu aşırı kilolu ergen değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.4. Sağlıklı ergen grubu

Çalışmamızda Sağlam Çocuk polikliniğine başvuran 98 PKOS'lu olmayan ve normal kiloda ergen değerlendirmeye alınmıştır. Herhangi bir PKOS tanısı olmayan ve WHO (2007)'nin 10-18 yaş arası cinsiyete özgü referanslarına göre BKİ değeri 5-85 arasında olan normal kilolu ergenler araştırmaya dahil edilmiştir.

3.2.5. Çalışmaya dahil edilme kriterleri

10-18 yaşları arasında arasındaki aşırı kilolu PKOS'lu , aşırı kilolu, normal kilolu PKOS ve PKOS olmayan ve normal kilolu ergenler;

Türkiye'nin yaş ve cinsiyete özgü referanslarına göre BKİ değeri 5-85. Persentil arasında olan normal kilolu olarak sınıflandırılan PKOS olmayan ergenler;

Türkiye'nin yaş ve cinsiyete özgü referanslarına göre BKİ değeri 5-85. Persentil arasında olan normal kilolu olarak sınıflandırılan PKOS olan ergenler

Türkiye'nin yaş ve cinsiyete özgü referanslarına göre BKİ değeri ≥ 95 . Persentil olan obez olarak sınıflandırılan PKOS olmayan ergenler

Türkiye'nin yaş ve cinsiyete özgü referanslarına göre BKİ değeri ≥ 95 . Persentil olan obez ve PKOS olan ergenler.

3.2.6. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

10 yaşından küçük ve 19 yaşından büyük ergenler,

Türkiye'nin yaş ve cinsiyete özgü referanslarına göre BKİ < 5 . persentili olan zayıf olarak sınıflandırılan ergenler.

Herhangi bir kronik hastalığa ve enfeksiyon hastalıklarına sahip ergenler.

Herhangi bir nedenle reçeteli ilaç kullanımı olan ergenler araştırmaya dahil edilmemiştir.

3.3. Deneysel Ölçümler

Serumda endotrofin ve MMP14 düzeyleri ile inflamasyon sitokinleri olan TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI-1 düzeyleri ELISA yöntemi ile ilgili ticari kitin öngördüğü şekilde ölçülmüştür.

Lipid düzeyleri (HDL, LDL, TG, Total kolesterol), glikoz, insülin, FSH, LH, östrojen (E2) ve CRP değerleri hastanede kullanılan rutin laboratuvar testlerine göre ölçülmüştür.

Gen polimorfizmi için sağlıklı ve hasta grubundan toplanan örneklerden *MMP14 +6767 gen* polimorfizmi T-ARMS-PCR yöntemi ile analiz edildi.

PKOS hastalığında genotip-fenotip kombine bilgisi değerlendirilerek PKOS hastalığında endotrofin ve diğer inflamasyon sitokinlerinin ilişkisi ile MMP14 gen polimorfizminin rolü ve bireysel farklılıkların nasıl bir etkiye sahip olacağı araştırıldı.

3.3.1. ELISA kitleri

Çalışılan örnekler

-80°C’de küçük porsiyonlar halinde saklanan serum örnekleri kullanıldı. Serumda Endotrofin (Sunred), MMP14 (Nepenthe), TNF- α (Nepenthe), PAI1(Nepenthe), IL-6 (Nepenthe) ve IL-8 (Nepenthe) tespiti için ticari kitler kullanıldı.

Yöntemin temel prensibi

Çalışma “enzim immunoassay” yöntemine dayanmaktadır. Antijen-antikor kompleksleri kuyucuk iç yüzeyine tutunurlar. Tutunmayan kompleksler yıkama işlemi ile temizlenir. Reaksiyon sonunda oluşan sarı renkli kompleksin absorbansı 450 nm’de ölçülür.

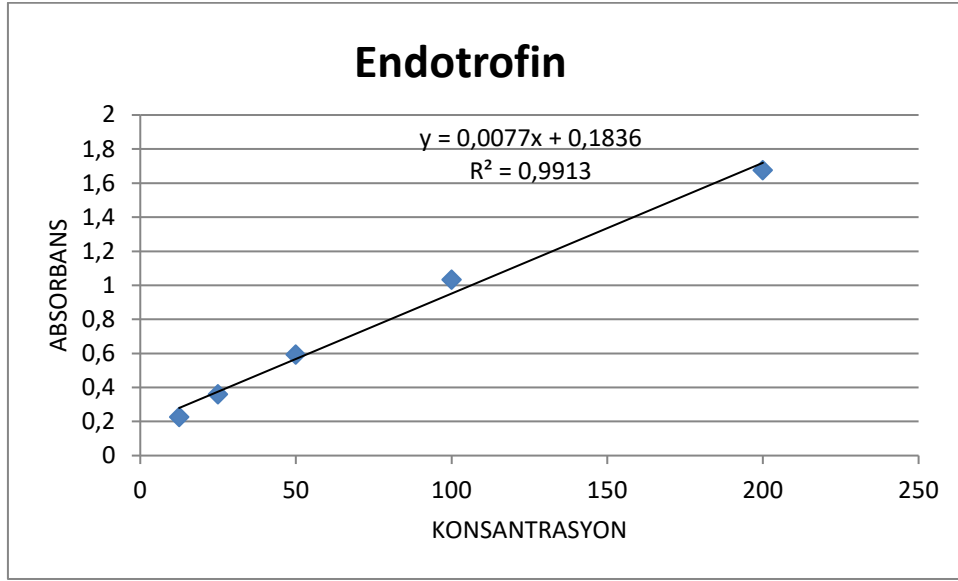
Serum endotrofin düzeylerinin ölçümü

1. Standart solüsyonları kit içeriğinde belirtildiği gibi hazırlandı. 120 μ l orijinal standart, 120 μ l standart seyreltici ile sulandırıldı ve çalkalandı. Stok solüsyondaki standardın konsantrasyonu 200ng/ml’dir. 120 μ l standart seyreltici bulunan 5 farklı tüp hazırlandı. Çift dilüsyon (1/2) serisi oluşturmak için seyreltilmiş standart kullanıldı. Bir sonraki tüpe

- 120µl eklenmeden önce her tüp iyice karıştırıldı. 200ng/ml, 100 ng/ml, 50 ng/ml, 25 ng/ml, 12.5 ng/ml gibi 5 adet seyreltilmiş standart ayarlandı.
2. Boş kuyucuğa örnek, biyotinillenmiş endotrofin antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmedi. Sadece 50 µl Kromojen A ve 50 µl Kromojen B eklendi.
 3. Standart kuyucuklarına 50µl standart solüsyonu ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi.
 4. Test kuyucuklarına 40 µl örnek eklendi. Üzerine 10 µl biyotinillenmiş endotrofin antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi. Plağın üzeri kapatılıp hafifçe çalkalandı ve 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.
 5. Plağın içindeki sıvı döküldü ve her kuyucuk 350µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yıkama solüsyonu eklendikten sonra 1,2 dakika beklendi ve plak boşaltıldı. Bu işlem 5 kez tekrarlandı.
 6. Her bir kuyucuğa 50 µl Kromojen A ve 50 µl Kromojen B eklendi. Karıştırılarak 37°C’de 10 dakika inkübe edildi.
 7. Her bir kuyucuğa 50 µl Durdurma Solüsyonu eklendi (mavi renk sarıya döndü).
 8. Boş kuyucuk sıfır kabul edilerek 450nm’de optik yoğunluk (OD) ölçüldü. Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen OD değerlerine göre standart eğrisi doğrusal regresyon denklemi hesaplandı. Numunelerin OD değerleri regresyon denkleminde uygulandı (Şekil 3.1).

Çizelge 3. 1. Endotrofin standart çözeltilerinin absorbans değerleri

Konsantrasyon (ng/mL)	Absorbans
200	1.677
100	1.033
50	0.594
25	0.361
12.5	0.228



Şekil 3.1. Endotrofin kalibrasyon grafiği

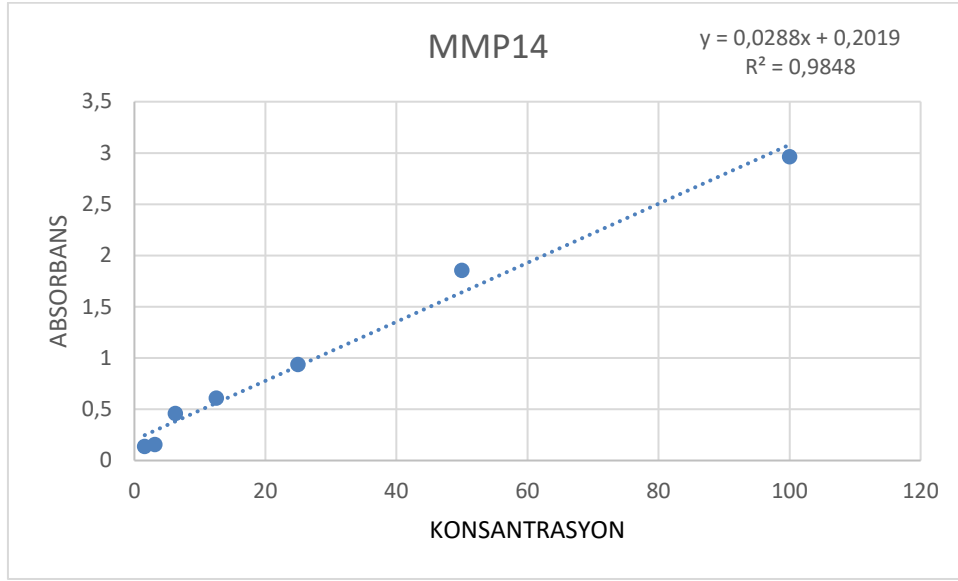
Serum MMP14 düzeylerinin ölçümü

1. Tüm reaktifler, standart çözeltileri ve numuneler talimatlara uygun olarak hazırlanır ve oda sıcaklığına getirildi.
2. Standart 1 ml standart seyreltici ile sulandırıldı ve çalkalandı. Stok solüsyondaki standardın konsantrasyonu 100ng/ml'dir. 0.5 ml standart seyreltici bulunan 7 farklı tüp hazırlandı. Çift dilüsyon (1/2) serisi oluşturmak için seyreltilmiş standart kullanıldı. Bir sonraki tüpe 500µl eklenmeden önce her tüp iyice karıştırıldı. 100 ng/ml, 50 ng/ml, 25 ng/ml, 12.5 ng/ml, 6.25 ng/ml, 3.13 ng/ml, 1.57 ng/ml gibi 7 adet seyreltilmiş standart ayarlandı ve son tüpte yalnızca standart seyreltici kullanıldı.
3. Çalışılacak strip sayısı belirlendi ve plak çerçevesine yerleştirildi.
4. Standart kuyucuklarına 100µl standart eklendi.
5. Boş kuyucuğa 100 µl standart seyreltici solüsyon eklendi.
6. Numune kuyucuklarına 100µl numune eklendi.
7. Plakların üzeri kapatılıp 37°C'de 80 dakika inkübe edilir.
8. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
9. Her kuyucuğa 100µl 1 X biyotininlenmiş konjugat eklendi, karıştırıldı ve üzeri film ile kaplanarak 37°C'de 50 dakika inkübe edildi.

10. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plağın içindeki sıvı döküldü ve 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
11. Her bir kuyucuğa 100 µl 1X Streptavidin-HRP eklendi ve üzeri film ile kaplanarak 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
12. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plağın içindeki sıvı döküldü ve plak 5 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
13. Her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. 37°C’de 20 dakika ışık almayacak şekilde inkübe edildi. Kuyucuklar mavi renk açısından izlendi.
14. 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk sarıya döndü.
15. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450nm’ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğu belirlendi.
16. Her standart, kontrol ve numune için tekrarlanan okumaların ortalaması alındı. Y ekseninde spesifik kit konsantrasyonu ve X ekseninde absorbans ile bir standart eğrisi oluşturuldu ve grafikteki noktalar ile en uygun eğri çizildi.
17. Numuneler seyreltilmiş ise standart eğriden okunan konsantrasyon seyreltme faktörü ile çarpıldı (Şekil 3.2).

Çizelge 3. 2. Serum MMP14 standart çözeltilerinin absorbans değerleri

Konsantrasyon (ng/mL)	Absorbans
100	2.963
50	1.856
25	0.939
12,5	0.61
6,25	0.46
3,13	0.158
1,57	0.139



Şekil.3.2. MMP14 kalibrasyon grafiği

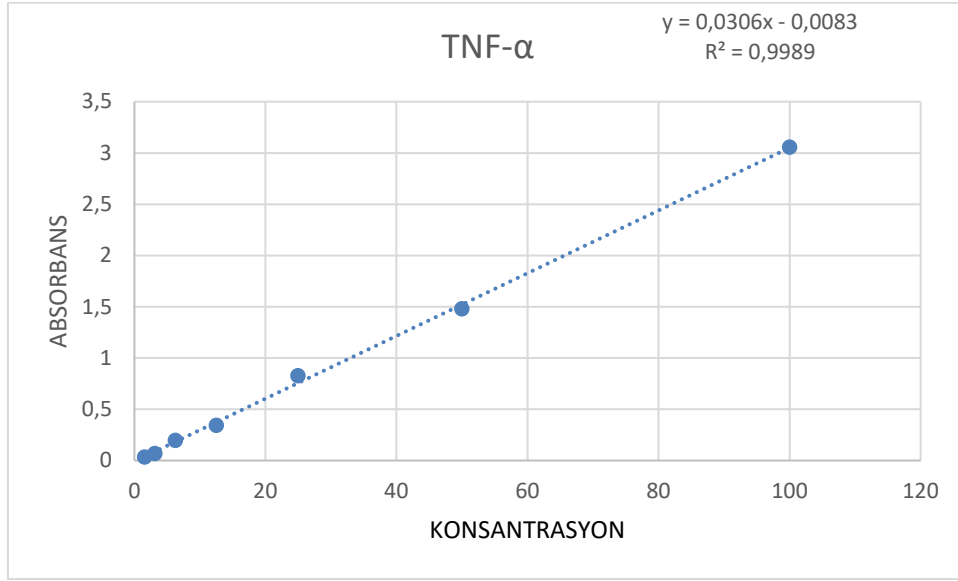
Serum TNF- α düzeylerinin ölçümü

1. Tüm reaktifler, standart çözeltileri ve numuneler talimatlara uygun olarak hazırlanır ve oda sıcaklığına getirildi.
1. Standart 1 ml standart seyreltici ile sulandırıldı ve çalkalandı. Stok solüsyondaki standardın konsantrasyonu 100 pg/ml'dir. 0.5 ml standart seyreltici bulunan 7 farklı tüp hazırlandı. Çift dilüsyon (1/2) serisi oluşturmak için seyreltilmiş standart kullanıldı. Bir sonraki tüpe 500µl eklenmeden önce her tüp iyice karıştırıldı. 100 pg/ml, 50 pg/ml, 25 pg/ml, 12.5 pg/ml, 6.25 pg/ml, 3.13 pg/ml, 1.57 pg/ml gibi 7 adet seyreltilmiş standart ayarlandı ve son tüpte yalnızca standart seyreltici kullanıldı.
2. Çalışılacak strip sayısı belirlendi ve plak çerçevesine yerleştirildi.
3. Standart kuyucuklarına 100µl standart eklendi.
4. Boş kuyucuğa 100 µl standart seyreltici solüsyon eklendi.
5. Numune kuyucuklarına 100µl numune eklendi.
6. Plakların üzeri kapatılıp 37°C'de 80 dakika inkübe edilir.
7. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.

8. Her kuyucuğa 100µl 1 X biyotinillenmiş konjugat eklendi, karıştırıldı ve üzeri film ile kaplanarak 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
9. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü ve 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
10. Her bir kuyucuğa 100 µl 1X Streptavidin-HRP eklendi ve üzeri film ile kaplanarak 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
11. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü ve plak 5 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
12. Her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. 37°C’de 20 dakika ışıık almayacak şekilde inkübe edildi. Kuyucuklar mavi renk açısından izlendi.
13. 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk sarıya döndü.
14. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450nm’ye ayarlanmış bir mikropılaka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğu belirlendi.
15. Her standart, kontrol ve numune için tekrarlanan okumaların ortalaması alındı. Y ekseninde spesifik kit konsantrasyonu ve X ekseninde absorbans ile bir standart eğrisi oluşturuldu ve grafikteki noktalar ile en uygun eğri çizildi.
16. Numuneler seyreltilmiş ise standart eğriden okunan konsantrasyon seyreltme faktörü ile çarpıldı (Şekil 3.3).

Çizelge 3. 3. Serum TNF- α standart çözeltilerinin absorbans değerleri

Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
100	3.057
50	1.480
25	0.827
12,5	0.344
6,25	0.197
3,13	0.070
1,57	0.036



Şekil 3.3. TNF-a kalibrasyon eğrisi.

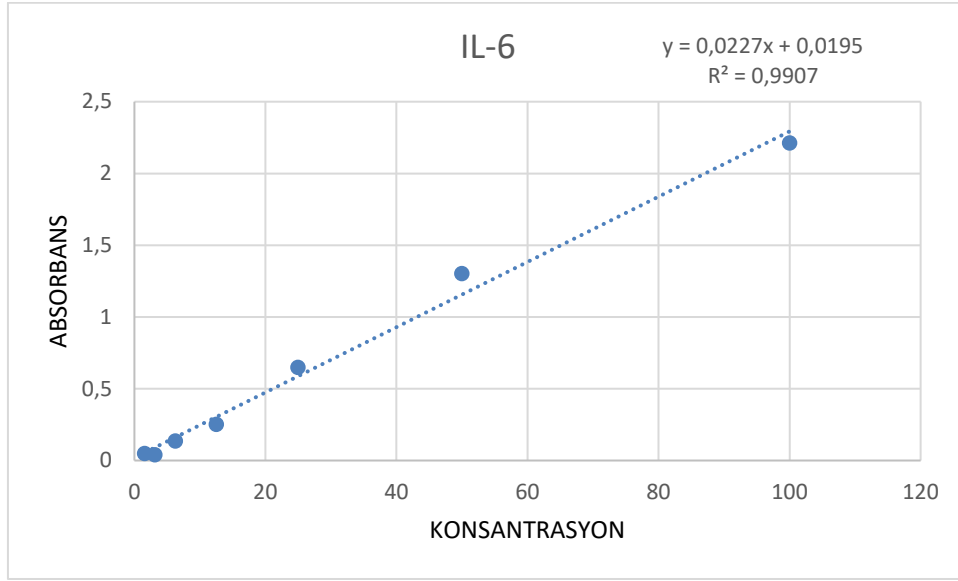
Serum IL-6 Düzeylerinin Ölçümü

1. Tüm reaktifler, standart çözeltileri ve numuneler talimatlara uygun olarak hazırlanır ve oda sıcaklığına getirildi.
2. Standart 1 ml standart seyreltici ile sulandırıldı ve çalkalandı. Stok solüsyondaki standardın konsantrasyonu 100 pg/ml'dir. 0.5 ml standart seyreltici bulunan 7 farklı tüp hazırlandı. Çift dilüsyon (1/2) serisi oluşturmak için seyreltilmiş standart kullanıldı. Bir sonraki tüpe 500µl eklenmeden önce her tüp iyice karıştırıldı. 100 pg/ml, 50 pg/ml, 25 pg/ml, 12.5 pg/ml, 6.25 pg/ml, 3.13 pg/ml, 1.57 pg/ml gibi 7 adet seyreltilmiş standart ayarlandı ve son tüpte yalnızca standart seyreltici kullanıldı.
2. Çalışılacak strip sayısı belirlendi ve plak çerçevesine yerleştirildi.
3. Standart kuyucuklarına 100µl standart eklendi.
4. Boş kuyucuğa 100 µl standart seyreltici solüsyon eklendi.
5. Numune kuyucuklarına 100µl numune eklendi.
6. Plakların üzeri kapatılıp 37°C'de 80 dakika inkübe edilir.
7. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
8. Her kuyucuğa 100µl 1 X biyotinillenmiş konjugat eklendi, karıştırıldı ve üzeri film ile kaplanarak 37°C'de 50 dakika inkübe edildi.

9. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü ve 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
10. Her bir kuyucuğa 100 µl 1X Streptavidin-HRP eklendi ve üzeri film ile kaplanarak 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
11. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü ve plak 5 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
12. Her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. 37°C’de 20 dakika ışık almayacak şekilde inkübe edildi. Kuyucuklar mavi renk açısından izlendi.
13. 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk sarıya döndü.
14. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450nm’ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğu belirlendi.
15. Her standart, kontrol ve numune için tekrarlanan okumaların ortalaması alındı. Y ekseninde spesifik kit konsantrasyonu ve X ekseninde absorbans ile bir standart eğrisi oluşturuldu ve grafikteki noktalar ile en uygun eğri çizildi.
16. Numuneler seyreltilmiş ise standart eğriden okunan konsantrasyon seyreltme faktörü ile çarpıldı (Şekil 3.4).

Çizelge 3. 4. Serum IL-6 standart çözeltilerinin absorbans değerleri

Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
100	2.216
50	1.304
25	0.649
12,5	0.254
6,25	0.137
3,13	0.04
1,57	0.05



Şekil 3.4. IL-6 kalibrasyon eğrisi.

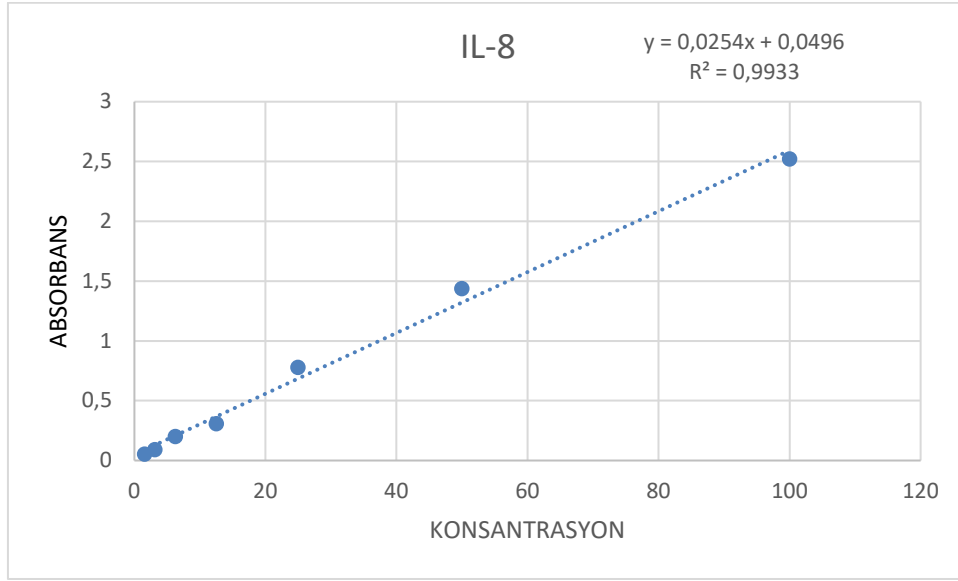
Serum IL-8 düzeylerinin ölçümü

3. Tüm reaktifler, standart çözeltileri ve numuneler talimatlara uygun olarak hazırlanır ve oda sıcaklığına getirildi.
4. Standart 1 ml standart seyreltici ile sulandırıldı ve çalkalandı. Stok solüsyondaki standardın konsantrasyonu 100 pg/ml'dir. 0.5 ml standart seyreltici bulunan 7 farklı tüp hazırlandı. Çift dilüsyon (1/2) serisi oluşturmak için seyreltilmiş standart kullanıldı. Bir sonraki tüpe 500µl eklenmeden önce her tüp iyice karıştırıldı. 100 pg/ml, 50 pg/ml, 25 pg/ml, 12.5 pg/ml, 6.25 pg/ml, 3.13 pg/ml, 1.57 pg/ml gibi 7 adet seyreltilmiş standart ayarlandı ve son tüpte yalnızca standart seyreltici kullanıldı.
5. Çalışılacak strip sayısı belirlendi ve plak çerçevesine yerleştirildi.
6. Standart kuyucuklarına 100µl standart eklendi.
7. Boş kuyucuğa 100 µl standart seyreltici solüsyon eklendi.
8. Numune kuyucuklarına 100µl numune eklendi.
9. Plakların üzeri kapatılıp 37°C'de 80 dakika inkübe edilir.
10. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
11. Her kuyucuğa 100µl 1 X biyotinillenmiş konjugat eklendi, karıştırıldı ve üzeri film ile kaplanarak 37°C'de 50 dakika inkübe edildi.

12. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plağın içindeki sıvı döküldü ve 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
13. Her bir kuyucuğa 100 µl 1X Streptavidin-HRP eklendi ve üzeri film ile kaplanarak 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
14. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plağın içindeki sıvı döküldü ve plak 5 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
15. Her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. 37°C’de 20 dakika ışıık almayacak şekilde inkübe edildi. Kuyucuklar mavi renk açısından izlendi.
16. 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk sarıya döndü.
17. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450nm’ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğu belirlendi.
18. Her standart, kontrol ve numune için tekrarlanan okumaların ortalaması alındı. Y ekseninde spesifik kit konsantrasyonu ve X ekseninde absorbans ile bir standart eğrisi oluşturuldu ve grafikteki noktalar ile en uygun eğri çizildi.
19. Numuneler seyreltilmiş ise standart eğriden okunan konsantrasyon seyreltme faktörü ile çarpıldı (Şekil 3.5).

Çizelge 3. 5. Serum IL-8 standart çözeltilerinin absorbans değerleri

Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
100	2.520
50	1.437
25	0.779
12,5	0.309
6,25	0.203
3,13	0.092
1,57	0.053



Şekil3.5. IL-8 Kalibrasyon Eğrisi

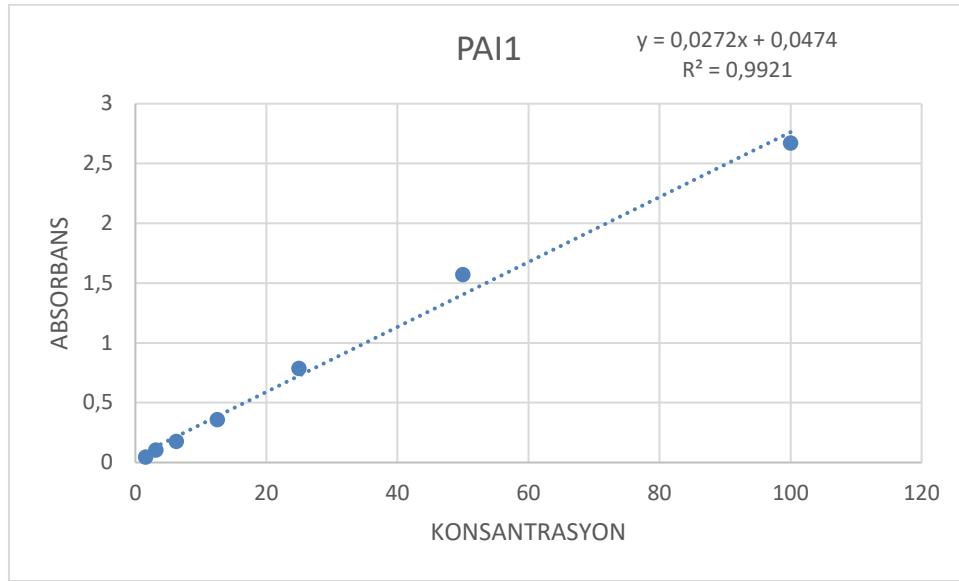
Serum PAI1 düzeylerinin ölçümü

1. Tüm reaktifler, standart çözeltileri ve numuneler talimatlara uygun olarak hazırlanır ve oda sıcaklığına getirildi.
2. Standart 1 ml standart seyreltici ile sulandırıldı ve çalkalandı. Stok solüsyondaki standardın konsantrasyonu 100 pg/ml'dir. 0.5 ml standart seyreltici bulunan 7 farklı tüp hazırlandı. Çift dilüsyon (1/2) serisi oluşturmak için seyreltilmiş standart kullanıldı. Bir sonraki tüpe 500µl eklenmeden önce her tüp iyice karıştırıldı. 100 pg/ml, 50 pg/ml, 25 pg/ml, 12.5 pg/ml, 6.25 pg/ml, 3.13 pg/ml, 1.57 pg/ml gibi 7 adet seyreltilmiş standart ayarlandı ve son tüpte yalnızca standart seyreltici kullanıldı.
3. Çalışılacak strip sayısı belirlendi ve plak çerçevesine yerleştirildi.
4. Standart kuyucuklarına 100µl standart eklendi.
5. Boş kuyucuğa 100 µl standart seyreltici solüsyon eklendi.
6. Numune kuyucuklarına 100µl numune eklendi.
7. Plakların üzeri kapatılıp 37°C'de 80 dakika inkübe edilir.
8. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plagın içindeki sıvı döküldü 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
9. Her kuyucuğa 100µl 1 X biyotinillenmiş konjugat eklendi, karıştırıldı ve üzeri film ile kaplanarak 37°C'de 50 dakika inkübe edildi.

10. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plağın içindeki sıvı döküldü ve 3 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
11. Her bir kuyucuğa 100 µl 1X Streptavidin-HRP eklendi ve üzeri film ile kaplanarak 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
12. Plakların üzerindeki koruyucu yapışkan ve kapak çıkarıldı. Plağın içindeki sıvı döküldü ve plak 5 kez 250µl yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her yıkama adımından sonra sıvının tamamen uzaklaştırılması sağlandı ve plak kâğıt havlu ile kurulandı.
13. Her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. 37°C’de 20 dakika ışık almayacak şekilde inkübe edildi. Kuyucuklar mavi renk açısından izlendi.
14. 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk sarıya döndü.
15. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450nm’ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğu belirlendi.
16. Her standart, kontrol ve numune için tekrarlanan okumaların ortalaması alındı. Y ekseninde spesifik kit konsantrasyonu ve X ekseninde absorbans ile bir standart eğrisi oluşturuldu ve grafikteki noktalar ile en uygun eğri çizildi.
17. Numuneler seyreltilmiş ise standart eğriden okunan konsantrasyon seyreltme faktörü ile çarpıldı (Şekil 3.6).

Çizelge 3. 6. Serum PAI1 standart çözeltilerinin absorbans değerleri

Konsantrasyon (pg/mL)	Absorbans
100	2.671
50	1.572
25	0.788
12,5	0.359
6,25	0.177
3,13	0.106
1,57	0.047



Şekil 3.6. PAI1 kalibrasyon eğrisi

Elisa sonuçlarının değerlendirilmesi

Ölçülen her bir parametrenin yoğunluğu ile doğru orantılı olarak değişen rengin şiddeti absorbans değeri okunarak tespit edildi. Standart konsantrasyonlara karşılık çizilen absorbans grafiği denkleminde her bir sitokinin absorbans konsantrasyonu hesaplandı.

3.3.2. Gen Polimorfizmi Çalışması

DNA izolasyonu için kimyasal maddeler

- Sukroz- Sigma S1513
- EDTA disodyum tuzu- Sigma ED2SS
- Etanol--Merck
- Kloroform-Merck
- Triton X 100- Sigma X 100
- Trizma baz- Sigma T1503
- Magnezyum klorür- Sigma M6297
- Sodyum hipoklorit- Sigma
- Sodyum klorür-Merck
- Sodyumdodesil sülfat- Sigma M6297
- Sodyumperklorat- Sigma M6297

DNA izolasyonu için gerekli çözeltilerin hazırlanması

1M Tris HCl çözeltisi: 12.1 g Trizma Baz tartıldı, 80 ml'ye distile su ile tamamlandı. Derişik HCl ile çözeltinin pH'ı 8'e ayarlandıktan sonra, son hacim 100 ml'ye getirildi.

Lizis tamponu (Reaktif A): 109.5 sukroz ve 1.0 g magnezyum klorür tartıldı ve 800 ml distile suda çözüldü. Üzerine 10 ml 1M Tris HCL çözeltisi ilave edildi ve 1000 ml'ye distile su ile tamamlandı. Otoklavda sterilize edildi ve sıcakken 10 ml Triton X-100 çözeltisi eklenerek çözelti berraklaşıp soğuyunca +4 C°'de saklandı.

Reaktif B: 48.5 G Trizma Baz, 22.3 g EDTA ve 8.8 g NaCl tartıldı, distile suda çözülerek 800 ml'ye tamamlandı. Derişik HCl ile çözeltinin pH'sı 8 'e ayarlandı ve distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Çözelti otoklavda sterilize edildi ve sıcakken 10 g SDS (sodyumdodesilsülfat) eklenerek çözüldü. Çözelti soğuyunca +4 C°'de saklandı.

5M Sodyum Perklorat: 70.2 g sodyum perklorat tartıldı, distile suda çözülerek 100 ml'ye tamamlandı.

10 x Tris –Borat-EDTA Tamponu (TBE): 108 g Tris, 55 g borik asit, 9.3 g EDTA 800 ml distile suda çözüldü. Çözeltinin pH'ı 8.3'e HCl ile ayarlandıktan sonra 1000ml'ye tamamlandı.

Kandan DNA izolasyonu (manuel yöntem)

1. 5-10 ml kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı. Kan örnekleri izolasyon yapılınca kadar -20°C'de saklandı.
2. Her birey için bir falkon tüpü kullanıldı.
3. Her falkona soğuk Lysis bufferdan (Reajan A çözeltisi) 35ml falkonların çizgisine kadar ilave edildi.
4. Kan örnekleri falkonlara boşaltıldı. Tüpler alt üst edildi.
5. 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi.
6. Bu arada kromozom tüplerine 5M Sodyumperklorat çözeltisinden 0.5mL koyuldu.
7. Santrifüjden çıkartılan falkonların süpernatantları dikkatlice (dipteki pelletlere dikkat ederek) çamaşır suyu dolu behere boşaltıldı.

8. Pelletlerin üzerine Reajan B çözeltisinden pastör pipeti yardımıyla yaklaşık 2ml ilave edildi.
9. Falkondaki Reajan B'li pellet, sodyumperklorad içeren kromozom tüplerinin üzerine aktarıldı.
10. 15 dakika el ile alt üst edildi.
11. 65°C'de 30 dakika etüv içinde inkübe edildi.
12. Etüvden alınan tüplere soğuk kloroformdan 2ml ilave edildi.
13. 10 dakika alt üst edildi.
14. 10 dakika 1400 rpm'de (18°C) santrifüj edildi.
15. Üst fazın hepsi yeni kromozom tüplerine aktarıldı.
16. Yeni tüpe aktarılan süpernatantların üzerine 5ml, soğuk etanol ilave edildi.
17. Etanollü tüpler iyice alt üst edilerek, DNA sarmalının oluşumu gözlemlendi.
18. Steril çubuk yardımıyla oluşan DNA sarmalı alındı. Kuruması için ependorfa aktarılarak 5-10 dakika bekletildi.
19. Kuruyan DNA'lar steril çubukların ucu kesilerek ependorfların içine aktarıldı.
20. DNA'nın büyüklüğüne göre 200 / 300ml steril distile su ilave edildi.
21. 60°C'de, 1 gece inkübatörde inkübe edildi.
22. Çözünen DNA'lar +4°C'de saklandı.

Hasta DNA'larından *MMP14* +6767 genotiplemesi yapıldı. Genotiplemesi yapılacak numunelerin DNA'sı Tetraprimer-Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi (T-ARMS-PCR) yöntemi ile çoğaltıldı.

T-ARMS (Tetra Primer- Amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi) -PCR Yöntemi Gen Polimorfizmi Çalışması

Amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi (ARMS)-PCR, başlangıçta bilinen dizi polimorfizmlerinin tespiti için tasarlanmış bir tekniktir. ARMS-PCR'da, tek bir PCR tüpündeki 2 çift primer, mutant ve normal alelleri aynı anda çoğaltabilir ve ayrıca dahili bir DNA kontrolünün çoğaltılmasına izin verebilir. Bu teknik, farklı mutasyonları incelemek için uygulanır [146].

Ye ve arkadaşları 1992'de yaptığı çalışmada, iki dış primer ve iki alel-spesifik iç primer kullanılarak tek bir PCR reaksiyonunda alel-spesifik amplifikasyonun elde edildiği tetra-

primer PCR'ı ilk kez tanımlamışlardır [161]. Ye ve arkadaşları 2001 yılındaki çalışmalarında tetra-primer PCR'ı ARMS ile birleştirerek, alel özgüllüğünü artırmak için iç primerlerin 3' ucundan -2 pozisyonuna kasıtlı uyumsuzluklar ekleyerek tetra-primer ARMS-PCR veya T-ARMS tekniğini oluşturmuştur[145]. Tek adımlı bir reaksiyonda, dış primerler, genotipinden bağımsız olarak hedef genin büyük bir parçasını çoğaltır, ancak her bir iç primer, daha küçük alel-özgü ampliconlar üretmek için belirli bir zıt dış primer ile birleşir. Bunlar farklı boyutlardadır ve jel elektroforezinde homozigot veya heterozigot olarak kolayca ayırt edilebilmektedir [146].

T-ARMS PCR, alel-spesifik PCR (AS-PCR), yüksek çözünürlüklü erime analizi (HRMA), PCR tek zincirli konformasyon polimorfizmi (PCR-SSCP), PCR-primer tanıtılmış restriksiyon analizi (PCR-PIRA), gerçek zamanlı PCR tabanlı genotipleme vb. gibi çağdaş genotipleme araçlarına kıyasla esnek, hızlı ve ekonomik bir SNP tespit aracıdır. Tek bir PCR'ı takiben jel elektroforezini içerir. Dış ileri (OF), dış ters (OR), iç ileri (IF) ve iç ters (IR) primerleri olmak üzere dört primer kullanır. OF/OR primer kombinasyonu SNP lokusunun dış parçasını oluşturur ve PCR için dahili bir kontrol görevi görür. IF/OR ve OF/IR primer kombinasyonları, kullanılan numunenin genotipine bağlı olarak alel-spesifik ampliconlar üretir. İç primerler, farklı boyutlarda ampliconlar üretmek için karşılık gelen dış primerlerden eşit olmayan bir şekilde konumlandırılır ve bu nedenle bir jelde kolayca çözülebilir ve buna göre ayırım yapılır [162].

Polimorfizmler, bu tetra-primer ARMS PCR için iki iç ve iki dış primer kullanılarak tanımlandı. Homozigot bir örnekte, primerlerden biri daha kısa bir spesifik ürünle sonuçlandı ve diğer ürün bağlanmadı. Dış primer daha uzun bir ürünle sonuçlandı. Heterozigot bir örnekte, her iki iç primer de bir ürünle sonuçlandı, bu nedenle heterozigot bir örnek için jelde üç bant görüldü. İki alel için iç primerler, farklı uzunluklarda ürünlerle sonuçlanmak üzere polimorfizmden farklı mesafelere yerleştirilecek şekilde tasarlandı. Bu nedenle, bantların jeldeki konumu hastanın spesifik polimorfizmini gösterdi.

T-ARMS, DNA dizi analizi için gereç ve aletler

- Vortex-Labnet
- Nüve NF800R, Santrifüj Cihazı
- Mikropipetler (0,1-5000µL)-Socorex

- Mikrodalga -White Westing House
- Jel kalıbı, tarakları ve Elektroforez tankı-Cleaver Scientific
- Elektroforez güç kaynağı-Thermo
- Görüntüleme sistemi-Syngene, Ingenius Uv Transluminatör
- PCR cihazı-Techne TC-412 Thermal cycler
- PCR cihazı- BIO-RAD T100 Termal Cycler

T-ARMS-PCR, DNA dizi analizi için kimyasal malzemeler

- dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
- MgCl₂
- Primer (Forward inner primer (G allele))
- Primer (Reverse inner primer (A allele))
- Primer (Forward outer primer)
- Primer (Reverse outer primer)
- Taq Buffer
- DNA Taq Polimeraz
- Sekans analiz kiti, BigDye Terminator kiti
- BigDye©

Elektroforez çözeltilerinin hazırlanışı

10 x Tris –Borat-EDTA Tamponu (TBE): 108 g Tris, 55 g borik asit, 9.3 g EDTA 800 ml distile suda çözüldü. Çözeltinin pH'ı 8.3'e HCl ile ayarlandıktan sonra 1000 ml'ye tamamlandı.

PCR koşulları

Her primer seti için en iyi bağlanma sıcaklığını belirlemek amacıyla BIORAD T100 Termal Cycler'da gradyan PCR çalışması gerçekleştirildi.

Primerler için optimum bağlanma sıcaklığı 58°C idi. Tüm dış-iç primer çifti setleri için, en yüksek verimde özgül PCR ürünü üreten optimum MgCl₂ konsantrasyonu 2 mM idi. Tetra-

primer ARMS PCR için dış-iç primer oranı 1:2 idi. Son olarak, aşağıdaki bileşenlerden oluşan 25µl reaksiyon hacmi içeren tek bir tüpte optimize edilmiş PCR gerçekleştirildi. PCR döngü koşulları; 95 °C'de 2 dakika denatürasyon(başlangıç), ardından 95 °C'de 1 dakika denatürasyon, 58°C de 1 dakika annealing (bağlanma), 72 °C'de 1 dakika extention (uzama) olmak üzere 35 döngü ve 72 °C'de 5 dakika son bitiş sıcaklığı şeklinde yapıldı.

Çizelge 3. 7. Kullanılan Primer Dizileri

MMP-14/ +6767 Polimorfizm	Primer dizileri	Tm	Çoğaltma Boyutu
Forward inner primer (G allele):	GGATGGACACGGAGAATTTTGTGCTGCACG	77°C	190 bp (G allele)
Reverse inner primer (A allele):	GTTGCTGGATGCCCCGGCGGTCATCCTT	81°C	105 bp (A allele)
Forward outer primer:	TCGAGCATTCCAGTGACCCCTCGGCCAT	79°C	237 bp (her iki primerden)
Reverse outer primer:	GATAGAGGCAGGGGCAGGTTGGCAGGGG	79°C	

Primer dizileri Vos ve arkadaşlarının çalışmasından alınmıştır [141].

MMP14 6767 gen polimorfizmi amplifikasyonu için ependorf PCR tüpleri içine 100ng DNA, 0,2mM dNTP'ler, 2mM MgCl₂, Forward primerlerin her birinde 2pmol, Reverse primerlerin her birinden 1pmol, 2,5µl 10xPCR tamponu, 1U/µl Taq DNA Polimeraz içeren 25µl'lik hacimde gerçekleştirildi.

Jel Elektroforez

Döngü tamamlandığında oluşan PCR ürünü 6x yükleme boyası ile boyanarak, 1xTBE tamponunda, 1xTBE kullanılarak hazırlanmış %2'lik (a/h) agaroz jelde tarak dişleri ile oluşturulan kuyucuklara yüklendi, 1 saat 120 volt/cm büyüklüğündeki elektrik alanda yürütüldü. PCR ürünlerinin elektroforezde izlenmesi amacıyla 6x yükleme boyası ve moleküler ağırlık standardı olarak 50 bp'lik merdiven moleküler ağırlık standart kullanıldı. Elektroforez sonrası jellerin 1xTBE'de %0,0001 (a/h) konsantrasyonunda hazırlanmış etidyum bromür çözeltisinde yaklaşık 10-15 dakika bekletilerek boyanmaları sağlandı.

Boyama sonrası jeller 300 nm bant geçirgen filtreli mor ötesi transillüminatör kullanılarak görüntüleme yapıldı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucu elde edilen veriler ortalama (standart sapma) olarak ifade edilmiştir. Veri analizi, IBM SPSS Statistics 22.0 yazılımı (IBM Corporation, Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımlarının normal olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Demografik verilerin karşılaştırılmasında niteliksel olan verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sürekli sayısal değişkenler iki bağımsız grup karşılaştırması için parametrik olmayan Mann Whitney U testi ile incelendi, ikiden fazla bağımsız grup karşılaştırması için ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kruskal Wallis test sonuçlarının önemli bulunması halinde ise Dunn-Bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanılarak söz konusu farka neden olan durumlar tespit edildi. Değişkenler arasındaki istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olup olmadığı Spearman's korelasyon testi ile incelendi. 0.05'ten küçük bir p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda yer alan PKOS'lu, aşırı kilolu ve normal kilolu sağlıklı çocukların endotrofin, MMP14 ve inflamasyon belirteç düzeylerinin yapılan Kolmogorov-Smirnov testinde normal dağılım göstermediği saptanmıştır (anlamlılık derecesi 0,05 olarak alınmıştır). Bu nedenle bulguların SPSS analizlerinde normallik şartı gerektirmeyen non-parametrik testler uygulanmıştır.

Çalışmamıza yaşları 10 – 18 arasında değişen 289 ergen dahil edilmiştir. Çalışma grupları 98 sağlıklı ergen (SE), 50 normal kiloda PKOS'lu (NKPKOS) ergen, 100 aşırı kilolu PKOS'lu (AKPKOS) ergen ve 41 aşırı kilolu ergenden (AK) oluşmaktadır. Çalışmaya katılan ergenlerin yaş bilgilerini, boy ve kilo bilgilerini, ailesel PKOS durumunu, ailesel kronik hastalık öyküsünü ve ailesel obezite durumunu içeren bir anket ve rutin biyokimya testleri uygulandı.

Çizelge 4.1'de Normal kilolu PKOS'lu, aşırı kilolu PKOS'lu, aşırı kilolu ve sağlıklı ergen bireylerin yaş ortalaması, beden kitle indeksi, ailenin obezite durumu, ailenin PKOS öyküsü ve ailenin kronik hastalık bilgilerine yer verilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmaya katılan ergenlerin başlıca özellikleri

Değişken	SE (N=98)	NKPKOS (N=50)	AKPKOS (N=100)	AK (N=41)	P
Yaş Ort (Standart sapma)	13,90 (1,91)	14,54 (1,97)	15,11 (1,53)	14,68 (1,85)	0,000
BKİ (Standart sapma)	19,75 (3,14)	20,81 (2,78)	31,52 (3,88)	29,01 (4,57)	0,000
Ailenin obezite durumu					
Var N(%)	*6 (%9,1)	8 (%16)	48 (%48)	*6 (%20,7)	0,000
Yok N(%)	*60(%90,9)	42 (%84)	52 (%52)	*23 (%79,3)	
Ailede PKOS					
Var N(%)	*7 (%10,6)	11(%22)	25(%25)	*3 (%10,3)	0,061
Yok N(%)	*59 (%89,4)	39(%78)	75 (%75)	*26 (%89,7)	
Ailede kronik hastalık					
Var N(%)	*22 (%33,3)	22 (%44)	79 (%79)	*16 (%57,1)	0,000
Yok N(%)	*44 (%66,7)	28 (%56)	21 (%21)	*12 (%42,9)	

*: Tüm bireylerin anket bilgilerine ulaşılammıştır

4.1. Rutin Biyokimyasal ve Hormonal Parametreler

Çizelge 4.2’de PKOS’lu, PKOS’lu ve aşırı kilolu, aşırı kilolu ve sağlıklı ergen bireylerin rutin biyokimya testlerine ve bazı hormon değerlerine yer verilmiştir. Total kolesterol, trigliserit, HDL, LDL, E2, FSH, LH, CRP, insülin, glikoz ve HOMA-IR düzeyleri karşılaştırılmıştır. Gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde trigliserit, HDL, E2, FSH, LH, CRP ve insülin düzeyleri arasında anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Çalışmaya katılan ergenlerin rutin biyokimya ve hormon testleri

ORTALAMA (SS)					
Değişken	SE (N=98)	NKPKOS (N=50)	AKPKOS (N=100)	AK (N=41)	P
Kolesterol	184,26 (56,17)	176,66 (37,36)	161,73 (30,85)	175,78 (29,58)	0,013
Trigliserit	121,76 (45,00)	102,68 (51,70)	136,08 (85,91)	109,90 (45,14)	0,008
HDL	48,07 (15,03)	49,69 (11,11)	46,32 (11,45)	53,63 (10,99)	0,003
LDL	97,89 (22,52)	104,31 (25,26)	91,52 (23,48)	95,41 (20,03)	0,039
E2	98,23 (58,26)	78,73 (26,16)	68,50 (63,08)	84,31 (42,58)	0,000
FSH	3,48 (2,27)	2,79 (3,31)	5,54 (3,10)	2,50 (1,54)	0,000
LH	2,22 (2,24)	4,19 (6,20)	2,45 (2,26)	4,33 (3,38)	0,004
LH/FSH	1,17 (2,48)	3,52 (6,80)	0,80 (2,09)	2,99 (3,37)	0,000
CRP	3,07 (3,30)	3,70 (2,36)	8,04 (2,53)	2,50 (1,22)	0,000
İnsülin	17,26 (7,18)	14,69 (11,07)	28,09 (27,91)	14,68 (5,35)	0,000
Glikoz	84,73 (29,18)	91,19 (11,63)	93,90 (9,69)	84,61 (26,99)	0,264
HOMA-IR	3,99 (1,76)	3,28 (2,51)	6,73 (7,80)	3,29 (1,34)	0,000

Serum kolesterol düzeyleri açısından bakıldığında çalışmaya aldığımız toplam PKOS’lu bireylerin hem sağlıklı ergen grubundaki bireylere göre hem de aşırı kilolu grubundaki bireylere göre serum düzeyleri anlamlı derecede düşük çıkmıştır ($p<0,05$). Gruplar arası karşılaştırdığımızda aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum kolesterol düzeyleri kontrol grubu ergenlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,05$ ve $p<0,01$ sırasıyla) (Çizelge 4.2).

Normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin serum trigliserit düzeyleri aşırı kilolu PKOS grubundaki bireylere ve kontrol grubundaki bireylere göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p<0,005$) (Çizelge 4.2).

Hem normal kilolu PKOS grubundaki bireyler hem de aşırı kilolu ergen grubundaki bireylerin serum HDL düzeyleri aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,01$ ve $p<0,001$ sırasıyla). Sağlıklı ergenlerin serum HDL düzeyleri aşırı kilolu ergenlerin serum HDL düzeylerine göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin serum LDL değerleri, aşırı kilolu PKOS grubundaki bireylere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,005$). Diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.2).

Çalışmaya dahil edilen ergenlerin östrojen düzeyleri incelendiğinde aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum östrojen düzeyleri normal kilolu PKOS grubuna göre, aşırı kilolu gruba göre ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p<0,005$, $p<0,001$ ve $p<0,001$ sırasıyla) (Çizelge 4.2).

FSH hormon düzeyleri açısından karşılaştırıldığında aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum FSH değerleri aşırı kilolu, normal kilolu PKOS ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$, $p<0,005$, $p<0,001$ sırasıyla) (Çizelge 4.2). LH/FSH oranları incelendiğinde aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin normal kilolu PKOS ve aşırı kilolu ergenlerden anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur ($p<0,000$ ve $p<0,000$ sırasıyla) (Çizelge 4.2). Ayrıca aşırı kilolu ergenlerin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek LH/FSH oranına sahip oldukları gözlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Çalışmaya dahil edilen gruplardaki ergenlerin serum LH düzeyleri incelendiğinde, aşırı kilolu grubundaki bireylerin serum LH değerleri aşırı kilolu PKOS grubu ve sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p<0,001$ ve $p<0,001$ sırasıyla) (Çizelge 4.2).

Tüm ergenlerin CRP düzeyleri incelendiğinde aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum CRP düzeyleri normal kilolu PKOS, aşırı kilolu ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0,001$) (Çizelge 4.2).

Serum insülin değerleri aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerde kontrol grubundaki sağlıklı ergenlere ve normal kilolu PKOS'lu ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$, $p<0,001$ ve $p<0,001$ sırasıyla). Normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum insülin değerleri kontrol grubundaki sağlıklı ergenlere kıyasla anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,001$) (Çizelge 4.2).

HOMA-IR değerleri açısından karşılaştırıldığında aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerde HOMA-IR değerleri normal kilolu PKOS'lu ergenlere ve aşırı kilolu gruptaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$ ve $p<0,001$ sırasıyla). Ayrıca normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin HOMA-IR değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,005$) (Çizelge 4.2).

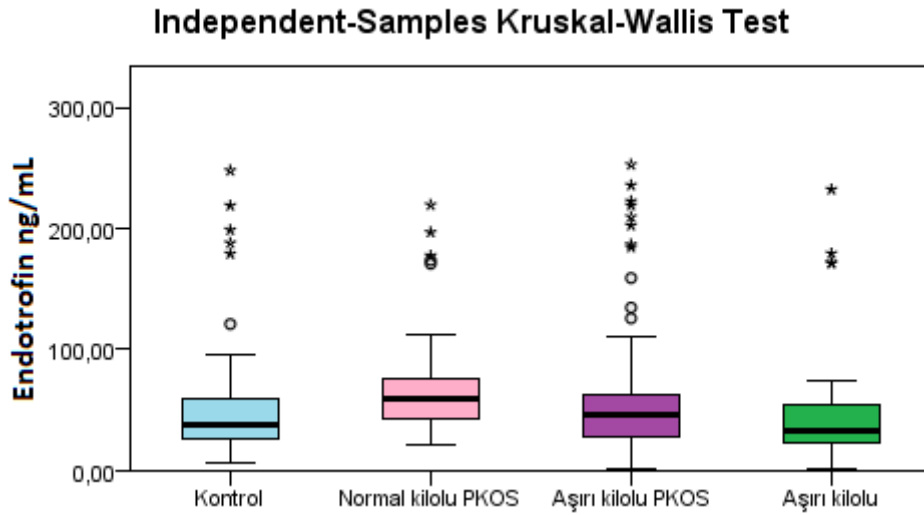
4.2. Endotrofin, MMP14 ve İnflamasyon Sitokinlerinin Sonuçları

Çizelge 4.3'te PKOS'lu, PKOS'lu ve aşırı kilolu, aşırı kilolu ve sağlıklı ergen bireylerin serum endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI1 sonuçlarının ortalama değerleri ve standart sapma değerleri verilmiştir. IL-8 dışında tüm parametrelerde gruplar arası anlamlı düzeyde farklılıklar saptanmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.3. Çalışmaya katılan ergenlerin endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI1 düzeylerinin ilişkisi

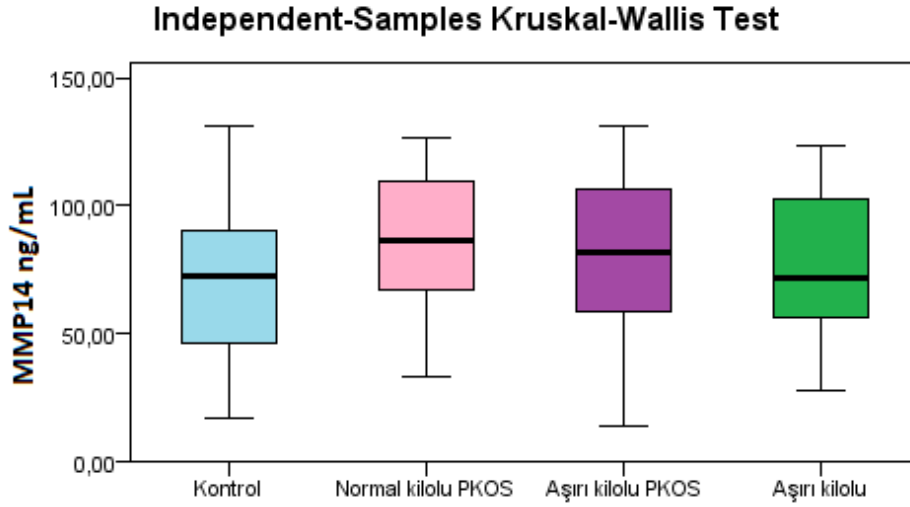
Değişken	ORTALAMA (SS)				P
	SE (N=98)	NKPKOS (N=50)	AKPKOS (N=100)	AK (N=41)	
Endotrofin	50,84 (44,69)	71,09 (46,89)	61,12 (53,95)	52,44 (55,51)	0,000
MMP14	70,61 (28,73)	84,61 (27,52)	80,92 (29,35)	76,43 (28,19)	0,029
TNF- α	11,99 (12,40)	2,05 (1,61)	4,20 (3,61)	7,67 (6,50)	0,000
IL-6	27,33 (21,49)	9,23 (6,79)	18,15 (14,03)	28,40 (18,50)	0,000
IL-8	25,61 (24,23)	21,97 (16,05)	32,35 (32,23)	25,90 (31,05)	0,177
PAI1	15,46 (20,96)	22,62 (22,03)	20,26 (22,06)	21,54 (21,92)	0,028

Gruplar arasında endotrofin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p<0,000$) (Çizelge 4.3). Çalışmaya katılan ergenlerin serum endotrofin düzeyleri karşılaştırıldığında normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum endotrofin değerleri, aşırı kilolu, sağlıklı kontrol grubu ve aşırı kilolu PKOS gruplarındaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,001$ ve $p=0,009$ sırasıyla) (Çizelge4.3). Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin endotrofin değerleri aşırı kilolu ergenlere göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 4.1).



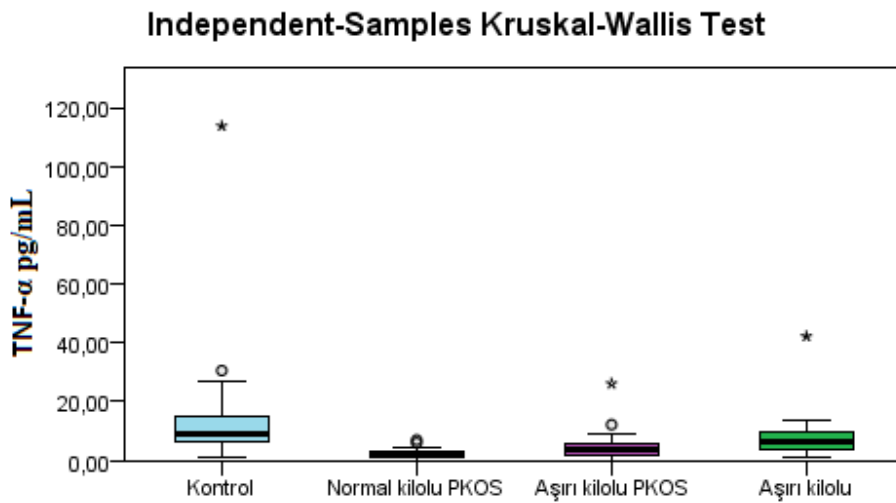
Şekil 4.1. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum Endotrofin düzeyleri

Gruplar arasında MMP14 düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p=0,029$) (Çizelge 4.3). Normal kilolu PKOS'lu ergenlerin serum MMP14 düzeyleri, kontrol grubu ergenlerin serum MMP14 düzeylerinden anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.3). Aşırı kilolu PKOS ve aşırı kilolu ergen gruplarının serum MMP14 seviyeleri, kontrol grubu ergenlerin serum MMP14 seviyelerine göre belirgin bir şekilde yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.2).



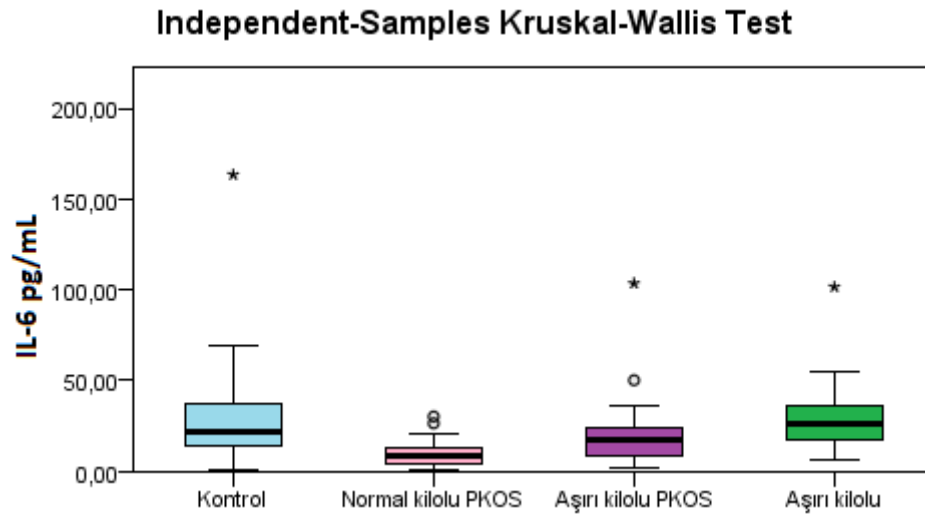
Şekil 4.2. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum MMP14 düzeyleri

Gruplar arasında TNF- α düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p=0,000$) (Çizelge 4.3). Ergenlerin serum TNF- α düzeyleri incelendiğinde normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin serum TNF- α düzeyleri hem aşırı kilolu grubundaki hem kontrol grubundaki hem de aşırı kilolu PKOS grubundaki bireylere göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,005$ sırasıyla) (Çizelge 4.3.). Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum TNF- α düzeyleri ise aşırı kilolu grubundaki ve kontrol grubundaki bireylerin serum TNF- α düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,001$). Aşırı kilolu ergenler ile kontrol grubu ergenler değerlendirildiğinde serum TNF- α düzeyleri farklılık göstermemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.3).



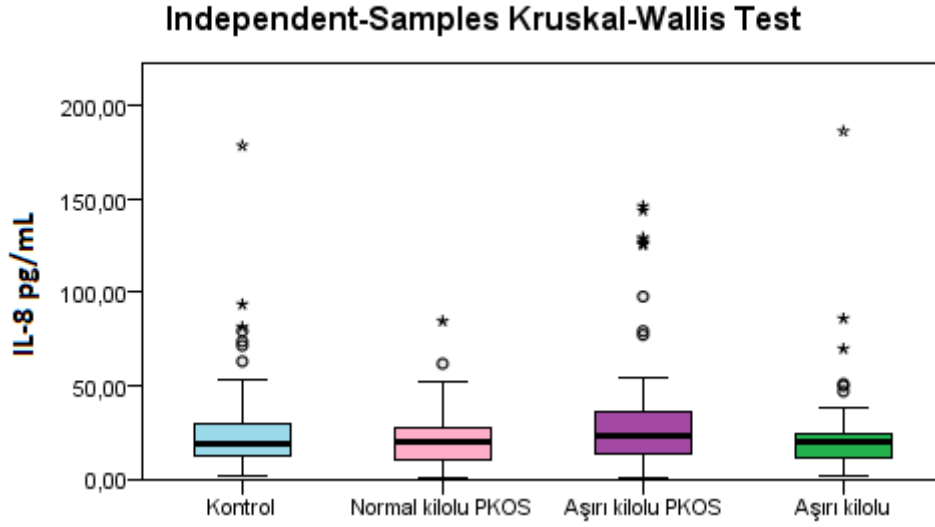
Şekil 4.3. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum TNF- α düzeyleri

Tüm gruplar düzeyinde incelendiğinde serum IL-6 düzeyleri arasında istatistiksel olarak farklılıklar saptanmıştır ($p=0,001$) (Çizelge 4.3). Normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum IL-6 düzeyleri aşırı kilolu PKOS'lu ergenlerden, aşırı kilolu ergenlerden ve kontrol grubu ergenlerden anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,001$ her biri için) (Çizelge 4.3). Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum IL-6 düzeyleri ise sağlıklı kontrol grubundaki ergenlerden ve aşırı kilolu ergenlerden anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,001$, $p<0,005$ sırasıyla) (Çizelge 4.3). Kontrol grubu ergenlerin serum IL-6 düzeyleri ile aşırı kilolu ergenlerin serum IL-6 düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.4).



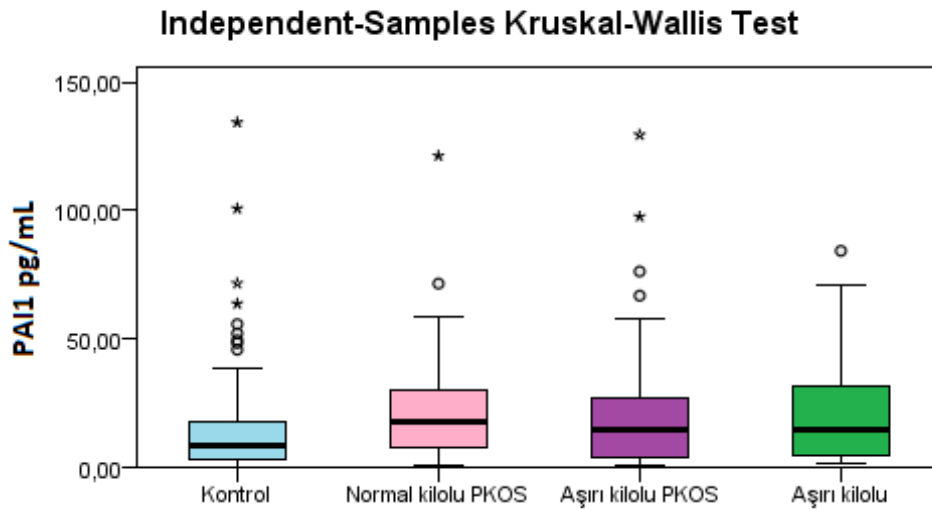
Şekil 4.4. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum IL-6 düzeyleri

Ergenlerin serum IL-8 düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum IL-8 düzeyleri

Tüm gruplar düzeyinde incelendiğinde serum PAI1 düzeylerinin istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır ($p=0,028$) (Çizelge 4.3). Ergenlerin serum PAI1 düzeyleri incelendiğinde, PKOS grubundaki normal kilolu ve aşırı kilolu bireylerin sağlıklı ergen grubundaki bireylere göre serum PAI1 düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,005$ ve $p<0,05$, sırasıyla) (Çizelge 4.3). Aşırı kilolu grubu bireyleri ile kontrol grubu ve PKOS'lu bireylerin olduğu diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.6).



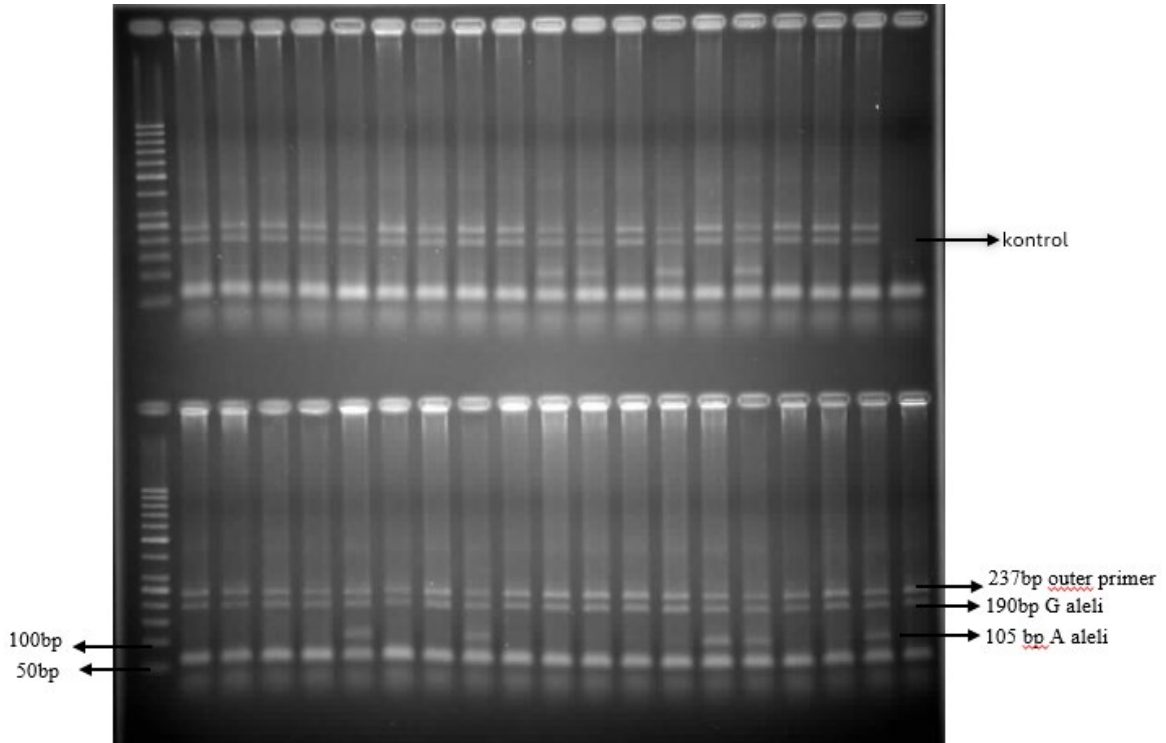
Şekil 4.6. Kruskal Wallis testi, gruplar arası serum PAI1 düzeyleri

4.3. MMP14 +6767 gen polimorfizmi çalışması sonuçları

Sağlıklı kontrol grubundaki (N=98) 3 ergenin tam kan örneklerinden DNA elde edilememiştir. Normal kilolu PKOS (N=50) ve aşırı kilolu PKOS (N=100) gruplarından 2'şer örnekten DNA elde edilememiştir.

İzole edilen DNA'nın kalitesi ve miktarı, NanoDrop spektrofotometresi kullanılarak belirlendi. Saflaştırılan DNA, tüm örnekler için OD 260/280 oranı, çıkarılan DNA'nın iyi kalitesini gösteren 1,8 ile 2 arasındaydı.

MMP14 +6767 polimorfizminin T-ARMS yöntemi ile tayini, PCR ile çoğaltılan DNA dizilerinin standart agaroz jel elektroforeze yüklenmesi yoluyla, eş dominant bir şekilde her iki alelin de tanınması için bir çift alel-spesifik primer kullanılarak yapıldı. 2 çift primer, mutant ve normal alelleri aynı anda çoğalttı ve ayrıca dahili bir DNA kontrolünün çoğaltılması sağlandı. Gen polimorfizmi sonuçlarında her bir alel için literatürde verilen değerler kullanılmış ve *A* aleli için 105bp, *G* aleli için 190bp ve her iki aleli içeren dış primer için 237bp'deki ışımlar değerlendirilmiştir (Resim 4.1).



Resim 4.1. MMP14 6767 gen polimorfizmi jel elektroforez görüntüsü

Polimorfizm çalışmamızda hiçbir ergende homozigot *AA* aleline rastlanmamıştır.

MMP14 +6767 için *GG* genotipe sahip olanlara göre *AG* olmanın PKOS gelişimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır (Odds Ratio=1,447; %95 Güven Aralığı: 0,852-2,458 ve p=0,180) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *MMP14* +6767 gen polimorfizmi PKOS ve kontrol grupları ilişkisi

	Kontrol grubu (N=95)*	PKOS grubu (N=148)**	p-değeri	OR (%95 GA)
<i>MMP6767</i>				
<i>GG</i>	70 (%71,4)	114 (%76,0)	Referans	1,000
<i>AG</i>	25 (%25,5)	34 (%22,7)	0,180	1,447 (0,852-2,458)

* 3 birey eksik, **2 birey eksik

Kontrol grubuna PKOS'lu olmayan aşırı kilolu grup da dahil edildiğinde, *GG* genotipe sahip olanlara göre *AG* olmanın PKOS gelişimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır (Odds Ratio=1,197; %95 Güven Aralığı: 0,660-2,173 ve p=0,646) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Gruplara göre olguların gen polimorfizmi açısından dağılımları

	Kontrol grubu (N=136*)	PKOS grubu (N=148)**	p-değeri	OR (%95 GA)
<i>MMP6767</i>				
<i>GG</i>	95 (%68,3)	34 (%22,7)	Referans	1,000
<i>AG</i>	41 (%29,5)	114 (%76,0)	0,646	1,197 (0,660-2,173)

* 3 birey eksik, **2 birey eksik

Çizelge 4.6'da sağlıklı ergenlerde, normal kilolu PKOS'lu ergenlerde, aşırı kilolu PKOS'lu ergenlerde ve aşırı kilolu ergenlerde serum endotrofin, *MMP14*, *TNF- α* , *IL-6*, *IL-8* ve *PAI1* düzeyleri ile *MMP14* +6767 gen polimorfizmi (*AG/GG*) arasındaki ilişki verilmiştir. Her bir genotip içerisinde sağlıklı ergenler, normal kilolu PKOS, aşırı kilolu PKOS ve aşırı kilolu grubu arasında yapılan karşılaştırmalar, Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

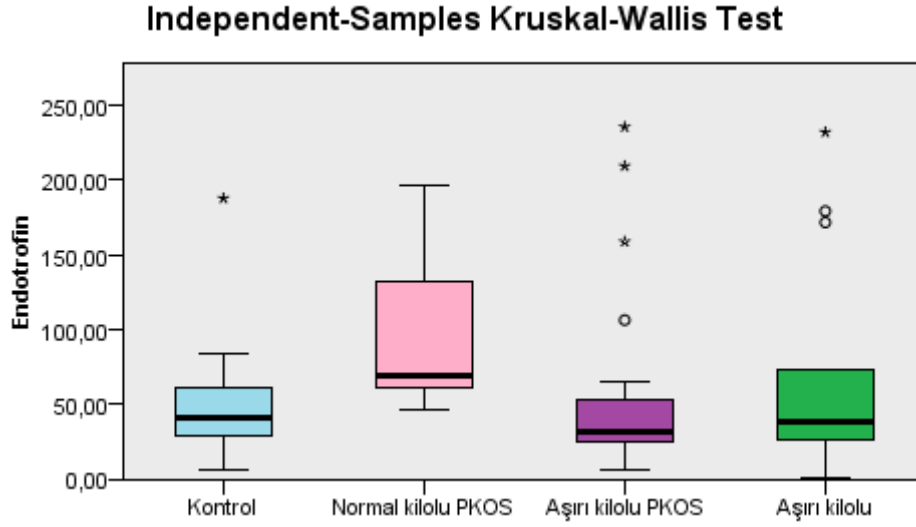
Çizelge 4.6. Tüm ergenlerde serum endotrofin ve MMP14 düzeylerinin *MMP14 +6767 A/G* gen polimorfizmi ilişkisi.

ORTALAMA (SS)					
Parametre	N	AG (SS)	N	GG (SS)	P
Endotrofin					
SE	23	49,02 (36,86)	61	49,56 (44,52)	0,598
NKPKOS	7	99,71 (60,22)	36	65,52 (42,68)	0,048
AKPKOS	25	55,53 (59,78)	69	62,08 (51,68)	0,068
AK	13	70,03 (73,90)	19	40,40 (35,90)	0,274
p		0,056		0,001	
MMP14					
SE	25	72,38 (30,34)	70	69,35 (28,36)	0,676
NKPKOS	7	77,94 (22,48)	41	85,74 (28,37)	0,474
AKPKOS	27	82,63 (30,42)	72	80,58 (28,88)	0,817
AK	16	74,45 (36,88)	25	77,70 (21,69)	0,630
p		0,703		0,028	

Genotiplere göre gruplar içerisinde değerlendirme yapıldığında *AG* genotipine sahip normal kilolu PKOS'lu ergenlerde *GG* genotipine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek endotrofin değerleri gözlenmiştir ($p=0,048$) (Çizelge 4.6). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte aşırı kilolu PKOS grubunda da *AG* genotipine sahip ergenlerde daha yüksek endotrofin düzeyleri gözlenmiştir ($p=0,068$) (Çizelge 4.6). Aşırı kilolu çocuklarda da *GG* genotipinde *AG* genotipine göre daha yüksek endotrofin düzeyleri gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır (Çizelge 4.6). Kontrol grubunda *AG* ve *GG* genotiplerinde endotrofin düzeyleri arasında bir fark gözlenmemiştir.

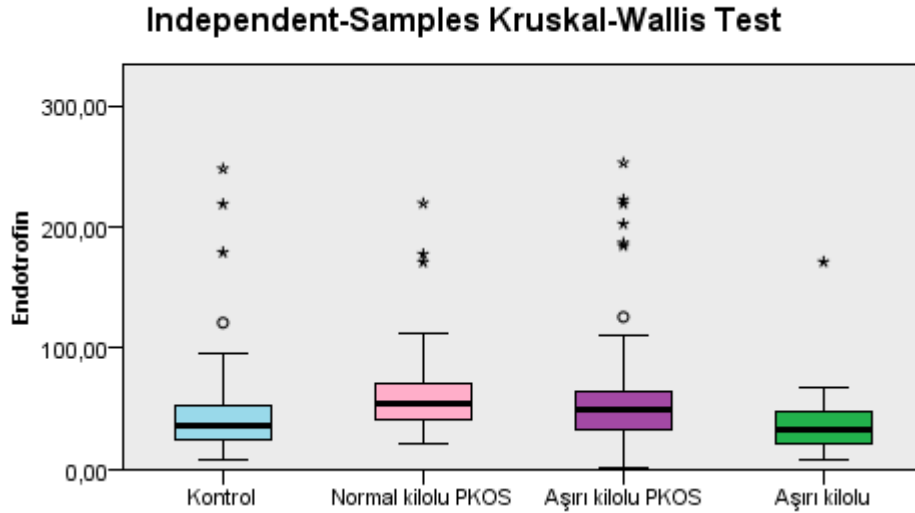
Genotiplere göre gruplar içerisinde değerlendirme yapıldığında, MMP14 düzeylerinde *AG* ve *GG* genotiplerine göre bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.6).

AG genotipine sahip ergenlerde serum endotrofin düzeyleri açısından gruplar arasında bir anlamlılık gözlenmemiştir (Şekil 4.8) (Çizelge 4.6). PKOS'lu ve aşırı kilolu ergenlerde kontrollere göre daha yüksek endotrofin düzeyleri olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0,056$).



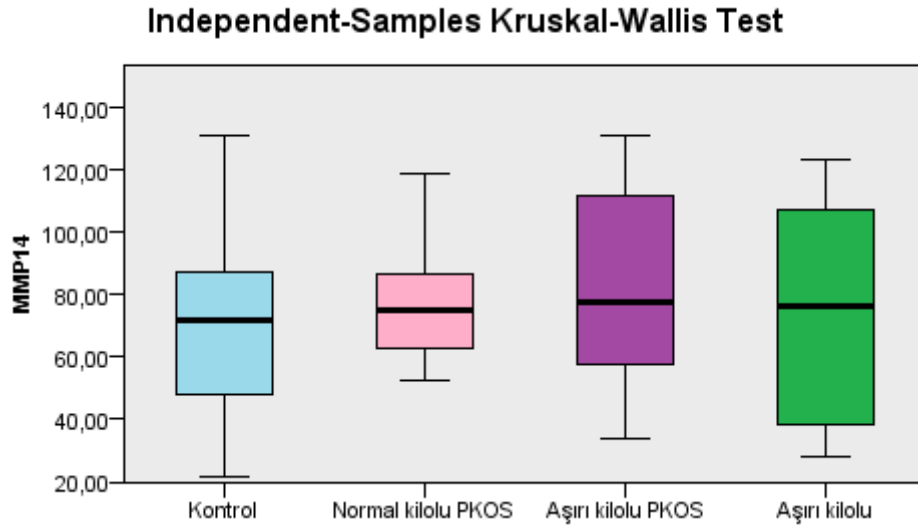
Şekil 4.8. Kruskal-Wallis testi AG genotipi Endotrofin düzeyleri

GG genotipinde endotrofin düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0,001$) (Çizelge 4.6). Özellikle normal kilolu PKOS'lu ergenlerde, aşırı kilolu ve normal kilolu sağlıklı ergenlere göre daha yüksek endotrofin düzeyleri gözlenmiştir ($p = 0,004$ ve $p = 0,006$ sırasıyla) (Çizelge 4.6) (Şekil 4.9).



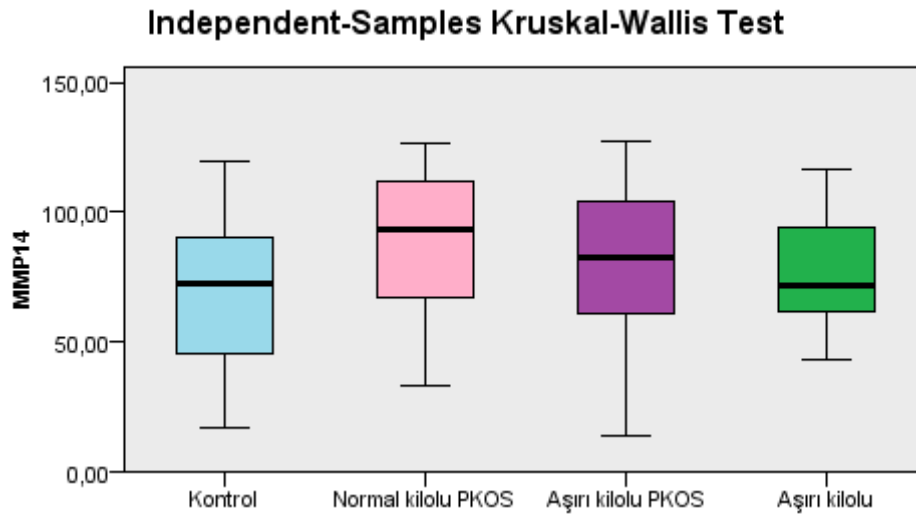
Şekil 4.9. Kruskal-Wallis testi GG genotipi Endotrofin düzeyleri

AG genotipinde MMP14 düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p = 0,703$) (Çizelge 4.6) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Kruskal-Wallis testi AG genotipi MMP14 düzeyleri

GG genotipinde MMP14 seviyeleriyle gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (Çizelge 4.9) ($p=0,028$). MMP14 düzeyleri normal kilolu PKOS'lu ergenlerde, sağlıklı kontrollere göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0,031$) (Çizelge 4.6) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Kruskal-Wallis testi GG genotipi MMP14 düzeyleri

4.4. Obezite durumuna ve PKOS'a göre endotrofin, MMP14 ve inflamasyon sitokinleri

Tüm ergenler obezite durumuna göre zayıf ($BKİ < 18,5$), normal kilolu ($18,5 < BKİ < 24,9$), aşırı kilolu ($25 < BKİ < 29,9$) ve obez ($BKİ > 30$) olarak kategorize edildikten sonra PKOS'lu ve PKOS'suz olarak 2 gruba ayrılmış ve ölçülen parametreler arasındaki farklılıklar incelenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Obezite durumuna ve PKOS'a göre endotrofin, MMP14, IL-6, IL-8 ve PAI1 sonuçları

Değişken	N	PKOS Var	N	PKOS Yok	P
Zayıf	8		31		
Endotrofin		61,36 (16,67)		47,63 (44,96)	0,014
MMP14		98,04 (27,10)		69,39 (28,20)	0,009
TNF- α		1,32 (1,30)		9,42 (6,08)	0,000
IL-6		6,63 (5,42)		22,89 (15,05)	0,001
IL-8		19,74 (11,92)		20,06 (11,69)	0,847
PAI1		25,03 (15,87)		15,50 (18,35)	0,086
Normal Kilolu	36		64		
Endotrofin		76,80 (52,32)		54,02 (45,37)	0,006
MMP14		82,35 (26,05)		71,69 (29,32)	0,098
TNF- α		2,25 (1,70)		13,07 (14,62)	0,000
IL-6		10,50 (7,08)		28,89 (24,26)	0,000
IL-8		23,52 (16,99)		28,25 (28,52)	0,939
PAI1		22,72 (23,99)		15,59 (22,64)	0,008
Aşırı Kilolu	49		30		
Endotrofin		56,01 (48,11)		59,60 (62,33)	0,338
MMP14		89,14 (29,35)		71,85 (28,06)	0,014
TNF- α		4,38 (4,59)		8,18 (7,21)	0,000
IL-6		17,51 (17,75)		29,12 (20,37)	0,003
IL-8		31,10 (27,69)		28,91 (35,36)	0,312
PAI1		19,41 (20,60)		24,19 (23,79)	0,506
Obez	56		11		
Endotrofin		64,13 (57,18)		30,94 (13,22)	0,038
MMP14		73,52 (28,08)		88,93 (25,71)	0,115
TNF- α		3,93 (2,32)		6,15 (3,47)	0,055
IL-6		17,59 (9,02)		26,46 (12,80)	0,042
IL-8		32,00 (35,56)		17,69 (11,37)	0,162
PAI1		20,75 (23,13)		13,59 (12,85)	0,471

Buna göre PKOS'lu ergenlerin endotrofin düzeyleri aşırı kilolu grup dışında tüm gruplarda PKOS'suz ergenlere göre daha yüksekti ($p=0,014$, $p=0,006$ ve $p=0,038$, sırasıyla) (Çizelge 4.7). MMP14 düzeyleri zayıf ve aşırı kilolu PKOS'lu ergenlerde PKOS'suz ergenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,009$ ve $p=0,014$, sırasıyla) (Çizelge 4.7). TNF- α , obez grup hariç tüm kategorilerde PKOS'lu grupta PKOS'suz gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,000$) (Çizelge 4.7). IL-6 tüm kategorilerde PKOS'lu grupta PKOS'suz gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,001$, $p=0,000$, $p=0,003$ ve $p=0,042$, sırasıyla) (Çizelge 4.7). IL-8 obezite kategorilerine göre PKOS'lu ve PKOS'suz gruplarda farklılık göstermezken, PAI1 değerleri normal kilolu PKOS'lu grupta PKOS'suz gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,008$) (Çizelge 4.7).

Tüm ergenler PKOS'lu ve PKOS'suz olarak 2 gruba ayrıldıktan sonra obezite durumuna göre kategorize edildiğinde ve ölçülen parametreler arasındaki farklılıklar incelendiğinde, PKOS'suz grupta TNF- α düzeylerinin obezite kategorilerine göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir ($p=0,016$). Farklılığın kaynağı incelendiğinde PKOS'suz aşırı kilolu ergenlerin normal kilolulara göre belirgin derecede yüksek TNF- α düzeylerine sahip oldukları gözlenmiştir ($p=0,048$) (Çizelge 4.7.). PKOS'lu grupta endotrofin, MMP14, TNF- α ve IL-6 düzeylerinin obezite kategorileri arasında farklılık gösterdiği gözlenmiştir ($p=0,018$, $p=0,017$, $p=0,002$ ve $p=0,001$, sırasıyla). Çoklu testler için Bonferroni düzeltmesi yapıldıktan sonra endotrofin düzeylerinin normal kilo PKOS'lularda aşırı kilolulara göre daha yüksek olduğu ($p=0,027$), MMP14 düzeylerinin ise obez grupta aşırı kilolulara göre daha düşük olduğu ($p=0,046$) gözlenmiştir. TNF- α ve IL-6 düzeyleri ise obez PKOS'lularda zayıf ve normal kilolu PKOS'lulara göre daha yüksek bulunmuştur (TNF- α için $p=0,026$ ve $p=0,023$ ve IL-6 için $p=0,009$ ve $p=0,011$, sırasıyla).

4.5. Parametreler Arasındaki İlişkilerin İncelenmesi

Çizelge 4.8'de sağlıklı ergenlerin, normal kilolu PKOS'lu ergenlerin, aşırı kilolu PKOS'lu ergenlerin ve aşırı kilolu ergenlerin serum endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI1 düzeyleri arasındaki ilişki parametrik olmayan Spearman korelasyon testi ile analiz edilmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.8. Tüm çalışma grupları arasındaki endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI1 düzeyleri arasındaki ilişki.

*R(P)					
Parametre	Endotrofin	MMP14	TNF- α	IL-6	IL-8
SE					
MMP14	0,49 (0,650)	----	----	----	----
TNF- α	0,109 (0,314)	0,194 (0,056)	----	----	----
IL-6	0,006 (0,954)	0,166 (0,114)	0,338 (0,001)	----	----
IL-8	0,058 (0,598)	0,178 (0,083)	0,252 (0,013)	0,235 (0,025)	----
PAI1	0,012 (0,914)	0,196 (0,054)	0,132 (0,196)	0,183 (0,082)	0,387 (0,000)
NKPKOS					
MMP14	-0,017 (0,914)	----	----	----	----
TNF- α	0,216 (0,149)	-0,009 (0,961)	----	----	----
IL-6	0,291 (0,081)	-0,126 (0,439)	1,000 (0,000)	----	----
IL-8	0,247 (0,110)	-0,076 (0,608)	0,457 (0,006)	0,557 (0,000)	----
PAI1	0,298 (0,062)	-0,079 (0,609)	0,075 (0,674)	0,137 (0,411)	0,132 (0,394)
AKPKOS					
MMP14	-0,150 (0,148)	----	----	----	----
TNF- α	0,189 (0,108)	0,091 (0,434)	----	----	----
IL-6	0,161 (0,167)	0,048 (0,673)	0,996 (0,000)	----	----
IL-8	0,242 (0,020)	0,031 (0,762)	0,085 (0,463)	0,049 (0,668)	----
PAI1	0,248 (0,022)	0,011 (0,920)	0,058 (0,632)	0,018 (0,880)	0,399 (0,000)
AK					
MMP14	-0,152 (0,407)	----	----	----	----
TNF- α	-0,092 (0,624)	0,245 (0,128)	----	----	----
IL-6	0,048 (0,806)	0,333 (0,044)	0,613 (0,000)	----	----
IL-8	0,115 (0,530)	-0,030 (0,850)	-0,285 (0,074)	-0,228 (0,174)	----
PAI1	0,148 (0,428)	-0,86 (0,599)	-0,132 (0,417)	-0,019 (0,910)	0,385 (0,014)

*R(P): Korelasyon katsayısı (Anlamlılık)

Sağlıklı kontrol grubu ergenlerin serum endotrofin, MMP14, TNF- α , IL-6, IL-8 ve PAI1 düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında TNF- α ile IL-6 ve IL-8 düzeyleri arasında ve IL-8 ile IL-6 ve IL-8 ve PAI1 düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif bir ilişki saptanmıştır (p=0,001, p=0,013, p=0,025 ve p=0,000 sırasıyla) (Çizelge 4.8). Sağlıklı ergenlerin MMP14 ile PAI1 ve TNF- α değerleri karşılaştırıldığında yüksek bir korelasyon gözlenirken istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,056) (Çizelge 4.8).

Normal kilolu PKOS'lu ergenlerin bulunduğu grubun sonuçları incelendiğinde TNF- α ile IL-6 arasında istatistiksel olarak pozitif bir ilişki saptanmıştır ($p=0,000$). Normal kilolu PKOS'lu ergenlerin serum IL-8 düzeyleri serum IL-6 ve TNF- α değerleri ile pozitif korelasyon göstermiştir ($p=0,006$ ve $p=0,000$ sırasıyla) (Çizelge 4.8). Ayrıca normal kilolu PKOS'lu ergenlerin serum endotrofin seviyeleri ile PAI1 düzeyleri arasında da yüksek korelasyon gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,062$) (Çizelge 4.8).

Aşırı kilolu PKOS'lu ergenlerin serum endotrofin değerleri ile IL-8 ve PAI1 seviyeleri arasında, IL-6 ile TNF- α değerleri arasında, IL-8 ile PAI1 düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar gözlenmiştir ($p=0,020$, $p=0,022$, $p=0,000$ ve $p=0,000$ sırasıyla) (Çizelge 4.8).

Aşırı kilolu ergenlerin serum IL-8 ve PAI1 seviyeleri arasında, IL-6 ile TNF- α değerleri arasında pozitif korelasyonlar gözlenmiştir ($p=0,014$ ve $p=0,000$) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.9'da tüm gruplardaki ergen kızların serum endotrofin değerleri ile rutin biyokimyasal parametreler ve hormonlarla ilişkisi ve bunların korelasyonu verilmiştir.

Çizelge 4.9. Endotrofinin gruplara göre yaş, BKİ, serum biyokimyasal ve hormonal parametreler ile ilişkisi

Parametre	Endotrofin R (P)*			
	SE (N=98)	NKPKOS (N=50)	AKPKOS (N=100)	AK (N=41)
Yaş	-0,183 (0,113)	-0,299 (0,058)	0,088 (0,407)	-0,145 (0,435)
BKİ	0,124 (0,263)	-0,068 (0,663)	0,109 (0,292)	-0,162 (0,375)
Kolesterol	-0,084 (0,441)	-0,160 (0,312)	-0,133 (0,197)	-0,192 (0,293)
Trigliserit	-0,006 (0,960)	0,015 (0,923)	-0,102 (0,328)	0,020 (0,915)
HDL	-0,140 (0,195)	0,050 (0,755)	0,095 (0,362)	0,075 (0,683)
LDL	-0,127 (0,241)	-0,242 (0,132)	-0,267 (0,009)	-0,277 (0,125)
E2	-0,124 (0,424)	0,259 (0,098)	-0,015 (0,883)	-0,052 (0,793)
FSH	0,056 (0,720)	-0,292 (0,060)	0,148 (0,155)	-0,225 (0,190)
LH	-0,093 (0,551)	-0,085 (0,591)	-0,111 (0,283)	0,103 (0,602)
CRP	-0,194 (0,207)	0,080 (0,131)	-0,109 (0,299)	-0,161 (0,414)
İnsülin	-0,242 (0,024)	-0,131 (0,407)	-0,070 (0,502)	-0,014 (0,941)
Glikoz	0,126 (0,243)	0,312 (0,042)	-0,190 (0,065)	-0,265 (0,143)
HOMA-IR	-0,125 (0,273)	-0,097 (0,538)	-0,078 (0,454)	-0,102 (0,578)

*R(P): Korelasyon katsayısı/Anlamlılık

Ayrı ayrı gruplarda endotrofin düzeyleri ile yaş ve BKİ arasındaki ilişki incelendiğinde, herhangi bir korelasyon gözlenmemiştir (Çizelge 4.9). Gruplar sadece PKOS durumuna göre incelendiğinde PKOS'lu olmayan ergenlerde endotrofin ile yaş ve BKİ arasında korelasyon gözlenmemiştir (-0,167/0,086 ve -0,033/0,727, sırasıyla). PKOS'lu ergenlerde ise endotrofin ile yaş ve BKİ arasında korelasyon gözlenmemiştir (0,093/0,288 ve -0,128/0,135, sırasıyla). Endotrofin, aşırı kilolu PKOS grubunda LDL ile negatif bir korelasyon göstermiştir ($p=0,009$). Sağlıklı çocuklardaki insülin düzeyleri ile negatif korelasyon göstermiştir ($p=0,024$). Normal kilolu PKOS grubundaki glikoz değerleri ile endotrofin arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir ($p=0,042$). Endotrofin diğer biyokimyasal ve hormon parametreleri ile karşılaştırıldığında gruplar ve parametreler arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.9).

5. TARTIŞMA

PKOS, üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluktur [163]. Sendromun semptomatolojisi, ayrı semptomlardan, hastalardaki karmaşık endokrin, metabolik ve immünolojik bozukluklara kadar uzanan birbirinden farklı çeşitliliktedir ve PKOS'lu kadınlardaki doğurganlık bozukluklarının nedenleri karmaşıktır [164].

PKOS üzerinde çalışan araştırmacılar son zamanlarda kronik düşük dereceli inflamasyona ve PKOS'lu hastalarda meydana gelen metabolik, endokrin ve üreme değişiklikleriyle ilişkisine vurgu yapmıştır. PKOS'lu kadınlar yağlanma açısından artmış risk altındadır. Yağ hücrelerinin birikimi, proinflamatuvar moleküllerin ve bazıları inflamasyon belirteçleri olan bir dizi molekülün salgılanması yoluyla parakrin ve endokrin bir şekilde etkilerini gösterir ve kronik inflamasyona sebep olur [4, 165]. Yükselmiş CRP seviyeleri, inflamasyon sitokinleri ve artmış lökosit sayısı gibi çeşitli yükselmiş inflamasyon belirteçlerinin varlığı, PKOS'ta düşük dereceli kronik inflamasyonun bir kanıtıdır [165]. Ek olarak birçok çalışma, PKOS'lu kadınlarda kronik düşük dereceli inflamasyonun hiperandrojenizm, insülin direnci ve doğurganlık başarısızlıkları üzerindeki etkisini doğrulamıştır [164].

Birçok çalışma, yumurtalık steroidogenezinin, foliküler gelişimin ve doğal anormalliklerinin polikistik over sendromunda rol oynadığını ileri sürmektedir. Sendrom ayrıca, aşırı yumurtalık androjen üretimine ve yumurtlama disfonksiyonuna katkıda bulunan sürekli hızlı gonadotropin salgılatıcı hormon darbeleri, aşırı lüteinize edici hormon ve yetersiz folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanmasıyla da ilişkilidir [166].

Ergenlerde PKOS'un çeşitli klinik yönleriyle ilgili bilgi boşlukları vardır. Bunun nedeni, uzun süreli çalışmaların veya ergenlik döneminde PKOS'un tanımlanması için spesifik tanı kriterlerinin olmamasıdır [167]. Rotterdam, AES ve NIH kriterleri yetişkinlerde PKOS tanısı koymak için kullanılabilir ancak ergen kızlarda PKOS tanısı koymak için spesifik kriterler yoktur [168].

Düzensiz adet döngüleri, hipotalamus-hipofiz-over ekseninin ilerleyici olgunlaşmasıyla perimenarşal dönemde yaygındır. Menarştan 1 yıl sonra, kızların %75'i düzenli döngülere (21 ila 45 gün arasında) sahiptir ve bunların yaklaşık yarısı, uzunluğu düzenli olsa bile

anovulatuardır. Bu bağlamda, kalıcı adet bozukluğunun mevcut olduğu sonucuna varmak için menarştan en az 2 yıl beklenmesi önerilmiştir [169].

Endotrofin Col6A3'ten (Kolajen 6'nın 3.kolu) parçalanan bir ürün olarak tanımlanmıştır. Kanserde ve metabolizma ortamında çeşitli patolojik durumların gelişiminde kritik bir rol oynadığı bildirilmiştir. Özellikle yağ dokularındaki endotrofin seviyelerinin, obezite veya diyabette yükseldiği ve yağ dokusu fibrozisi, inflamasyon ve anjiyogenez ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Obez yağ dokusunda biriken endotrofin yağ dokusu iltihabını ve fibrozisini artıran bir sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır. Bu da yağ dokularında metabolik işlev bozukluğuna ve sistemik insülin direncine yol açmaktadır.

Sunulan tez çalışmasının amacı, PKOS'lu ergenlerde serum endotrofin düzeylerinin değerlendirilmesi, diğer inflamasyon ve biyokimyasal parametrelerle ilişkilerinin incelenmesi ve endotrofin oluşumunda rol oynayan enzim olan MMP14'ün +6767 gen polimorfizminin endotrofin düzeylerini etkileyip etkilemediğinin araştırılmasıdır. Çalışmamıza katılan ergenlerin serum endotrofin düzeyleri karşılaştırıldığında normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum endotrofin değerleri, aşırı kilolu grubu, sağlıklı kontrol grubu ve aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin endotrofin değerleri aşırı kilolu ergenlere göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır.

Pasarica ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada kolajen 6'nın yağ dokusu ekstraselüler matriksinde bulunduğunu ortaya koymuştur. Aynı zamanda COL6A3'ün (endotrofin öncüsü) BKİ ve yağ kütlesi ile ilişkili olduğunu ve obez ve tip2 diyabetli hastalarda ekspresyonunun benzer olduğunu ortaya koymuştur. Yüksek COL6A3 mRNA'sına sahip obez bireylerde daha büyük visceral yağ dokusu kütlesi, daha küçük boyutta küçük ve orta boy yağ hücreleri olduğu belirtilmiştir. Sekiz haftalık aşırı beslenmenin vücut ağırlığını ve COL6A3 mRNA'sını artırdığını göstermişlerdir [170]. Çalışmamızda obezite gruplarına göre yapılan değerlendirmeler, PKOS'lu ergenlerde gözlenen yüksek endotrofin düzeylerinin obeziteden etkilenmediğini ve obez ergenlerin zayıf ya da normal kilolu ergenlere göre daha yüksek endotrofin değerlerine sahip olmadığını göstermektedir.

MMP14, kolajen proteinlerini dönüştürür ve dolayısıyla genişlemiş yağ hücreleri üzerindeki mekanik stresi serbest bırakır. Bu bağlamda, MMP14 yağ dokusu genişlemesi için metabolik olarak gerekli etkileri sağlar [115]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, MMP14'ün obez yağ dokusunda aşırı ifade edildiği ve C5 alanındaki COL6 α 3'ü sindirerek endotrofin ürettiği, bunun da fibrozisi uyarak yağ dokusunda makrofaj birikimine yol açtığı ve farelerde olumsuz metabolik sonuçlara yol açtığı bildirilmiştir [106]. Endometriyotik hastalarda MMP14'ün ekspresyonu artmıştır [171]. PKOS'lu sıçanlarının yumurtalıklarındaki MT1-MMP mRNA'sının kontrol sıçanlarının yumurtalık seviyelerinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur [172]. MMP14 kaybı şiddetli lipodistrofik fenotipe neden olur ve bu da farelerde yağ dokusu gelişimindeki baskın rolünü vurgular [173]. MMP14 ekspresyonu çoğu ileri evre yumurtalık kanserinde meydana gelirken tüm erken evre tümörlerde meydana gelmez [139]. Çalışmamızda aşırı kilolu PKOS ve aşırı kilolu ergen gruplarının serum MMP14 seviyeleri, kontrol grubu ergenlerin serum MMP14 seviyelerine göre belirgin bir şekilde yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır. Bununla birlikte normal kilolu PKOS'lu ergenlerde endotrofin düzeylerinde olduğu gibi yüksek MMP14 düzeyleri gözlenmiştir. 2025 yılının başında yayınlanan 143 PKOS'lu kadın ve 97 kontrolden oluşan iyi doğrulanmış bir PKOS veri tabanında gerçekleştirilen bir çalışmada PKOS'lu kadınlarda kontrollerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha düşük MMP-14 seviyeleri bulunmuştur ve bu MMP-14'ün PKOS'ta azaldığı ve BKİ'ye bağlı olduğu bildirilen bulgularla uyumlu olabilir [174]. Bizim sonuçlarımıza göre ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da PKOS'lu ergenlerde kontrollere göre daha yüksek düzeyde MMP14 saptanması bu sonuçlarla uyusmamaktadır.

MMP-14 genindeki polimorfizmler üzerine çelişkili araştırma sonuçları vardır, bazı araştırmacılar artmış veya azalmış kanser riski bildirirken, diğerleri zayıf klinik sonuçlar bildirmektedir. *MMP14* +6767 GG'nın, GA'ya göre 2,09 (CI 1,00–4,35) tehlike oranıyla tekrarlama içermeyen sağkalımı etkilediği görülmüştür [141]. *MMP14* +6767 G/A ve genotipinin, karşılık gelen vahşi tip genotiplerine kıyasla HCC için daha düşük risk taşıdığını göstermiştir. +6767 bölgesi, MMP14 geninin 5. eksonunda (+6639 ~ + 6800) yer almaktadır. +6767 G/A neden olan protein kalıntısı N (asparagin), D (aspartik asit) ile yer değiştirir ve bu da MMP14 proteininin orijinal aktivitesini veya işlevini değiştirebilir [138]. Çalışmamızda *MMP14* +6767 için GG genotipe sahip olanlara göre AG olmanın PKOS gelişimi üzerindeki risk değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi

bulunmamıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarda endotrofin düzeylerinin sağlıklı kontrollerde GG ve AG genotiplerinde benzer olduğu, AG genotipine sahip normal kilolu PKOS'lularda GG genotipine sahip olanlara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak genel olarak genotiplerin gerek endotrofin düzeylerini gerekse MMP-14 düzeylerini fazla etkilemediği gözlenmiştir.

Yağ dokusunda ECM'nin kritik bir aracısı endotrofindir. Kolajen VI her yerde ifade edilir, ancak yağ dokusunda oldukça zengin olduğu bildirilmektedir. Endotrofin obez yağ dokusunda yukarı düzenlenir ve obeziteyle ilişkili yağ dokusu disfonksiyonunu artan tümör insidansı, büyümesi ve metastatik yayılma ile ilişkilendiren mükemmel bir adaydır. Endotrofin çoğunlukla üretildiği yerel mikro çevrede etki etse de, bir kısmı dolaşıma karışır ve bir biyobelirteç olarak ölçülebilir [175]. Serum endotrofin düzeyi ile diyabetli bireylerde ciddi olumsuz sonuçlar arasındaki açık ilişki, hızlı böbrek fonksiyon düşüşü, kardiyovasküler hastalık ve diğer diyabet komplikasyonları için biyobelirteç arayışında umut vericidir [176]. Park ve arkadaşları tarafından tanımlanması ve karakterize edilmesinden bu yana, endotrofin pro-inflamatuar ve pro-fibrotik süreçlerde yer alan potansiyel bir patofizyolojik aracı olarak kabul edilmiştir [177]. Endotrofin, aynı zamanda, glomerüler ECM'de en sık bulunan proteinlerden biridir [178]. Ayrıca aterosklerotik plak oluşumuna neden olabileceği ve artan seviyelerinin artan endotel trombosit agregasyonu ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir [179]. Yakın zamanlı yapılan bir çalışmada kronik hastalık sayısının artmasıyla birlikte yükselen endotrofin seviyeleri gözlemlenmiştir. Bu başlangıçtan itibaren takip süresince hastalık sayısı doğrultusunda devam etmiştir. Takip süresince (11 yıl) ölçüldüğünde görülen daha yüksek endotrofin seviyelerinin nedeninin yaş olmadığından emin olmak için her çoklu morbidite grubu yaş gruplarına ayrılmış ve endotrofin seviyelerinin yaştan bağımsız olarak hastalık sayısı ile arttığı gözlemlenmiştir [180]. Çalışmamızda da endotrofin düzeyleri ile yaş arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Bununla birlikte çalışmada yer alan çocukların dar bir yaş aralığında (11-18 yaş aralığında) olması yaş ile endotrofin düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi güçleştirmiştir.

Karsdal ve ark. endotrofin ile ilgili yapmış olduğu çalışmada endotrofin seviyeleri HOMA-IR, trigliserit ve BKİ ile önemli ölçüde korelasyon göstermiştir. Bu durumun endotrofinin gerçekten de bir adipokin olduğunu ve yağ hücresi fonksiyonu, yağ kütlesi ve insülin duyarlılığının bazı yönleriyle ilişkili olduğunu gösteren bulguları desteklemediğini öne

sürmüşlerdir [181]. Aynı çalışmada endotrofin seviyeleri kolesterol ile korelasyon göstermemiştir. Endotrofin öncüsü prokollajen VI $\alpha 3$ 'ün mRNA düzeylerinin obez yağ dokusunda yukarı düzenlendiğini ve yağ dokusu iltihabı ve fibrozisle paralellik gösterdiğini belirtmişlerdir [181]. Bir başka çalışmada serum endotrofin düzeyi HOMA-IR ve açlık insülin düzeyi ile pozitif korelasyon göstermiştir. Çalışmada BKİ > 25 olan tüm bireylerde (IR ve sağlıklı grup) endotrofin anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ve iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buradan endotrofin seviyelerinin açlık plazma glikoz seviyelerinden bağımsız olarak IR hastalarında yüksek olduğu sonucuna varılabilmektedir [182]. Çalışmamızda endotrofin düzeyleri ile BKİ arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Sağlıklı çocuklardaki insülin düzeyleri ile negatif korelasyon göstermiştir. Normal kilolu PKOS grubundaki glikoz değerleri ile endotrofin arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir.

Serum endotrofin seviyelerinin normal kilodaki PKOS hastalarında yüksek düzeyde çıkması Güney ve arkadaşlarının çalışması ile uyumludur. Ancak aşırı kilolu PKOS grubunda kontrol ve aşırı kilolu gruba göre anlamlı bir yükseklik göstermemesi kafa karıştırıcıdır. Çünkü endotrofinin yağ dokusunda daha fazla üretilip dolaşıma salındığı bilinmektedir. Burada aşırı kiloya bağlı bazı metabolik belirteçlerin ve ergenlerin doğal gelişiminde ortaya çıkan belirtilerin PKOS belirtileri ile karıştırılmış olma ihtimali söz konusu olabilir. Çoğu yazar, ergenlik dönemindeki fizyolojik değişiklikler ve yaygın PKOS semptomlarındaki benzerlik nedeniyle yetişkinlere yönelik kriterlerin ergenlere uygulanmasının aşırı tanıya yol açtığı konusunda hemfikirlerdir [168].

Holte ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada LDL ve toplam kolesterol obezlerde obez olmayan PKOS hastalarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur [183]. Güney ve arkadaşlarının Türk popülasyonunda yapmış olduğu çalışmada PKOS'lu 43 kadın hasta aynı yaş grubundaki sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında vücut kitle indeksi, toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein ve yüksek yoğunluklu lipoprotein düzeyleri açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır [8]. Çalışmamızda aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum kolesterol düzeyleri kontrol grubu ergenlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin serum LDL değerleri, aşırı kilolu PKOS grubundaki bireylere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Hem normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin hem de aşırı kilolu ergen grubundaki bireylerin serum HDL düzeyleri aşırı kilolu PKOS grubundaki

ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sağlıklı ergenlerin serum HDL düzeyleri aşırı kilolu ergenlerin serum HDL düzeylerine göre daha yüksek bulunmuştur. Lipit profili açısından çalışmamız ile Güney ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma farklı sonuçlar göstermektedir.

Li ve arkadaşları bizim çalışma gruplarımıza benzer şekilde dört grup (obez PKOS, obez olmayan PKOS, obez olan PKOS olmayan ve obez olmayan ve PKOS olmayan) seçmiştir. Obez olmayan PKOS grubuyla karşılaştırıldığında, Obez PKOS grubunda HOMA-IR, TG, HDL-C, LDL-C düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılıklarla daha yüksek saptamışlardır. Kolesterolde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmamışlardır. PKOS gruplarında HOMA-IR, TG ve LDL-C ile anlamlı derecede negatif bir korelasyon gösterirken, HDL-C ile anlamlı derecede pozitif bir korelasyon göstermiştir [45]. Çalışmamızda bu çalışmayla uyumlu olarak aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerde HOMA-IR değerleri kontrol grubundaki normal kilolu PKOS'lu ergenlere ve aşırı kilolu gruptaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Trigliserit düzeyleri benzer şekilde aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerde normal kilolu PKOS'lu ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin HDL düzeyleri hem normal kilolu PKOS grubundaki hem de aşırı kilolu ergen grubundaki bireylere göre düşük bulunurken, serum LDL değerleri normal kilolu ergenlere göre daha düşük saptanmıştır.

Khashchenko ve arkadaşlarının çalışmasında, kan lipid profili analizinde normal kilolu, metabolik hastalığı olmayan PKOS'lu kızlar ve kontrol grupları arasında önemli farklılıklar gözlemlenmemiştir. Fazla kilolu PKOS'lu kız grubunun normal BMI değerlerine sahip diğer kız gruplarına kıyasla daha yüksek CRP seviyelerine sahip olduğunu göstermiştir. Metabolik bozukluğa sahip ve fazla kilolu PKOS'lu kızların CRP seviyeleri normal kilolu ve metabolik bozukluğu olmayan gruba ve kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek CRP düzeyleri göstermiştir. Yoldemir ve arkadaşları çalışmalarında CRP ve endotrofin arasında bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir [178]. Güney ve arkadaşları, PKOS'lu hastalarda endotrofin düzeylerinin anlamlı derecede daha yüksek olduğunu ayrıca endotrofin ve CRP arasında tespit ettikleri pozitif korelasyon sebebiyle endotrofinin bu inflamasyonda bir rolü olabileceğini belirtmişlerdir [8]. Aynı şekilde metabolik bozukluğa sahip ve fazla kilolu PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna kıyasla iki kat daha yüksek proinflamatuvar sitokin IL-

6 konsantrasyonu gözlemlenmiştir [184]. Güney ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada insülin direnci için homeostaz modeli değerlendirmesi, CRP, LH/FSH oranı ve trigliserid düzeyleri polikistik over sendromlu hastalarda daha yüksek saptanmıştır [8]. Normal kilolu PKOS grubunun trigliserit düzeyleri bu çalışma ile farklı olarak diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Gonzalez ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada dolaşımdaki CRP, IL-6 ve vücut ağırlığının, PKOS'lu obez kadınlarda arttığını, ancak PKOS'lu zayıf kadınlarda değişmediğini göstermiştir [185]. Bizim çalışmamızın sonuçlarında aşırı kilolu PKOS grubunun serum CRP sonuçları diğer tüm gruplara göre yüksek bulunması yönüyle bu çalışmaları desteklemektedir. Ancak çalışmamızda endotrofin değerleri ile CRP değerleri arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum IL-6 düzeyleri aşırı kilolu PKOS'lu ergenlerden, aşırı kilolu ergenlerden ve kontrol grubu ergenlerden anlamlı derecede düşük gözlenmiştir. Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum IL-6 düzeyleri ise sağlıklı kontrol grubundaki ergenlerden ve aşırı kilolu ergenlerden anlamlı derecede düşük bulunmuştur. IL-6 seviyeleri bakımından Khashchenko ve arkadaşları ile Gonzalez ve arkadaşlarının çalışması ile farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Üreme çağındaki PKOS'lu kadınlarda, BMI'den bağımsız olarak lipid profilindeki değişikliklerin ve daha yüksek HOMA-IR değerlerinin karakteristik olduğu iyi bilinmektedir [184]. PKOS ayrıca metabolik anormallikler ve insülin direnci (IR) ile ilişkilidir. IR, PKOS'un belirgin bir özelliğidir; ancak, bunun için bir tanı kriteri değildir. IR için Homeostasis Model Değerlendirmesi (HOMA-IR) indeksi, geniş popülasyonlarda IR'nin bir vekil ölçüsü olarak yaygın olarak kullanılır ve PKOS hastalarında IR'yi ölçmek için yararlı ve nispeten basit bir yöntem olduğuna inanılmaktadır [186]. Normal fizyolojik koşullar altında, dolaşımdaki endotrofin düzeyleri yaklaşık 20 pg/ μ L'lik bazal düzeylerde tutulur; ancak obezite veya diyabetik koşullarda endotrofin düzeyleri yaklaşık iki kat artar. Benzer şekilde, dolaşımdaki endotrofin düzeyleri obezite ve IR'li hastalarda kontrol deneklerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksektir [187]. Sonuçlarımızda aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerde HOMA-IR değerleri normal kilolu PKOS'lu ergenlere ve aşırı kilolu gruptaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin HOMA-IR değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Obez PKOS hastalarının insülin direncine sahip olduğu ve bu hastalarda insülin duyarlılığının obez olmayan PKOS kadınlarından daha az olduğu genel olarak kabul

edilen gerçeğe rağmen, obez olmayan PKOS hastalarındaki bulgular tartışmalıdır. Birkaç çalışma obez olmayan PKOS hastalarında insülin direnci bildirmezken, diğerleri bu bozukluğu bu hastalarda bildirmiştir [188]. Layegh ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada HOMA-IR'nin obez PKOS olgularda daha yüksek bulunmuş ve obez ve obez olmayan PKOS hastaları ile arasında anlamlı fark olduğu gösterilmiştir [188]. Shi ve diğerleri obez PKOS grubunda HOMA-IR, değerlerini normal kilolu PKOS grubuna göre daha yüksek bulmuştur. Hem obez hem de normal BMI'ye sahip PKOS hastaları hiperinsülinemiden etkilenmiştir ve IR, PKOS'un patojenezinde ve gelişiminde önemli bir rol oynayabilir [12].

Bugüne kadar, PKOS'un patojenezi tam olarak anlaşılmamıştır. Hiperandrojenizm için önerilen mekanizmalardan biri, büyüyen folikülün baskın bir foliküle ilerlemediği folikül olgunlaşma anormallikleridir. Folikül olgunlaşması, PKOS'lu hastalarda aromataz enzim aktivasyonu için eşik değerinin altındaki bir seviyeye baskılandığı bilinen folikül uyarıcı hormon (FSH) seviyelerine bağlıdır ve bu da yüksek androjen seviyelerine neden olur [189]. Li ve arkadaşlarının çalışmasında obez ve obez olmayan PKOS grupları arasında LH, FSH ve LH/FSH oranında anlamlı bir fark olmadığı ifade edilmiştir. Bunun, PKOS hastalarında anormal LH salgılanması ve artmış LH/FSH oranından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür [45]. Çalışmamızın sonuçlarında aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum FSH değerleri aşırı kilolu, normal kilolu PKOS ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Serum LH düzeyleri incelendiğinde, aşırı kilolu grubundaki bireylerin serum LH değerleri aşırı kilolu PKOS grubu ve sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda LH/FSH oranlarının aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerde normal kilolu PKOS ve aşırı kilolu ergenlerden düşük olduğu bulunmuştur.

Yumurtalıklar, östrojen sentezinin birincil yeridir ve östrojen reseptörleri (ER'ler), ER α , ER β ve G-protein-bağlı östrojen reseptörü (GPER, ayrıca GPR30 olarak da bilinir) yoluyla etki gösteren 17 β -estradiol (E2) üretir ve insan yumurtalıklarında ve uterusunda normal gelişime katkıda bulunur [190]. Eskandari ve arkadaşları PKOS ve PKOS olmayan hastalarda östrojen seviyelerinde bir farklılık bulmamıştır [191]. Bizim çalışmamızda aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum östrojen düzeyleri normal kilolu PKOS grubuna göre, aşırı kilolu gruba göre ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır.

Bir yağ hücresinin ölümü üzerine geride kalan lipid damlacıklarının makrofajlar tarafından temizlenmesi gerekir. Bu makrofajlar daha da aktive olur ve IL-6, TNF α ve MCP-1 gibi pro-inflamatuar faktörleri salgılar ve bu inflammatuar faktörler aşırı miktarda üretildiğinde nihayetinde insülin direncinin gelişmesine yol açan lokal süreçlerde rol oynar. Bu fenomenlerin çoğu endotrofin tarafından tekrarlanır [114]. Flannery ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada şiddetli akut böbrek hasarı olan hastalarda serum endotrofin ile diğer biyobelirteçler arasındaki ilişkiyi gösteren ısı haritalarında serum endotrofin düzeyleri, TNF- α ile yakın korelasyon göstermiştir [192]. Pleiotropik sinyal molekülü tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) doğal olarak nötrofitler, aktive makrofajlar ve fibroblastlar ve yumurtalıklardaki endotel hücreleri tarafından üretilir [193]. TNF- α , yağ dokusunda aromataz ve IL-6 ekspresyonunu artırarak östrojen sentezini artırır [60]. Obezitede seviyeleri artan birkaç klasik adipositokin, leptin, TNF- α , IL-6 ve resistin dahil olmak üzere pro-karsinogenik bir rol oynadığı gösterilmiştir [59].

Foliküler sıvıdaki sitokinlerin inflamasyon belirteçlerini ölçen bir çalışmada PKOS grubu ve normal yumurtlama fonksiyonuna sahip olan grup karşılaştırılmıştır. IL-6, IL-8 ve TNF- α FF düzeyleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PKOS grubunda önemli ölçüde yüksek bulunmuş ve kronik düşük dereceli inflamasyonun PKOS'un patojenezinde ve gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir [194]. Çalışmamızın sonuçları ile kıyaslandığında TNF- α , obez grup hariç tüm kategorilerde PKOS'lu grupta PKOS'suz gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. IL-6 tüm kategorilerde PKOS'lu grupta PKOS'suz gruba göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ve IL-8 obezite kategorilerine göre PKOS'lu ve PKOS'suz gruplarda farklılık göstermemiştir.

PKOS hastalarında inflammatuar aktiviteyi ölçen bir çalışmada, IL-6 seviyeleri hem zayıf hem de aşırı kilolu/obez alt gruplarda, kontrollerle karşılaştırıldığında PCOS'lu kadınlarda artmıştır, TNF- α düzeyleri ise kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur [195].

Gao ve arkadaşları PKOS'lu kadınlarda dolaşımdaki TNF- α düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu öne sürmüştür [196]. Yapılan bir meta-analize 522 PKOS'lu kadın ve 330 kontrol çalışmaya dahil edilmiştir. PKOS'lu kadınlarda serum IL-6 ve TNF- α düzeylerinde kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır [197].

PKOS'un proinflatuar bir durum olduğu iyi bilinmektedir ve kronik düşük dereceli inflamasyonun PKOS'ta metabolik bozulma ve yumurtalık disfonksiyonunun gelişimini desteklediği bulunmuştur. Yaygın çok işlevli sitokinler olan TNF-alfa, IL-6 ve IL-1'in, PKOS'lu kadınlarda da etkilenen yumurtlama, döllenme ve implantasyon süreçlerini etkilediği öne sürölmüştür. Ancak, PKOS'lu kadınlar ve kontrollerde serum TNF-alfa ve IL-6 konsantrasyonlarının meta-analizinde anlamlı bir fark bulunamamıştır [198]. Bu meta-analizin sonuçları çalışmamızın sonuçları ile uyumludur, fakat daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Çalışmamızın sonuçlarında ergenlerin serum TNF- α düzeyleri incelendiğinde normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin serum TNF- α düzeyleri hem aşırı kilolu grubundaki hem kontrol grubundaki hem de aşırı kilolu PKOS grubundaki bireylere göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum TNF- α düzeyleri ise aşırı kilolu grubundaki ve kontrol grubundaki bireylerin serum TNF- α düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları hem Escobar ve arkadaşları ile hem de Gao ve arkadaşları ile farklı çıkmıştır. Bu farkın sebebi çalıştığımız grubun ergen çocuklardan oluşması olabilir. IL-6 aktivitesi de TNF α , İnterferon- γ ve IL-1 gibi belirli iltihap destekleyici moleküller tarafından indüklenir [193]. Tüm çalışma gruplarında TNF- α ve IL-6 arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyonlar gözlemlendi. Normal kilolu PKOS'lu ergenlerin bulunduğu grubun sonuçları incelendiğinde TNF- α ile IL-6 arasında mükemmel pozitif bir ilişki saptanmıştır. TNF- α ile IL-6 arasındaki bu yüksek korelasyon sonuçlarımızın birbiri ile uyumlu olduğunu gösteriyor. Ancak literatürde yer alan çalışmaların çoğu yetişkin kadınlar üzerinde yapıldığından ergenlikteki sonuçlar açısından belirsizlik mevcuttur.

PKOS'lu kadınlarda, artan bir viseral yağ birikimi eğilimi vardır ve bu yağ dokusundaki yağ hücreleri, inflamatuvar biyobelirteçlerin salgılanmasında rol oynar [165]. IL-8'in yumurtalık düzenlemesinde ümit verici bir rolü vardır. Oosit olgunlaşmasının, yumurtlamanın ve foliküler gelişimin düzenlenmesine yardımcı olur. IL-8 ekspresyonu over endometriumunda yüksektir. Ortaya çıkan çalışmalar, PKOS durumunda yüksek IL-8 düzeylerinin gözlemlendiğini ima etmektedir [193]. 50 PKOS hastası ve 50 kontrollü bir deneyde yumurtalık mural granüloza hücrelerinde IL-6, IL-8 ve IL-18'in haberci RNA (mRNA) ifadelerinin PKOS grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yukarı düzenlendiği bulunmuştur. Foliküler sıvıdaki IL-6, IL-8 ve olgun IL-18 proteinlerinin üretimi de PKOS grubunda önemli ölçüde yüksek görölmüştür ve yağ asitleri seviyeleriyle pozitif korelasyon

gösterdiği belirtilmiştir [199]. Çalışmamızda IL-8 değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık göstermese de sağlıklı ergenlerde TNF- α , IL-6 ve PAI1 ile, normal kilolu PKOS grubunda TNF- α ve IL-6 ile, aşırı kilolu PKOS grubunda endotrofin ve PAI1 ile ve aşırı kilolu grupta PAI1 ile anlamlı pozitif korelasyonlar göstermiştir.

Kolajen VI'nın stromal ekspresyonunun artması, tümör oluşumunun ve kötü huylu ilerlemenin çeşitli yönleriyle ilişkilendirilmiştir. Özellikle, kolajen VI'nın $\alpha 3$ alt birimi olan endotrofin, normal dokuyu çevreleyen stroma ile karşılaştırıldığında kolon tümörlerini çevreleyen stromada daha fazla artmıştır [200]. Endotrofin seviyelerinin, kanser olmayan hastalara kıyasla meme kanseri hastalarında yukarı düzenlendiği görülmüştür. Endotrofinin etkilerine ilişkin çalışmalar, epitelden mezenkimale geçiş belirteçlerini yukarı düzenleyerek epitelden mezenkimale geçişi indüklediği sonucuna varmıştır. PAI-1, viseral yağdaki yağ hücrelerinde ifade edilir. Üretimi obezite sırasında artar. Obez kadınlarda artan PAI-1 seviyeleri ile agresif meme kanseri gelişimi arasında bir bağlantı olduğu öne sürülmüştür [201]. PAI-1, fibrinoliz aktivitesini kontrol ederek, merkezi obezite, metabolik hastalıklar, insüline bağımlı olmayan diyabet ve tromboz ilerlemesi gibi insüline dirençli durumları teşvik eder [71]. Birkaç vaka kontrol çalışması, PKOS'lu kadınlarda daha yüksek seviyelerde PAI1 aktivitesi veya antijeni bulmuştur. PAI-1 salgılanmasının, PKOS hastalarında bulunan hiperinsülinemi ve seks hormonu bağlayıcı globulin düzeylerinin azalmasıyla uyarılabildiği düşünülmektedir [202]. Sonuçlarımıza göre normal kilolu PKOS grubundaki bireylerin sağlıklı ergen grubundaki bireylere göre serum PAI1 düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda PAI1 seviyeleri ile endotrofin seviyeleri aşırı kilolu PKOS grubunda yüksek korelasyon gösterirken, normal kilolu PKOS grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek uyum göstermiştir. Sağlıklı kontrol grubunda, aşırı kilolu PKOS grubunda ve aşırı kilolu grupta IL-8 ile yüksek pozitif korelasyon göstermiştir. PAI1 ve IL-8'in bu kadar yüksek korelasyon göstermesi aralarında sıkı bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır.

PCOS yumurtalıklarındaki PAI-1 ekspresyonu immünohistolojik olarak da araştırılmıştır. İnsan GC (granuloza hücresi) hücre hattı olan HGrC1'deki PAI-1 ekspresyonları mRNA ve aktivite seviyelerinde araştırıldığında, sağlıklı GC'lerde az PAI-1 ekspresyonu gözlenirken, PCOS ve atretik folikül GC'leri in vivo'da belirgin ekspresyon sergilemiştir [203]. Bu çalışmanın sonuçları çalışmamız ile uyumludur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ergenlik polikistik over sendromunda serum endotrofin seviyelerinin biyobelirteç potansiyelinin araştırılması ile rutin biyokimyasal ve bazı hormonal değerleri ile MMP14 +6767 gen polimorfizminin ilişkisini incelemiştir. Elde edilen bulgulara normal kilolu PKOS'lu, aşırı kilolu PKOS'lu, aşırı kilolu ve sağlıklı ergenler karşılaştırılarak sonuçlar ortaya çıkarılmış ve bu sonuçlar özetlenmiştir.

- Normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum endotrofin değerleri, aşırı kilolu, sağlıklı kontrol grubu ve aşırı kilolu PKOS gruplarındaki ergenlere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuç endotrofinin PKOS için önemli bir bağımsız değişken olabileceğini göstermektedir.
- Benzer şekilde normal kilolu PKOS'lu ergenlerin serum MMP14 düzeyleri de, kontrol grubu ergenlerin serum MMP14 düzeylerinden anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.
- Çalışmamızda *MMP14* +6767 için *GG* genotipe sahip olanlara göre *AG* olmanın PKOS gelişimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır.
- Endotrofin düzeylerinin sağlıklı kontrollerde *GG* ve *AG* genotiplerinde benzer olduğu, *AG* genotipine sahip normal kilolu PKOS'lularda *GG* genotipine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak genel olarak genotiplerin gerek endotrofin, gerekse MMP-14 düzeylerini fazla etkilemediği gözlenmiştir.
- Obeziteye göre değerlendirme yapıldığında endotrofin düzeylerinin zayıf ve normal kilolu PKOS'ta aynı kilo gruplarındaki PKOS olmayanlara göre daha yüksek olduğu ve endotrofin düzeylerinin ergenlerde kilodan bağımsız olarak arttığı gözlenmiştir.
- Normal kilolu PKOS grubundaki ergenlerin serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri hem aşırı kilolu grubundaki hem kontrol grubundaki hem de aşırı kilolu PKOS grubundaki ergenlere göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur.
- IL-8 düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermezken, PKOS grubundaki normal kilolu ve aşırı kilolu ergenlerin sağlıklı ergenlere göre daha yüksek PAI1 düzeylerine sahip olduğu gözlenmiştir.
- Endotrofin düzeyleri sadece aşırı kilolu PKOS grubunda IL-8 ve PAI1 düzeyleri ile pozitif bir korelasyon göstermiştir.
- Endotrofin, PKOS'ta farklılıklar gösteren biyokimyasal parametrelerle de ilişkili bulunmamıştır.

Bu sonuçlara göre öneriler;

- Polikistik over sendromu yetişkin kadınların ve ergen kızların giderek artış gösteren önemli bir sorundur. PKOS tanısı konulan ergen kızların sayısının giderek artması önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. İnfertilite, oligomenore, hirsutizm, akne, obezite ve artmış insülin direnci ile seyreden endokrin bir bozukluktur. PKOS ile ilişkili en önemli hormonal anormallikler hiperandrojenemi ve artmış östrojen üretimidir. Özellikle ergenlikte PKOS'lu kızlar yaşlarına göre daha kötü metabolik profil sergilemektedir. PKOS'un beraberinde getirdiği kronik ve metabolik hastalıklar ve tıbbi maliyetler göz önüne alındığında bu ilerlemenin etkili bir şekilde önlenmesi, risk altındaki ergen kızların dikkatli bir şekilde tanı alması ve tedavi edilmesi gerekir. Tedavi noktasında net olmayan belirti ve semptomlar yerine daha net teşhis konulmasını sağlayacak yeni yöntemler sağlanmalıdır.
- PKOS ile birlikte değerlendirilen obezite vücutta sağlığı olumsuz etkileyecek düzeyde yağ dokusu artışıdır. Birçok çalışma PKOS patojenezini obezite ile birlikte değerlendirmektedir. Artmış yağ dokusu sonucu vücutta meydana gelen metabolik bozukluklar sonucu PKOS profili kötüye doğru gitmekte ve tanısının konulması zorlaşmaktadır. Özellikle küçük çocuklarımıza ve ergenlerimize sağlıklı beslenme ve fiziksel aktivite alışkanlıklarının kazandırılması sağlanmalıdır.
- Serum endotrofin düzeyleri PKOS için obeziteden bağımsız olarak anlamlı sonuçlar vermektedir. Fakat daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca MMP14 ve diğer parametrelerle ilişkisinin daha net sonuçlar vermesi için serum, plazma ve doku gibi farklı vücut sıvı ve dokularını bir arada değerlendirmek ve karşılaştırmak önemli olabilir.
- Endotrofin ile inflamasyon sitokinlerinin ilişkisini araştıran çalışmalar artmaktadır. Çalışmamıza dahil ettiğimiz inflamasyon sitokinleri ile birlikte daha geniş bir yelpazede inflamasyon sitokinleri çalışılmalı ve çelişkili sonuçların aydınlatılması sağlanmalıdır. Ayrıca serum endotrofin seviyelerinin değerlendirilmesi açısından standartlaştırılmış yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bunun için en iyi uygulama tüm dünyada ortak olarak kullanılabilecek kaliteli ve yüksek hassasiyetli ELISA kitlerinin geliştirilmesi olacaktır
- PKOS gelişiminin erken teşhisi ve önlenmesi için genetik çalışmalar daha fazla artırılmalı ve ailesel geçiş değerlendirilmelidir.

- Çalışmamızın benzeri çalışmalar yapmak, endotrofinin biyobelirteç olarak değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır. Ayrıca endotrofini kesen MMP14'ün gen polimorfizm çalışmaları diğer polimorfizmleri de içerecek şekilde genişletilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Salhah, H., A. Bonny, J. Benedict, and L. Nahata. (2024). Fertility Perspectives and Concerns in Adolescents with Pcos Compared to Controls. *Journal of Adolescent Health*, 75(5), 836-841.
2. Siddiqui, S., S. Mateen, R. Ahmad, and S. Moin. (2022). A Brief Insight into the Etiology, Genetics, and Immunology of Polycystic Ovarian Syndrome (Pcos). *Journal of assisted reproduction and genetics*, 39(11), 2439-2473.
3. Upadhye, J.J. and C.A. Shembekar. (2017). Awareness of Pcos (Polycystic Ovarian Syndrome) in Adolescent and Young Girls. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, 6(6), 2297-2301.
4. Rostamtabar, M., S. Esmaeilzadeh, M. Tourani, A. Rahmani, M. Baee, F. Shirafkan, K. Saleki, S.S. Mirzababayi, S. Ebrahimpour, and H.R. Nouri. (2021). Pathophysiological Roles of Chronic Low-Grade Inflammation Mediators in Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Cellular Physiology*, 236(2), 824-838.
5. Patel, S. (2018). Polycystic Ovary Syndrome (Pcos), an Inflammatory, Systemic, Lifestyle Endocrinopathy. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 182, 27-36.
6. Diamanti-Kandarakis, E. (2010). Pcos in Adolescents. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 24(2), 173-183.
7. Bulut, G., Z. Kurdoglu, Y.B. Dönmez, M. Kurdoglu, and R. Erten. (2015). Effects of Jnk Inhibitor on Inflammation and Fibrosis in the Ovary Tissue of a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 8(8), 8774-85.
8. Guney, G., M.I. Taskin, O. Baykan, E. Adali, S. Gul Tezcan, S. Sarikaya, C. Kaya, and E. Tolu. (2021). Endotrophin as a Novel Marker in Pcos and Its Relation with Other Adipokines and Metabolic Parameters: A Pilot Study. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 12, 20420188211049607.
9. Gonzalez-Molina, J., S. Gramolelli, Z. Liao, J.W. Carlson, P.M. Ojala, and K. Lehti. (2019). Mmp14 in Sarcoma: A Regulator of Tumor Microenvironment Communication in Connective Tissues. *Cells*, 8(9), 991.
10. Li, X., Y. Zhao, C. Chen, L. Yang, H.H. Lee, Z. Wang, N. Zhang, M.G. Kolonin, Z. An, X. Ge, P.E. Scherer, and K. Sun. (2020). Critical Role of Matrix Metalloproteinase 14 in Adipose Tissue Remodeling during Obesity. *Molecular and Cellular Biology* 40(8).
11. Haoula, Z., M. Salman, and W. Atiomo. (2012). Evaluating the Association between Endometrial Cancer and Polycystic Ovary Syndrome. *Human reproduction*, 27(5), 1327-1331.
12. Shi, W., Q. Zhao, X. Zhao, C. Xing, and B. He. (2021). Analysis of Endocrine and Metabolic Indexes in Non-Obese Patients with Polycystic Ovary Syndrome and Its Compare with Obese Patients. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 4275-4281.
13. Nisa, K.U., N. Tarfeen, S.A. Mir, A.A. Waza, M.B. Ahmad, and B.A. Ganai. (2024). Molecular Mechanisms in the Etiology of Polycystic Ovary Syndrome (Pcos): A

- Multifaceted Hypothesis Towards the Disease with Potential Therapeutics. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 39(1), 18-36.
14. Jozkowiak, M., H. Piotrowska-Kempisty, D. Kobylarek, N. Gorska, P. Mozdziak, B. Kempisty, D. Rachon, and R.Z. Spaczynski. (2023). Endocrine Disrupting Chemicals in Polycystic Ovary Syndrome: The Relevant Role of the Theca and Granulosa Cells in the Pathogenesis of the Ovarian Dysfunction. *Cells*, 12(1), 174.
 15. Rosenfield, R.L. and D.A. Ehrmann. (2016). The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (Pcos): The Hypothesis of Pcos as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. *Endocrine reviews*, 37(5), 467-520.
 16. Sapmaz, T., K. Sevgin, S. Topkaraoglu, M. Tekayev, F. Gumuskaya, F. Efendic, M.E. Pence, S. Aktas, G. Hekimoglu, and O. Irkorucu. (2022). Propolis Protects Ovarian Follicular Reserve and Maintains the Ovary against Polycystic Ovary Syndrome (Pcos) by Attenuating Degeneration of Zona Pellucida and Fibrous Tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 636, 97-103.
 17. Navaratnarajah, R., O.C. Pillay, and P. Hardiman. *Polycystic Ovary Syndrome and Endometrial Cancer*. in *Seminars in reproductive medicine*. 2008. © Thieme Medical Publishers.
 18. Hoeger, K.M., A. Dokras, and T. Piltonen. (2021). Update on Pcos: Consequences, Challenges, and Guiding Treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 106(3), e1071-e1083.
 19. Christou, M.A., G. Mintziori, D.G. Goulis, and B.C. Tarlatzis, (2023). *Polycystic Ovarian Syndrome*, in *Amenorrhea: Volume 10: Frontiers in Gynecological Endocrinology*, A.R. Genazzani, A.L. Hirschberg, A.D. Genazzani, R. Nappi, and S. Vujovic, Editors. Springer International Publishing: Cham. p. 95-121.
 20. Escobar-Morreale, H.F. (2018). Polycystic Ovary Syndrome: Definition, Aetiology, Diagnosis and Treatment. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(5), 270-284.
 21. Franks, S. (2008). Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents. *International Journal of Obesity*, 32(7), 1035-1041.
 22. Witchel, S.F., S.E. Oberfield, and A.S. Peña. (2019). Polycystic Ovary Syndrome: Pathophysiology, Presentation, and Treatment with Emphasis on Adolescent Girls. *Journal of the Endocrine Society*, 3(8), 1545-1573.
 23. Agrawal, A., R. Ambad, R. Lahoti, P. Muley, and P.S. Pande. (2022). Role of Artificial Intelligence in Pcos Detection. *Journal of Datta Meghe Institute of Medical Sciences University*, 17(2), 491-494.
 24. Lobo, R.A. and E. Carmina. (2000). The Importance of Diagnosing the Polycystic Ovary Syndrome. *Annals of Internal Medicine*, 132(12), 989-993.
 25. Okamura, Y., F. Saito, K. Takaishi, T. Motohara, R. Honda, T. Ohba, and H. Katabuchi. (2017). Polycystic Ovary Syndrome: Early Diagnosis and Intervention Are Necessary for Fertility Preservation in Young Women with Endometrial Cancer under 35 years of Age. *Reproductive Medicine and Biology*, 16(1), 67-71.
 26. Reka, S. and R. Elakkiya. *Early Diagnosis of Poly Cystic Ovary Syndrome (Pcos) in Young Women: A Machine Learning Approach*. in *2022 IEEE International Symposium on Mixed and Augmented Reality Adjunct (ISMAR-Adjunct)*. 2022. IEEE.

27. Blanco, C.E. (2022). Early Diagnosis in Polycystic Ovary Syndrome. *The Nurse Practitioner*, 47(10), 18-24.
28. Kahsar-Miller, M.D., C. Nixon, L.R. Boots, R.C. Go, and R. Azziz. (2001). Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome (Pcos) in First-Degree Relatives of Patients with Pcos. *Fertility and Sterility*, 75(1), 53-58.
29. Risal, S., Y. Pei, H. Lu, M. Manti, R. Fornes, H.-P. Pui, Z. Zhao, J. Massart, C. Ohlsson, E. Lindgren, N. Crisosto, M. Maliqueo, B. Echiburú, A. Ladrón de Guevara, T. Sir-Petermann, H. Larsson, M.A. Rosenqvist, C.E. Cesta, A. Benrick, Q. Deng, and E. Stener-Victorin. (2019). Prenatal Androgen Exposure and Transgenerational Susceptibility to Polycystic Ovary Syndrome. *Nature Medicine*, 25(12), 1894-1904.
30. Mimouni, N.E.H., I. Paiva, A.L. Barbotin, F.E. Timzoura, D. Plassard, S. Le Gras, G. Ternier, P. Pigny, S. Catteau-Jonard, V. Simon, V. Prevot, A.L. Boutillier, and P. Giacobini. (2021). Polycystic Ovary Syndrome Is Transmitted Via a Transgenerational Epigenetic Process. *Cell Metabolism*, 33(3), 513-530.e8.
31. Patel, J., H. Chaudhary, S. Panchal, T. Joshi, and R. Joshi. (2024). Endocrine-Disrupting Chemicals and Hormonal Profiles in Pcos Women: A Comparative Study between Urban and Rural Environment. *Reproductive Toxicology*, 125, 108562.
32. Palioura, E. and E. Diamanti-Kandarakis. (2015). Polycystic Ovary Syndrome (Pcos) and Endocrine Disrupting Chemicals (Edcs). *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 16(4), 365-371.
33. Gregoraszczuk, E.L. and A. Ptak. (2013). Endocrine-Disrupting Chemicals: Some Actions of Pops on Female Reproduction. *International Journal of Endocrinology*, 2013(1), 828532.
34. Yang, J. and C. Chen. (2024). Hormonal Changes in Pcos. *Journal of Endocrinology*, 261(1).
35. Sudhakaran, G., A. Guru, B. Hari Deva Muthu, R. Murugan, A. Arshad, and J. Arockiaraj. (2022). Evidence-Based Hormonal, Mutational, and Endocrine-Disrupting Chemical-Induced Zebrafish as an Alternative Model to Study Pcos Condition Similar to Mammalian Pcos Model. *Life Sciences*, 291, 120276.
36. Linares, R., D. Hernández, C. Morán, R. Chavira, M. Cárdenas, R. Domínguez, and L. Morales-Ledesma. (2013). Unilateral or Bilateral Vagotomy Induces Ovulation in Both Ovaries of Rats with Polycystic Ovarian Syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11, 1-9.
37. Holland, J.F., (2010). *Holland-Frei Cancer Medicine* 8, ed. J.F.H. American Association for Cancer Research, Waun Ki Hong. Vol. 8. PMPH-USA.
38. Stener-Victorin, E., H. Teede, R.J. Norman, R. Legro, M.O. Goodarzi, A. Dokras, J. Laven, K. Hoeger, and T.T. Piltonen. (2024). Polycystic Ovary Syndrome. *Nature Reviews Disease Primers*, 10(1), 27.
39. Liao, B., J. Qiao, and Y. Pang. (2021). Central Regulation of Pcos: Abnormal Neuronal-Reproductive-Metabolic Circuits in Pcos Pathophysiology. *Frontiers Endocrinology (Lausanne)*, 12, 667422.
40. Richards, J.S., (2018). *Chapter One - the Ovarian Cycle*, in *Vitamins and Hormones*, G. Litwack, Editor. Academic Press. p. 1-25.

41. Xiang, Y., H. Wang, H. Ding, T. Xu, X. Liu, Z. Huang, H. Wu, and H. Ge. (2023). Hyperandrogenism Drives Ovarian Inflammation and Pyroptosis: A Possible Pathogenesis of Pcos Follicular Dysplasia. *International Immunopharmacology*, 125, 111141.
42. Kumariya, S., V. Ubba, R.K. Jha, and J.R. Gayen. (2021). Autophagy in Ovary and Polycystic Ovary Syndrome: Role, Dispute and Future Perspective. *Autophagy*, 17(10), 2706-2733.
43. Pérez-Hernández, A.I., V. Catalán, J. Gómez-Ambrosi, A. Rodríguez, and G. Frühbeck. (2014). Mechanisms Linking Excess Adiposity and Carcinogenesis Promotion. *Frontiers in endocrinology*, 5, 65.
44. Krishnan, A. and S. Muthusami. (2017). Hormonal Alterations in Pcos and Its Influence on Bone Metabolism. *Journal of Endocrinology*, 232(2), R99-R113.
45. Li, X.-l., Y.-f. Ji, Y. Feng, and S.-w. Liu. (2024). Metabolic Disparities between Obese and Non-Obese Patients with Polycystic Ovary Syndrome: Implications for Endometrial Receptivity Indicators. *Gynecological Endocrinology*, 40(1), 2312895.
46. Qu, X. and R. Donnelly. (2020). Sex Hormone-Binding Globulin (Shbg) as an Early Biomarker and Therapeutic Target in Polycystic Ovary Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 21(21), 8191.
47. Hyderali, B.N. and K. Mala. (2015). Oxidative Stress and Cardiovascular Complications in Polycystic Ovarian Syndrome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 191, 15-22.
48. Meczekalski, B., O. Niwczyk, A. Kostrzak, M. Maciejewska-Jeske, G. Bala, and A. Szeliga. (2023). Pcos in Adolescents-Ongoing Riddles in Diagnosis and Treatment. *J Clin Med*, 12(3).
49. Duleba, A.J. and A. Dokras. (2012). Is Pcos an Inflammatory Process? *Fertility and Sterility*, 97(1), 7-12.
50. Xu, X.J., W.J. Pories, L.G. Dohm, and N.B. Ruderman. (2013). What Distinguishes Adipose Tissue of Severely Obese Humans Who Are Insulin Sensitive and Resistant? *Current Opinion in Lipidology*, 24(1), 49-56.
51. Awonuga, A.O., O.G. Camp, and H.M. Abu-Soud. (2023). A Review of Nitric Oxide and Oxidative Stress in Typical Ovulatory Women and in the Pathogenesis of Ovulatory Dysfunction in Pcos. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 21(1), 111.
52. Gong, Y., S. Luo, P. Fan, H. Zhu, Y. Li, and W. Huang. (2020). Growth Hormone Activates Pi3k/Akt Signaling and Inhibits Ros Accumulation and Apoptosis in Granulosa Cells of Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 18(1), 121.
53. González, F. (2012). Inflammation in Polycystic Ovary Syndrome: Underpinning of Insulin Resistance and Ovarian Dysfunction. *Steroids*, 77(4), 300-305.
54. Rudnicka, E., K. Suchta, M. Grymowicz, A. Calik-Ksepka, K. Smolarczyk, A.M. Duszewska, R. Smolarczyk, and B. Meczekalski. (2021). Chronic Low Grade Inflammation in Pathogenesis of Pcos. *International Journal of Molecular Sciences* 22(7).

55. Aboeldalyl, S., C. James, E. Seyam, E.M. Ibrahim, H.E.-D. Shawki, and S. Amer. (2021). The Role of Chronic Inflammation in Polycystic Ovarian Syndrome—a Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2734.
56. Shorakae, S., S. Ranasinha, S. Abell, G. Lambert, E. Lambert, B. de Courten, and H. Teede. (2018). Inter-Related Effects of Insulin Resistance, Hyperandrogenism, Sympathetic Dysfunction and Chronic Inflammation in Pcos. *Clinical endocrinology*, 89(5), 628-633.
57. Park, J. and P.E. Scherer. (2012). Adipocyte-Derived Endotrophin Promotes Malignant Tumor Progression. *The Journal of clinical investigation*, 122(11), 4243-4256.
58. Yin, Y., Y. Zhang, X. Zhang, Q. Zhang, J. Wang, T. Yang, C. Liang, W. Li, J. Liu, and X. Ma. (2023). Association of Mmp3, Mmp14, and Mmp25 Gene Polymorphisms with Cerebral Stroke Risk: A Case-Control Study. *BMC Medical Genomics*, 16(1), 297.
59. Cabia, B., S. Andrade, M.C. Carreira, F.F. Casanueva, and A.B. Crujeiras. (2016). A Role for Novel Adipose Tissue-Secreted Factors in Obesity-Related Carcinogenesis. *Obesity Reviews*, 17(4), 361-376.
60. Choi, J., Y.J. Cha, and J.S. Koo. (2018). Adipocyte Biology in Breast Cancer: From Silent Bystander to Active Facilitator. *Progress in Lipid Research*, 69, 11-20.
61. Rose-John, S. (2012). Il-6 Trans-Signaling Via the Soluble Il-6 Receptor: Importance for the Pro-Inflammatory Activities of Il-6. *International journal of biological sciences*, 8(9), 1237.
62. Zhou, X., J. Zhang, W. Lv, C. Zhao, Y. Xia, Y. Wu, and Q. Zhang. (2022). The Pleiotropic Roles of Adipocyte Secretome in Remodeling Breast Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 41(1), 203.
63. Tanaka, T., M. Narazaki, and T. Kishimoto. (2018). Interleukin (Il-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(8), a028456.
64. Mihara, M., M. Hashizume, H. Yoshida, M. Suzuki, and M. Shiina. (2011). Il-6/Il-6 Receptor System and Its Role in Physiological and Pathological Conditions. *Clinical Science*, 122(4), 143-159.
65. Borthakur, A., Y. D Prabhu, and A. Valsala Gopalakrishnan. (2020). Role of Il-6 Signalling in Polycystic Ovarian Syndrome Associated Inflammation. *Journal of Reproductive Immunology*, 141, 103155.
66. Xu, X., C. Du, Q. Zheng, L. Peng, and Y. Sun. (2014). Effect of Metformin on Serum Interleukin-6 Levels in Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review. *BMC Women's Health*, 14(1), 93.
67. Mlachkova, A., C. Popova, and V. Doseva. (2020). Presence of Il-8 Gene Polymorphism&Nbsp;and Il-8 Serum Levels in Patients with Chronic Periodontitis - Literature Review. *Folia Medica*, 62(2), 253-257.
68. Liu, J.-F., C.-X. Zhang, R.-F. Li, and Q.-W. Man. (2022). Il-8 Is Upregulated in the Tissue-Derived Evs of Odontogenic Keratocysts. *BioMed Research International*, 2022(1), 9453270.

69. Chen, R., J. Yan, P. Liu, Z. Wang, and C. Wang. (2017). Plasminogen Activator Inhibitor Links Obesity and Thrombotic Cerebrovascular Diseases: The Roles of Pai-1 and Obesity on Stroke. *Metabolic Brain Disease*, 32(3), 667-673.
70. Loskutoff, D.J. and F. Samad. (1998). The Adipocyte and Hemostatic Balance in Obesity: Studies of Pai-1. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 18(1), 1-6.
71. Yousuf, S.D., M.A. Ganie, U. Urwat, S.M. Andrabi, M.A. Zargar, M.A. Dar, M. Manzoor-ul-Rehman, S. Mudassar, and F. Rashid. (2023). Oral Contraceptive Pill (Ocp) Treatment Alters the Gene Expression of Intercellular Adhesion Molecule-1 (Icam-1), Tumor Necrosis Factor-A (Tnf-A), Monocyte Chemoattractant Protein-1 (Mcp-1) and Plasminogen Activator Inhibitor-1 (Pai-1) in Polycystic Ovary Syndrome (Pcos) Women Compared to Drug-Naive Pcos Women. *BMC Women's Health*, 23(1), 68.
72. Bastelica, D., P. Morange, B. Berthet, H. Borghi, O. Lacroix, M. Grino, I. Juhan-Vague, and M.-C. Alessi. (2002). Stromal Cells Are the Main Plasminogen Activator Inhibitor-1-Producing Cells in Human Fat: Evidence of Differences between Visceral and Subcutaneous Deposits. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 22(1), 173-178.
73. Correia, M.L. and W.G. Haynes. (2006). A Role for Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Obesity: From Pie to Pai? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 26(10), 2183-2185.
74. Chun, T.H., M. Inoue, H. Morisaki, I. Yamanaka, Y. Miyamoto, T. Okamura, K. Sato-Kusubata, and S.J. Weiss. (2010). Genetic Link between Obesity and Mmp14-Dependent Adipogenic Collagen Turnover. *Diabetes*, 59(10), 2484-94.
75. Rajashekar, L., D. Krishna, and M. Patil. (2008). Polycystic Ovaries and Infertility: Our Experience. *Journal of human reproductive sciences*, 1(2), 65-72.
76. Legro, R.S. (2012). Obesity and Pcos: Implications for Diagnosis and Treatment. *Seminars in Reproductive Medicine* 30(6), 496-506.
77. Barber, T.M., M.I. McCarthy, J.A.H. Wass, and S. Franks. (2006). Obesity and Polycystic Ovary Syndrome. *Clinical endocrinology*, 65(2), 137-145.
78. Collée, J., M. Mawet, L. Tebache, M. Nisolle, and G. Brichant. (2021). Polycystic Ovarian Syndrome and Infertility: Overview and Insights of the Putative Treatments. *Gynecological Endocrinology*, 37(10), 869-874.
79. Ibáñez, L. and F. de Zegher. (2023). Adolescent Pcos: A Postpubertal Central Obesity Syndrome. *Trends in Molecular Medicine*, 29(5), 354-363.
80. Neven, A.C.H., M. Forslund, S. Ranashinha, A. Mousa, C.T. Tay, A. Peña, S. Oberfield, S. Witchel, H. Teede, and J.A. Boyle. (2024). Prevalence and Accurate Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents across World Regions: A Systematic Review and Meta-Analysis. *European Journal of Endocrinology*, 191(4), S15-S27.
81. Jakubowska-Kowal, K., K. Skrzynska, and A. Gawlik-Starzyk. (2024). Prevalence and Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome (Pcos) in Adolescents — What's New in 2023? Systematic Review. *Ginekologia Polska*, 95(8), 643-649.

82. Trent, M.E., M. Rich, S.B. Austin, and C.M. Gordon. (2002). Quality of Life in Adolescent Girls with Polycystic Ovary Syndrome. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 156(6), 556-560.
83. Lanzo, E., M. Monge, and M. Trent. (2015). Diagnosis and Management of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescent Girls. *Pediatric annals*, 44(9), e223-e230.
84. Ibáñez, L. and F. de Zegher. (2020). Polycystic Ovary Syndrome in Adolescent Girls. *Pediatric Obesity*, 15(2), e12586.
85. Palmert, M.R., C.M. Gordon, A.I. Kartashov, R.S. Legro, S.J. Emans, and A. Dunaif. (2002). Screening for Abnormal Glucose Tolerance in Adolescents with Polycystic Ovary Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(3), 1017-1023.
86. Rosenfield, R.L. (2021). Normal and Premature Adrenarche. *Endocrine Reviews*, 42(6), 783-814.
87. Adone, A. and D.G. Fulmali. (2023). Polycystic Ovarian Syndrome in Adolescents. *Cureus*, 15(1), e34183.
88. Zehravi, M., M. Maqbool, and I. Ara. (2022). Polycystic Ovary Syndrome and Infertility: An Update. *International journal of adolescent medicine and health*, 34(2), 1-9.
89. Thomas-Eapen, N. (2021). Childhood Obesity. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 48(3), 505-515.
90. Bibiloni, M.d.M., A. Pons, and J.A. Tur. (2013). Prevalence of Overweight and Obesity in Adolescents: A Systematic Review. *International Scholarly Research Notices*, 2013(1), 392747.
91. Leung, A.K.C., A.H.C. Wong, and K.L. Hon. (2024). Childhood Obesity: An Updated Review. *Current Pediatric Reviews*, 20(1), 2-26.
92. Khoswanto, C. (2023). Role of Matrix Metalloproteinases in Bone Regeneration: Narrative Review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 13(5), 539-543.
93. Oh, J., C.-S. Kim, M. Kim, W. Jo, Y.H. Sung, and J. Park. (2021). Type Vi Collagen and Its Cleavage Product, Endotrophin, Cooperatively Regulate the Adipogenic and Lipolytic Capacity of Adipocytes. *Metabolism*, 114, 154430.
94. Gifford, V. and Y. Itoh. (2019). Mt1-Mmp-Dependent Cell Migration: Proteolytic and Non-Proteolytic Mechanisms. *Biochemical Society Transactions*, 47(3), 811-826.
95. Turunen, S.P., O. Tatti-Bugaeva, and K. Lehti. (2017). Membrane-Type Matrix Metalloproteases as Diverse Effectors of Cancer Progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1864(11, Part A), 1974-1988.
96. Park, J. and P.E. Scherer. (2013). Endotrophin in the Tumor Stroma: A New Therapeutic Target for Breast Cancer? *Expert review of anticancer therapy*, 13(2), 111-113.

97. Martins Cavaco, A.C., S. Dâmaso, S. Casimiro, and L. Costa. (2020). Collagen Biology Making Inroads into Prognosis and Treatment of Cancer Progression and Metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews*, 39(3), 603-623.
98. Brodsky, B. and A.V. Persikov. (2005). Molecular Structure of the Collagen Triple Helix. *Advances in protein chemistry*, 70, 301-339.
99. Lamandé, S.R. and J.F. Bateman. (2018). Collagen Vi Disorders: Insights on Form and Function in the Extracellular Matrix and Beyond. *Matrix Biology*, 71-72, 348-367.
100. Daquinag, A.C., Z. Gao, C. Fussell, K. Sun, and M.G. Kolonin. (2020). Glycosaminoglycan Modification of Decorin Depends on Mmp14 Activity and Regulates Collagen Assembly. *Cells*, 9(12), 2646.
101. Zhang, J., J. Liu, H. Zhang, J. Wang, H. Hua, and Y. Jiang. (2022). The Role of Network-Forming Collagens in Cancer Progression. *International Journal of Cancer*, 151(6), 833-842.
102. Xie, X., X. Liu, Q. Zhang, and J. Yu. (2014). Overexpression of Collagen Vi A3 in Gastric Cancer. *Oncology letters*, 7(5), 1537-1543.
103. Wang, J. and W. Pan. (2020). The Biological Role of the Collagen Alpha-3 (Vi) Chain and Its Cleaved C5 Domain Fragment Endotrophin in Cancer. *Onco Targets and Therapy*, 13, 5779-5793.
104. Sherman-Baust, C.A., A.T. Weeraratna, L.B. Rangel, E.S. Pizer, K.R. Cho, D.R. Schwartz, T. Shock, and P.J. Morin. (2003). Remodeling of the Extracellular Matrix through Overexpression of Collagen Vi Contributes to Cisplatin Resistance in Ovarian Cancer Cells. *Cancer cell*, 3(4), 377-386.
105. Lee, C., M. Kim, J.H. Lee, J. Oh, H.-H. Shin, S.M. Lee, P.E. Scherer, H.M. Kwon, J.H. Choi, and J. Park. (2019). Col6a3-Derived Endotrophin Links Reciprocal Interactions among Hepatic Cells in the Pathology of Chronic Liver Disease. *The Journal of Pathology*, 247(1), 99-109.
106. Sachan, A., S. Aggarwal, M.M. Pol, A. Singh, and R. Yadav. (2023). Expression Analysis of Mmp14: Key Enzyme Action in Modulating Visceral Adipose Tissue Plasticity in Patients with Obesity. *Clinical Obesity*, 13(5), e12607.
107. Williams, L., T. Layton, N. Yang, M. Feldmann, and J. Nanchahal. (2022). Collagen Vi as a Driver and Disease Biomarker in Human Fibrosis. *The FEBS Journal*, 289(13), 3603-3629.
108. Chen, P., M. Cescon, and P. Bonaldo. (2013). Collagen Vi in Cancer and Its Biological Mechanisms. *Trends in Molecular Medicine*, 19(7), 410-417.
109. Lee, Y.S. (2022). The Mechanism for Adipose Endotrophin Production. *Diabetes*, 71(8), 1617.
110. Bu, D., C. Crewe, C.M. Kusminski, R. Gordillo, A.L. Ghaben, M. Kim, J. Park, H. Deng, W. Xiong, X.Z. Liu, P.E. Lønning, N. Halberg, A. Rios, Y. Chang, A. Gonzalez, N. Zhang, Z. An, and P.E. Scherer. (2019). Human Endotrophin as a Driver of Malignant Tumor Growth. *JCI Insight*, 5(9).
111. Zhao, Y., X. Gu, N. Zhang, M.G. Kolonin, Z. An, and K. Sun. (2016). Divergent Functions of Endotrophin on Different Cell Populations in Adipose Tissue. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 311(6), E952-E963.

112. Abdullah, M.R. and H.M. Alabassi. (2024). The Potential Influence of Immune Modulatory Molecules (Tgf-Biii and Ctla-4) in Pathogenicity of Pcos. *Karbala International Journal of Modern Science*, 10(3), 2.
113. Nissen, N.I., M. Karsdal, and N. Willumsen. (2019). Collagens and Cancer Associated Fibroblasts in the Reactive Stroma and Its Relation to Cancer Biology. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 38(1), 115.
114. Sun, K., J. Park, O.T. Gupta, W.L. Holland, P. Auerbach, N. Zhang, R. Goncalves Marangoni, S.M. Nicoloso, M.P. Czech, J. Varga, T. Ploug, Z. An, and P.E. Scherer. (2014). Endotrophin Triggers Adipose Tissue Fibrosis and Metabolic Dysfunction. *Nature Communications*, 5, 3485.
115. Sun, K., X. Li, and P.E. Scherer. (2023). Extracellular Matrix (Ecm) and Fibrosis in Adipose Tissue: Overview and Perspectives. *Comprehensive Physiology*, 13(1), 4387-4407.
116. Ulasov, I., R. Yi, D. Guo, P. Sarvaiya, and C. Cobbs. (2014). The Emerging Role of Mmp14 in Brain Tumorigenesis and Future Therapeutics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1846(1), 113-120.
117. Qi, Y., J. Wang, M. Sun, C. Ma, T. Jin, Y. Liu, Y. Cao, and J. Wang. (2019). Mmp-14 Single-Nucleotide Polymorphisms Are Related to Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head in the Population of Northern China. *Molecular genetics & genomic medicine*, 7(2), e00519.
118. Christopoulou, M.-E., E. Papakonstantinou, and D. Stolz. (2023). Matrix Metalloproteinases in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *International journal of molecular sciences*, 24(4), 3786.
119. Chang, J.-H., Y.-H. Huang, C.M. Cunningham, K.-Y. Han, M. Chang, M. Seiki, Z. Zhou, and D.T. Azar. (2016). Matrix Metalloproteinase 14 Modulates Signal Transduction and Angiogenesis in the Cornea. *Survey of ophthalmology*, 61(4), 478-497.
120. Zhang, C., G. Jiang, and X. Gao. (2023). Matrix Metalloproteinase-Responsive Drug Delivery Systems. *Bioconjugate Chemistry*, 34(8), 1349-1365.
121. Dilly, M., N. Hambruch, S. Shenavai, G. Schuler, R. Froehlich, J.-D. Haeger, G. Ozalp, and C. Pfarrer. (2011). Expression of Matrix Metalloproteinase (Mmp)-2, Mmp-14 and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase (Timp)-2 during Bovine Placentation and at Term with or without Placental Retention. *Theriogenology*, 75(6), 1104-1114.
122. Guo, F., Y. Du, Y. Wang, M. Wang, L. Wang, N. Yu, S. Luo, F. Wu, and G. Yang. (2024). Targeted Drug Delivery Systems for Matrix Metalloproteinase-Responsive Anoparticles in Tumor Cells: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257, 128658.
123. Azevedo Martins, J.M., S.H. Rabelo-Santos, M.C. do Amaral Westin, and L.C. Zeferino. (2020). Tumoral and Stromal Expression of Mmp-2, Mmp-9, Mmp-14, Timp-1, Timp-2, and Vegf-a in Cervical Cancer Patient Survival: A Competing Risk Analysis. *Bmc Cancer*, 20, 1-11.
124. Trudel, D., P. Desmeules, S. Turcotte, M. Plante, J. Grégoire, M.-C. Renaud, M. Orain, I. Bairati, and B. Têtu. (2014). Visual and Automated Assessment of Matrix

- Metalloproteinase-14 Tissue Expression for the Evaluation of Ovarian Cancer Prognosis. *Modern Pathology*, 27(10), 1394-1404.
125. Miekus, N., C. Luise, W. Sippl, T. Baczek, C.E.H. Schmelzer, and A. Heinz. (2019). Mmp-14 Degrades Tropoelastin and Elastin. *Biochimie*, 165, 32-39.
 126. Knapinska, A.M. and G.B. Fields. (2019). The Expanding Role of Mt1-Mmp in Cancer Progression. *Pharmaceuticals*, 12(2), 77.
 127. Najafi, M., B. Farhood, and K. Mortezaee. (2019). Extracellular Matrix (Ecm) Stiffness and Degradation as Cancer Drivers. *Journal of cellular biochemistry*, 120(3), 2782-2790.
 128. Luo, W., Q. Quan, Z. Xu, J. Lei, and R. Peng. (2024). Bioinformatics Analysis of Mmp14+ Myeloid Cells Affecting Endothelial-Mesenchymal Transformation and Immune Microenvironment in Glioma. *Heliyon*, 10(5).
 129. Sakata, K., K. Shigemasa, N. Nagai, and K. Ohama. (2000). Expression of Matrix Metalloproteinases (Mmp-2, Mmp-9, Mt1-Mmp) and Their Inhibitors (Timp-1, Timp-2) in Common Epithelial Tumors of the Ovary. *International journal of oncology*, 17(4), 673-754.
 130. Snyman, C. and C.U. Niesler. (2015). Mmp-14 in Skeletal Muscle Repair. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 36(3), 215-225.
 131. Stawowczyk, M., M.D. Wellenstein, S.B. Lee, S. Yomtoubian, A. Durrans, H. Choi, N. Narula, N.K. Altorki, D. Gao, and V. Mittal. (2017). Matrix Metalloproteinase 14 Promotes Lung Cancer by Cleavage of Heparin-Binding Egf-Like Growth Factor. *Neoplasia*, 19(2), 55-64.
 132. Sun, W., Y. Zhang, B. Liu, Y. Duan, W. Li, and J. Chen. (2021). Gene Polymorphism of Muc15, Mmp14, Braf, and Colla1 Is Associated with Capsule Formation in Hepatocellular Carcinoma. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2021(1), 9990305.
 133. Arafat, H., M. Lazar, K. Salem, G. Chipitsyna, Q. Gong, T.-C. Pan, R.-Z. Zhang, C.J. Yeo, and M.-L. Chu. (2011). Tumor-Specific Expression and Alternative Splicing of the Col6a3 Gene in Pancreatic Cancer. *Surgery*, 150(2), 306-315.
 134. Huang, Y., G. Li, K. Wang, Z. Mu, Q. Xie, H. Qu, H. Lv, and B. Hu. (2018). Collagen Type Vi Alpha 3 Chain Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition in Bladder Cancer Cells Via Transforming Growth Factor B (Tgf-B)/Smad Pathway. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 24, 5346.
 135. Bu, D., C. Crewe, C.M. Kusminski, R. Gordillo, A.L. Ghaben, M. Kim, J. Park, H. Deng, W. Xiong, and X.-Z. Liu. (2019). Human Endotrophin as a Driver of Malignant Tumor Growth. *JCI Insight*, 4(9).
 136. Nanda, A., E. Carson-Walter, S. Seaman, T. Barber, J. Stampfl, S. Singh, B. Vogelstein, K. Kinzler, and B. St Croix, Tem8 Interacts with the Cleaved C5 Domain of Collagen Alpha 3 (Vi) Cancer Research. 2004; 64: 817–820. Doi: 10.1158/0008-5472.2004.CAN-03-2408.[Abstract][CrossRef][Google Scholar].
 137. Qiao, J., C. Fang, S. Chen, X. Wang, S. Cui, X. Liu, Y. Jiang, J. Wang, Y. Zhang, and P. Yang, Stroma Derived Col6a3 Is a Potential Prognosis Marker of Colorectal

- Carcinoma Revealed by Quantitative Proteomics. *Oncotarget*. 2015; 6: 29929–29946. 2015.
138. Chen, T.-Y., Y.-C. Li, Y.-F. Liu, C.-M. Tsai, Y.-H. Hsieh, C.-W. Lin, S.-F. Yang, and C.-J. Weng. (2011). Role of Mmp14 Gene Polymorphisms in Susceptibility and Pathological Development to Hepatocellular Carcinoma. *Annals of surgical oncology*, 18, 2348-2356.
 139. Vos, M.C., A.A. van der Wurff, T.H. van Kuppevelt, and L.F. Massuger. (2021). The Role of Mmp-14 in Ovarian Cancer: A Systematic Review. *Journal of Ovarian Research*, 14, 1-13.
 140. O'Mara, T.A., J.A. Clements, and A.B. Spurdle. (2009). The Use of Predictive or Prognostic Genetic Biomarkers in Endometrial and Other Hormone-Related Cancers: Justification for Extensive Candidate Gene Single Nucleotide Polymorphism Studies of the Matrix Metalloproteinase Family and Their Inhibitors. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 18(9), 2352-2365.
 141. Vos, M.C., A. van Tilborg, W.J. Brands, D. Boll, D. van Hamont, H. van der Putten, B. Pijlman, A.A. van der Wurff, T.H. van Kuppevelt, and L.F. Massuger. (2019). Polymorphisms in Mmp-14 and Mmp-2 Genes and Ovarian Cancer Survival. *Cancer Biomarkers*, 25(3), 233-241.
 142. Rashad, H.M., S.A. Mohamed, and E.M. Said. (2022). Evaluation of Immunohistochemical Expression of Matrix Metallo-Proteinase14 (Mmp14) in Endometrial Carcinoma Type I: Relation with B1-Integrin & Yes-Associated Protein 1 (Yap1). *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 89(2), 6908-6914.
 143. Weng, C.-J., M.-K. Chen, C.-W. Lin, T.-T. Chung, and S.-F. Yang. (2012). Single Nucleotide Polymorphisms and Haplotypes of Mmp-14 Are Associated with the Risk and Pathological Development of Oral Cancer. *Annals of surgical oncology*, 19, 319-327.
 144. Marth, G.T., I. Korf, M.D. Yandell, R.T. Yeh, Z. Gu, H. Zakeri, N.O. Stitzel, L. Hillier, P.-Y. Kwok, and W.R. Gish. (1999). A General Approach to Single-Nucleotide Polymorphism Discovery. *Nature genetics*, 23(4), 452-456.
 145. Ye, S., S. Dhillon, X. Ke, A.R. Collins, and I.N. Day. (2001). An Efficient Procedure for Genotyping Single Nucleotide Polymorphisms. *Nucleic Acids Research*, 29(17), e88-e88.
 146. Ahlawat, S., R. Sharma, A. Maitra, M. Roy, and M. Tandia. (2014). Designing, Optimization and Validation of Tetra-Primer Arms Pcr Protocol for Genotyping Mutations in Caprine Fec Genes. *Meta gene*, 2, 439-449.
 147. Li, C., X.-P. Jin, M. Zhu, Q.-L. Chen, F. Wang, X.-F. Hu, W.-F. Wang, W.-L. Li, F. Zhu, and Z. Zheng. (2014). Positive Association of Mmp 14 Gene Polymorphism with Vulnerable Carotid Plaque Formation in a Han Chinese Population. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 74(3), 248-253.
 148. Dumesic, D.A., S.E. Oberfield, E. Stener-Victorin, J.C. Marshall, J.S. Laven, and R.S. Legro. (2015). Scientific Statement on the Diagnostic Criteria, Epidemiology, Pathophysiology, and Molecular Genetics of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine reviews*, 36(5), 487-525.
 149. Teede, H.J., M.L. Misso, M.F. Costello, A. Dokras, J. Laven, L. Moran, T. Piltonen, and R.J. Norman. (2018). Recommendations from the International Evidence-Based

- Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *Human reproduction*, 33(9), 1602-1618.
150. Ibáñez, L., S.E. Oberfield, S. Witchel, R.J. Auchus, R.J. Chang, E. Codner, P. Dabadghao, F. Darendeliler, N.S. Elbarbary, and A. Gambineri. (2017). An International Consortium Update: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Polycystic Ovarian Syndrome in Adolescence. *Hormone research in paediatrics*, 88(6), 371-395.
 151. Witchel, S.F., S. Oberfield, R.L. Rosenfield, E. Codner, A. Bonny, L. Ibáñez, A. Pena, R. Horikawa, V. Gomez-Lobo, and D. Joel. (2015). The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome during Adolescence. *Hormone research in paediatrics*, 83(6), 376-389.
 152. Akgün H. S., Pekcan A. G., Aksoydan E., Kızıltan G., Karaağaoğlu E., Karahan S., Oğul H., Yardım N., Kocadağ S., Çelikay N., Aykul F., Kelat Z. (2019). *Türkiye Beslenme Ve Sağlık Araştırması*. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-ve-hareketli-hayat-db/Dokumanlar/Kitaplar/Turkiye_Beslenme_ve_Saglik_Arastirmasi_TBSA_2017.pdf adresinden 1 Aralık 2024'de alınmıştır.
 153. İnandı, T., (2018). *Çocuk Ve Ergenlerde Obezite*. Obezitenin Epidemiyolojisi., ed. Akıncı A. Uçkun Kitapçı Ankara: Buluş 13-20.
 154. Bundak, R., A. Furman, H. Gunoz, F. Darendeliler, F. Bas, and O. Neyzi. (2006). Body Mass Index References for Turkish Children. *Acta Paediatrica*, 95(2), 194-198.
 155. Styne, D.M. (2001). Childhood and Adolescent Obesity: Prevalence and Significance. *Pediatric Clinics of North America*, 48(4), 823-854.
 156. Neyzi, O., R. Bundak, G. Gökçay, H. Günöz, A. Furman, F. Darendeliler, and F. Baş. (2015). Reference Values for Weight, Height, Head Circumference, and Body Mass Index in Turkish Children. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*, 7(4), 280.
 157. Kelly, A., S. Barlow, G. Rao, T. Inge, L. Hayman, J. Steinberger, E. Urbina, L. Ewing, and S. Daniels. (2013). American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism, and Council on Clinical Cardiology. Severe Obesity in Children and Adolescents: Identification, Associated Health Risks, and Treatment Approaches: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation*, 128(15), 1689-1712.
 158. Skinner, A.C., S.N. Ravanbakht, J.A. Skelton, E.M. Perrin, and S.C. Armstrong. (2018). Prevalence of Obesity and Severe Obesity in Us Children, 1999–2016. *Pediatrics*, 141(3).
 159. Flegal, K.M., R. Wei, C.L. Ogden, D.S. Freedman, C.L. Johnson, and L.R. Curtin. (2009). Characterizing Extreme Values of Body Mass Index–for–Age by Using the 2000 Centers for Disease Control and Prevention Growth Charts. *The American journal of clinical nutrition*, 90(5), 1314-1320.

160. Gulati, A.K., D.W. Kaplan, and S.R. Daniels. (2012). Clinical Tracking of Severely Obese Children: A New Growth Chart. *Pediatrics*, 130(6), 1136-1140.
161. Ye, S., S. Humphries, and F. Green. (1992). Allele Specific Amplification by Tetra-Primer Pcr. *Nucleic Acids Research*, 20(5), 1152.
162. Alyethodi, R.R., U. Singh, S. Kumar, R. Alex, R. Deb, G.S. Sengar, T. Raja, and B. Prakash. (2018). T-Arms Pcr Genotyping of Snp Rs445709131 Using Thermostable Strand Displacement Polymerase. *BMC research notes*, 11, 1-5.
163. Shirazi, F.K.H., Z. Khodamoradi, and M. Jeddi. (2021). Insulin Resistance and High Molecular Weight Adiponectin in Obese and Non-Obese Patients with Polycystic Ovarian Syndrome (Pcos). *BMC endocrine disorders*, 21, 1-7.
164. Szafarowska, M., M. Rosiński, A. Segiet-Święcicka, S. Jędrzejczyk, M. Jerzak, and M. Jerzak. (2024). Effect of Physiotherapy on Infertility Treatment in Polycystic Ovary Syndrome Patients. *Menopause Review/Przegląd Menopauzalny*, 23(1).
165. Shah, M., A. Ali, M.O. Malik, F. Rehman, H. Badshah, E. Ehtesham, and S.G. Vitale. (2019). Treatment with Metformin and Combination of Metformin Plus Pioglitazone on Serum Levels of Il-6 and Il-8 in Polycystic Ovary Syndrome: A Randomized Clinical Trial. *Hormone and Metabolic Research*, 51(11), 714-722.
166. McCartney, C.R. and J.C. Marshall. (2016). Polycystic Ovary Syndrome. *New England Journal of Medicine*, 375(1), 54-64.
167. Zuchelo, L.T., M.S. Alves, E.C. Baracat, I.C. Sorpreso, and J.M. Soares Jr. (2024). Menstrual Pattern in Polycystic Ovary Syndrome and Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis Immaturity in Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gynecological Endocrinology*, 40(1), 2360077.
168. Drosdzol-Cop, A., A. Sidło-Stawowy, D. Sajdak, and V. Skrzypulec-Plinta. (2014). Diagnosing Polycystic Ovary Syndrome in Adolescent Girls. *Ginekologia Polska*, 85(2).
169. Carreau, A.-M. and J.-P. Baillargeon. (2015). Pcos in Adolescence and Type 2 Diabetes. *Current diabetes reports*, 15, 1-9.
170. Pasarica, M., B. Gowronska-Kozak, D. Burk, I. Remedios, D. Hymel, J. Gimble, E. Ravussin, G.A. Bray, and S.R. Smith. (2009). Adipose Tissue Collagen Vi in Obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(12), 5155-5162.
171. Pant, A., T.C. Dakal, K. Moar, B. Dhabhai, T.K. Arora, N.K. Sharma, V. Ranga, and P.K. Maurya. (2023). Assessment of Mmp14, Cav2, Clu and Sparcl1 Expression Profiles in Endometriosis. *Pathology-Research and Practice*, 251, 154892.
172. Honnma, H., T. Endo, H. Henmi, K. Nagasawa, T. Baba, K. Yamazaki, Y. Kitajima, T. Hayashi, K. Manase, and T. Saito. (2006). Altered Expression of Fas/Fas Ligand/Caspase 8 and Membrane Type 1-Matrix Metalloproteinase in Atretic Follicles within Dehydroepiandrosterone-Induced Polycystic Ovaries in Rats. *Apoptosis*, 11(9), 1525-1533.
173. Lin, D., T.-H. Chun, and L. Kang. (2016). Adipose Extracellular Matrix Remodelling in Obesity and Insulin Resistance. *Biochemical pharmacology*, 119, 8-16.
174. Butler, A.E., M. Nandakumar, T. Sathyapalan, E. Brennan, and S.L. Atkin. (2025). Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, and Their Ratios

- in Women with Polycystic Ovary Syndrome and Healthy Controls. *International journal of molecular sciences*, 26(1), 321.
175. Scherer, P.E. and O.T. Gupta. (2021). Endotrophin: Nominated for Best Supporting Actor in the Fibro-Inflammatory Saga. *eBioMedicine*, 69.
 176. Tougaard, N.H., A.L. Møller, P.F. Rønn, T.W. Hansen, F. Genovese, M.A. Karsdal, D.G.K. Rasmussen, and P. Rossing. (2022). Endotrophin as a Marker of Complications in a Type 2 Diabetes Cohort. *Diabetes Care*, 45(11), 2746-2748.
 177. Genovese, F., C. Bager, P. Frederiksen, D. Vazquez, J.M.B. Sand, R.G. Jenkins, T.M. Maher, I.D. Stewart, P.L. Molyneaux, and W.A. Fahy. (2024). The Fibroblast Hormone Endotrophin Is a Biomarker of Mortality in Chronic Diseases. *Matrix Biology*. 132, 1-9
 178. Yoldemir, S.A., Y. Arman, M. Akarsu, O. Altun, M. Ozcan, and T. Tukek. (2021). Correlation of Glycemic Regulation and Endotrophin in Patients with Type 2 Diabetes; Pilot Study. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13(1), 9.
 179. Holm Nielsen, S., A. Edsfeldt, C. Tengryd, H. Gustafsson, A.C. Shore, A. Natali, F. Khan, F. Genovese, E. Bengtsson, M. Karsdal, D.J. Leeming, J. Nilsson, and I. Goncalves. (2021). The Novel Collagen Matrikine, Endotrophin, Is Associated with Mortality and Cardiovascular Events in Patients with Atherosclerosis. *Journal of Internal Medicine*, 290(1), 179-189.
 180. Staunstrup, L.M., C.L. Bager, P. Frederiksen, J.W. Helge, S. Brunak, C. Christiansen, and M. Karsdal. (2021). Endotrophin Is Associated with Chronic Multimorbidity and All-Cause Mortality in a Cohort of Elderly Women. *eBioMedicine*, 68.
 181. Karsdal, M.A., K. Henriksen, F. Genovese, D.J. Leeming, M.J. Nielsen, B.J. Riis, C. Christiansen, I. Byrjalsen, and D. Schuppan. (2017). Serum Endotrophin Identifies Optimal Responders to Ppar γ Agonists in Type 2 Diabetes. *Diabetologia*, 60(1), 50-59.
 182. Aydin Yoldemir, Ş., Y. Arman, M. Akarsu, Ö. Altun, O. Dikker, I.D. Toprak, M. Özcan, S. Kalyon, Y. Kutlu, S. Irmak, Z. Toprak, and T. Tükek. (2020). The Relationship between Insulin Resistance, Obesity, and Endotrophin. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 40(2), 191-195.
 183. Holte, J., T. Bergh, C. Berne, and H. Lithell. (1994). Serum Lipoprotein Lipid Profile in Women with the Polycystic Ovary Syndrome: Relation to Anthropometric, Endocrine and Metabolic Variables. *Clinical endocrinology*, 41(4), 463-471.
 184. Khashchenko, E., M. Vysokikh, E. Uvarova, L. Krechetova, V. Vtorushina, T. Ivanets, M. Volodina, N. Tarasova, I. Sukhanova, and G. Sukhikh. (2020). Activation of Systemic Inflammation and Oxidative Stress in Adolescent Girls with Polycystic Ovary Syndrome in Combination with Metabolic Disorders and Excessive Body Weight. *Journal of Clinical Medicine*, 9(5), 1399.
 185. González, F., C.L. Sia, F.Z. Stanczyk, H.E. Blair, and M.E. Krupa. (2012). Hyperandrogenism Exerts an Anti-Inflammatory Effect in Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine*, 42, 726-735.
 186. Chen, F., Y. Liao, M. Chen, H. Yin, G. Chen, Q. Huang, L. Chen, X. Yang, W. Zhang, P. Wang, and G. Yin. (2021). Evaluation of the Efficacy of Sex Hormone—

- Binding Globulin in Insulin Resistance Assessment Based on Homa-Ir in Patients with Pcos. *Reproductive Sciences*, 28(9), 2504-2513.
187. Oh, J., C. Park, S. Kim, M. Kim, C.-S. Kim, W. Jo, S. Park, G.-S. Yi, and J. Park. (2023). High Levels of Intracellular Endotrophin in Adipocytes Mediate Copii Vesicle Supplies to Autophagosome to Impair Autophagic Flux and Contribute to Systemic Insulin Resistance in Obesity. *Metabolism*, 145, 155629.
 188. Layegh, P., Z. Mousavi, D.F. Tehrani, S.M.R. Parizadeh, and M. Khajedaluae. (2016). Insulin Resistance and Endocrine-Metabolic Abnormalities in Polycystic Ovarian Syndrome: Comparison between Obese and Non-Obese Pcos Patients. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 14(4), 263.
 189. Wiweko, B., I. Indra, C. Susanto, M. Natadisastra, and A. Hestiantoro. (2018). The Correlation between Serum Amh and Homa-Ir among Pcos Phenotypes. *BMC research notes*, 11(1), 114.
 190. Xu, X.-L., S.-L. Deng, Z.-X. Lian, and K. Yu. (2021). Estrogen Receptors in Polycystic Ovary Syndrome. *Cells*, 10(2), 459.
 191. Eskandari, Z., R.A. Sadrkhanlou, V. Nejati, and G. Tizro. (2016). Pcos Women Show Significantly Higher Homocysteine Level, Independent to Glucose and E2 Level. *International Journal of Reproductive BioMedicine* 14(8), 495-500.
 192. Flannery, A.H., D. Bu, M. Botkins, F. Gianella, N. Zhang, Z. An, O.W. Moe, P.E. Scherer, and J.A. Neyra. (2024). Endotrophin as a Biomarker for Severe Acute Kidney Injury and Major Adverse Kidney Events. *Kidney360*, 5(8), 1087-1093.
 193. Abraham Gnanadass, S., Y. Divakar Prabhu, and A. Valsala Gopalakrishnan. (2021). Association of Metabolic and Inflammatory Markers with Polycystic Ovarian Syndrome (Pcos): An Update. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 303(3), 631-643.
 194. Artimani, T., J. Karimi, M. Mehdizadeh, M. Yavangi, E. Khanlarzadeh, M. Ghorbani, S. Asadi, and N. Kheiripour. (2018). Evaluation of Pro-Oxidant-Antioxidant Balance (Pab) and Its Association with Inflammatory Cytokines in Polycystic Ovary Syndrome (Pcos). *Gynecological Endocrinology*, 34(2), 148-152.
 195. Vasyukova, E., E. Zaikova, O. Kalinina, I. Gorelova, I. Pyanova, E. Bogatyreva, E. Vasilieva, E. Grineva, and P. Popova. (2023). Inflammatory and Anti-Inflammatory Parameters in Pcos Patients Depending on Body Mass Index: A Case-Control Study. *Biomedicines*, 11(10), 2791.
 196. Gao, L., Y. Gu, and X. Yin. (2016). High Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Meta-Analysis. *PloS one*, 11(10), e0164021.
 197. Escobar-Morreale, H.F., M. Luque-Ramírez, and F. González. (2011). Circulating Inflammatory Markers in Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Metaanalysis. *Fertility and Sterility*, 95(3), 1048-1058.e2.
 198. Guo, R., Y. Zheng, J. Yang, and N. Zheng. (2015). Association of Tnf-Alpha, Il-6 and Il-1beta Gene Polymorphisms with Polycystic Ovary Syndrome: A Meta-Analysis. *BMC Genetics*, 16(1), 5.
 199. Lai, Y., Z. Ye, L. Mu, Y. Zhang, X. Long, C. Zhang, R. Li, Y. Zhao, and J. Qiao. (2022). Elevated Levels of Follicular Fatty Acids Induce Ovarian Inflammation Via

- Erk1/2 and Inflammasome Activation in Pcos. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 107(8), 2307-2317.
200. Iyengar, P., V. Espina, T.W. Williams, Y. Lin, D. Berry, L.A. Jelicks, H. Lee, K. Temple, R. Graves, and J. Pollard. (2005). Adipocyte-Derived Collagen Vi Affects Early Mammary Tumor Progression in Vivo, Demonstrating a Critical Interaction in the Tumor/Stroma Microenvironment. *The Journal of clinical investigation*, 115(5), 1163-1176.
 201. Soni, S., M. Torvund, and C.C. Mandal. (2021). Molecular Insights into the Interplay between Adiposity, Breast Cancer and Bone Metastasis. *Clinical & Experimental Metastasis*, 38, 119-138.
 202. Gariani, K., J. Hugon-Rodin, J. Philippe, M. Righini, and M. Blondon. (2020). Association between Polycystic Ovary Syndrome and Venous Thromboembolism: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Thrombosis Research*, 185, 102-108.
 203. Yamada-Nomoto, K., O. Yoshino, I. Akiyama, A. Iwase, Y. Ono, T. Nakamura, M. Harada, A. Nakashima, T. Shima, and A. Ushijima. (2017). Pai-1 in Granulosa Cells Is Suppressed Directly by Statin and Indirectly by Suppressing Tgf-B and Tnf-A in Mononuclear Cells by Insulin-Sensitizing Drugs. *American Journal of Reproductive Immunology*, 78(1), e12669.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

Sayı 020

Tarih: 26.09.2022

Konu: Toplantı Kararları

Sayın Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN
Proje Yürütücüsü

Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 12.09.2022 tarihinde yapmış olduğu toplantı kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim

Prof. Dr. Ebru ARHAN
GÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Başkanı

EK-1. (devam) Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU									
ETİK KURUL İLETİŞİM BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi (GÜ) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu							
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık (GÜTF) Binası 06500 Beşevler/Ankara							
	TELEFON								
	FAKS								
	E-POSTA								
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Ergenlik Polikistik Over Sendromunda Serum Endotrofin Seviyelerinin Biyobelirteç Potansiyelinin Araştırılması							
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN							
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Eczacılık Fakültesi / GÜ							
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)								
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Doç. Dr. Ayşe Derya Buluş, Çağla Gürsoy, Prof.Dr.Bensu Karahalil							
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene, tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar -Tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalde yapılacak araştırmalar.(gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan)-Doktora tezi							
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐				
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili					
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	29.08.2022	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐					
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	29.08.2022	2	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐					
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı				Açıklama				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ				☒				
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU				☐				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:	685							
	Toplantı tarihi:	12.09.2022							
	Ergenlik Polikistik Over Sendromunda Serum Endotrofin Seviyelerinin Biyobelirteç Potansiyelinin Araştırılması başlıklı başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına GÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.								
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI		Prof. Dr Ebru ARHAN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırmayla ilişkisi	Katılım				
Prof. Dr. Ebru ARHAN	Çocuk Sağ. ve Hast.AD.Nöroloji BD	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒	H ☐	İmza		
BAŞKAN									

EK 2. Anket Formu

Gönüllü Kodu:

1) Yaş (gün/ay/yıl)

2) () PKOS ve Obezite birlikte

() PKOS olan Obezite olmayan

() Yalnız Obezite

() PKOS ve Obezite olmayan (Sağlıklı Çocuk)

3) Anne ve babanın boy ve kiloları: Anne: Baba:

4) Ailede şişman (şişmanlık vücutta aşırı derece yağ birikimi(ağırlık artışı) olarak tanımlanır) birey var mı ?

Evet () Hayır () Varsa yakınlık derecesi nedir?

5)Ailede PKOS olan var mı?

Evet () Hayır () Varsa yakınlık derecesi nedir?.....

6) Ailede kronik hastalığı olan var mı? (Diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon vb.)

Evet () Hayır () Varsa yakınlık derecesi nedir?.....

7) Beslenme Alışkanlıkları:

<u>Sabah kahvaltısı :</u>	<u>Öğle yemeği:</u>	<u>Akşam yemeği:</u>
☐ Her zaman düzenlidir	☐ Her zaman düzenlidir	☐ Her zaman düzenlidir
☐ Çoğu zaman düzenlidir	☐ Çoğu zaman düzenlidir	☐ Çoğu zaman düzenlidir
☐ Bazen	☐ Bazen	☐ Bazen
☐ Hayır, hiç yapılmaz	☐ Hayır, hiç yapılmaz	☐ Hayır, hiç yapılmaz

EK-2.(devam) Anket Formu

EK 2. ANTROPOMETRİK ÖLÇÜMLER

Vücut Ağırlığı (kg)	
Boy Uzunluğu (cm)	
Bel Çevresi (cm)	
Kalça Çevresi (cm)	
BKİ (kg/m ²)	
Boyun çevresi (cm)	
Bel: Kalça Oranı	
Persentil Değeri/Z skoru	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Soyadı, adı : EMİRAL, Çağla

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri :

Medeni hali :

Telefon (Cep) :

e-posta :

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi/Biyokimya A.B.D. (Ecz.)	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Biyokimya A.B.D. (Ecz.)	2012
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2008
Lise	Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2011-halen	T. Halk Sağlığı Kurumu Yenidoğan Tarama Lab.	Biyolog
2010-2011	BOME Sanayi Ürünleri Dış Ticaret A.Ş.	Biyolog
2009-2010	BOME Sanayi Ürünleri Dış Ticaret A.Ş.	Satış Personeli

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

- Emiral, Ç., Akaydın, S., Buluş, AD, & Yaşartekin, Y., (2024). Polikistik Over Sendromlu Obez ve Normal Kilolu Ergenlerde Serum Adipsin Düzeyleri. *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* , cilt 6, sayı 3, 107-116.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...



Gazili olmak ayıucaluktur

