

T.C

NÖNÜ ÜN VERS TES

SA LIK B L MLER ENST TÜSÜ

POL K ST K OVER SENDROMLU  
OLGULARDA *XRCC1*, *APE1* VE *XPD* DNA  
TAM R GENLER NDEK  
POL MORF ZMLER N ARA TIRILMASI

DOKTORA TEZ

Gonca GÜLBAY

TIBB B YOLOJ VE GENET K ANAB L M DALI

DANI MAN

Prof. Dr. Elif YE LADA

MALATYA-2014

T.C

NÖNÜ ÜN VERS TES

SA LIK B L MLER ENST TÜSÜ

POL K ST K OVER SENDROMLU  
OLGULARDA *XRCC1*, *APE1* VE *XPB* DNA  
TAM R GENLER NDEK  
POL MORF ZMLER N ARA TIRILMASI

Gonca GÜLBAY

Danı man Ö retim Üyesi: Prof. Dr. Elif YE LADA

Bu ara tırma T.C. nönü Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Birimi tarafından  
2010/130 proje numarası ile desteklenmi tir.

MALATYA-2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji ve Genetik Programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı, Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL  
Erciyes Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Elif YEŞİLADA  
İnönü Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Başak KAYHAN  
İnönü Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Saim YOLOĞLU  
İnönü Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Şengül YÜKSEL  
İnönü Üniversitesi

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ...../...../2014 tarih ve 2014/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

## TE EKKÜR

Doktora eitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle oldu u kadar bana her konuda destek veren tez danışmanım, değerli Hocam Prof.Dr. Elif Yeilada'ya,

Tez izleme jürimde bulunan, tezim süresince bana her türlü katkıyı sağlayan değerli hocalarım Prof.Dr. Saim Yolu ve Doç.Dr. Bengül Yüksel'e,

statistik bilgisiyle bana destek veren sayın Yrd.Doç.Dr. Harika Gözükara Ba'ya,

Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D Hocaları ve Asistan Doktorları'na,

Sayın Ertan Günel ve Sayın Rahime Tekin'e,

Tez çalışmamı destek veren Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayattaki en büyük desteğim olan Ailem'e,

Teekkür ve şükranlarımı sunarım...

## ÖZET

Polikistik over sendromu (PKOS) kronik anovulasyon, oligomenore ve hiperandrojenemi ile karakterize bir reproduktif endokrinopatidir. PKOS'un genetik ve çevresel faktörlerin etkilemi ile ortaya çıktığı bildirilmekte ve bu olgularda DNA hasarları ve kromozom kırıkları rapor edilmektedir. Bu durum ise DNA tamirinde rol oynayan genleri akla getirmektedir. Günümüzde çok sayıda DNA tamir geni ve bu genlerin ürünü olan proteinlerin aktivitesini de etkileyen polimorfizmler bilinmektedir. Bu çalışmada PKOS'da rapor edilen genomik kararsızlık ve *XRCCI* Arg194Trp, *XRCCI* Arg399Gln, *APEI* Asp148Glu ve *XPB* Lys751Gln polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmak ve PKOS patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Çalışma gruplarını oluşturan tüm bireylerin EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edilmiştir. Bireylerin genotipleri üç farklı gene ait dört polimorfizm (*XRCCI* Arg194Trp, *XRCCI* Arg399Gln, *APEI* Asp148Glu ve *XPB* Lys751Gln) bakımından gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *XRCCI* Arg194Trp, Arg399Gln ve *XPB* Lys751Gln polimorfizmleri bakımından PKOS ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. *APEI* Asp148Glu polimorfizmi bakımından ise gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Bu durumla ilişki olarak hem mutant allelin (Glu) frekansının (hasta grubunda %37.72 ve kontrol grubunda %19.23) hem de homozigot mutant genotip (Glu/Glu) frekansının (%12.28) hasta grubunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Ek olarak PKOS'un klinik bulguları ile polimorfizm sonuçları birlikte değerlendirildiğinde yalnızca vücut kitle indeksi (VK) bakımından ve yine yalnızca *APEI* Asp148Glu polimorfizmi bakımından genotipler arasında farklılık belirlenmiştir. VK'nin Asp/Asp genotipli hastalarda (22,85) heterozigot (26,24) ve homozigot mutant (25,81) genotipli hastalara göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *XRCCI*, *APEI*, *XPB*, Polikistik Over Sendromu

## **ABSTRACT**

### **A Study of Polymorphisms in XRCC1, APE1 and XPD DNA Repair Genes in Polycystic Ovary Syndrome Patients**

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a reproductive endocrinopathy characterised by chronic anovulation, oligomenorrhea, and hyperandrogenism. PCOS is reported to arise from the interaction of genetic and environmental factors. Further studies report that PCOS patients have DNA damage and chromosome breakage. Such studies bring to mind the genes that are involved in DNA repairing. At present, several DNA repair genes and, as products of these genes, certain polymorphisms that alter the activity of proteins are known in the literature. The aim of this dissertation is to study the genomic instability that have been reported in PCOS cases along with the relationship between XRCC1 Arg194Trp, XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu, and XPD Lys751 polymorphisms in order to contribute to the pathogenesis of PCOS.

The study has started by isolating genomic DNA samples obtained from the blood samples in EDTA tubes from the patients in the study group. Using the real-time polymerase chain reaction, the genotypes of these patients were determined in terms of four polymorphisms of three different genotypes (XRCC1 Arg194Trp, XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu, and XPD Lys751). Comparing the control groups at the end of the study, the results have not shown any statistically significant difference as far as XRCC1 Arg194Trp, XRCC1 Arg399Gln, and XPD Lys751 polymorphisms are concerned. However, there were notable differences between the groups in terms of APE1 Asp148 Glu polymorphism. Associated with this condition, it has been noted that both mutant allele (Glu) frequency (37,72 % in the study group; 19,23% in the control group) and homozygous mutant genotype (Glu/Glu) frequency (with 12.28%) have been higher in the study group.

Evaluating the clinical features of PCOS in conjunction with polymorphism results, it has also been observed that the only remarkable difference between the genotypes was related to body mass index (BMI) and to APE1 Asp148Glu.

Furthermore, it has been found out that BMI tends to be lower in patients with Asp/Asp genotypes (22,85) compared to patients with heterozygous (26,24) and homozygous mutant (25,81) genotypes.

Keywords: *XRCC1*, *APE1*, *XPB*, Polycystic Ovary Syndrome

## Ç NDEK LER

ONAY SAYFASI	iii
TE EKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
Ç NDEK LER	vii
S MGELER VE KISALTMALAR D Z N	viii
EK LLER D Z N	ix
TABLolar D Z N	xi
1. G R	1
2. GENEL B LG LER	3
2.1 Polikistik Over Sendromu	3
2.1.1 Tarihçesi	3
2.1.2 Epidemiyolojisi	3
2.1.3 Tanı Kriterleri	3
2.1.4 Belirgin Klinik ve Laboratuar Bulguları	4
2.1.5 PKOS ve Jinekolojik Kanserler	6
2.2 PKOS'un Genetik Temelleri	7
2.2.1 PKOS'ta Aday Genler	8
2.2.2 PKOS ve Genomik Kararsızlık	9
2.2.3 PKOS, Oksidatif Stres ve DNA Hasarı	12
2.2.3.1 Oksidatif Stres Nedir?	12
2.2.3.2 DNA Hasarı	13
2.3 DNA Tamir Mekanizmaları	16
2.3.1 Baz Kesip Çıkarma Tamiri (BER)	16
2.3.2 Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri (NER)	18
2.4 DNA Tamir Genleri	23
2.4.1 XRCC1 (X-Ray Cross Complementing Group 1) Geni ve Polimorfizmleri	23
2.4.2 APE1 (APE Endonükleaz) Geni ve Polimorfizmleri	26
2.4.3 XPD (Xeroderma Pigmentosum GroupD) Geni ve Polimorfizmleri	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1 Örneklerin Seçimi	30
3.2 Alet ve Cihazlar	31
3.3 Sarf Malzemeler	31
3.4 Yöntemler	31

3.4.1 Biyokimyasal ncelemeler	31
3.4.2 Polimorfizmlerin Belirlenmesi	32
3.4.2.1 Periferik Kandan DNA zolasyonu	32
3.4.2.2 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time-PZR)	33
3.4.3 istatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	35
4.1 Klinik ve Biyokimyasal Bulgular	37
4.2 PKOS ve Kontrol Gruplarında Polimorfizm Bulguları	38
4.2.1 XRCC1 Arg194Trp (rs1799782) Polimorfizminin Analizi	38
4.2.2 XRCC1 Arg399Gln (rs25487) Polimorfizminin Analizi	41
4.2.3 APE1 Asp148Glu (rs1130409) Polimorfizminin Analizi	43
4.2.4 XPD Lys751Gln (rs13181) Polimorfizminin Analizi	45
4.3 Polimorfizmler Arası Kombinasyon	48
4.4. DNA Tamir Geni Genotipleri ile Klinik ve Biyokimyasal Parametreler Arasındaki li kinin Ara tırılması	51
4.4.1 XRCC1 Arg194Trp	51
4.2.2 XRCC1 Arg399Gln	51
4.2.3 APE1 Asp148Glu	51
4.2.4 XPD Lys751Gln	52
5. TARTI MA	53
6. SONUÇ VE ÖNER LER	63
KAYNAKLAR	65
EKLER	88
EK.1 Etik Kurul Onayı	
ÖZGEÇM	89

## S İMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

XRCC1: X I ımı Tamamlayıcı Grup1 Enzim

APE1: Apürinik/Apirimidinik Endonükleaz

XPD: Kseroderma Pigmentosum Grup D

XPA: Kseroderma Pigmentosum Grup A

XPE: Kseroderma Pigmentosum Grup E

PKOS: Polikistik Over Sendromu

PKO: Polikistik Over

ROT : Reaktif Oksijen Türleri

BER: Baz Kesip Çıkarma Tamiri

SP-BER: Kısa Yama-Baz Kesip Çıkarma Tamir Yola 1

LP-BER: Uzun Yama- Baz Kesip Çıkarma Tamir Yola 1

NER: Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri

GG-NER: Global Genom-Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri

TC-NER: Transkripsiyonla li kili-Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri

SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi

PCNA: Prolifere Edici Hücre Nükleer Antijeni

VK : Vücut Kitle ndeksi

SHBG: Sex Hormonu Ba layan Globulin

HOMA-IR: Homeostazis Modeli- nsulin Direnci

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Arg: Arjinin aminoasidi

Trp: Triptofan aminoasidi

Glu: Glutamik Asit aminoasidi

Gln: Glutamin aminoasidi

Asp: Asparjin aminoasidi

Lys: Lizin aminoasidi

MN: Mikronukleus

SCE: Karde Kromatid De i imi

DHEA: Dehidroepiandrosteron

DHEA-S: Dehidroepiandrosteron Sulfat

FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon

LH: Lüteinizan Hormon

TFIIH: Transkripsiyon Faktorü II H

CAPN10: Calpain 10

CYP17: Sitokrom P450 Family 17

CYP11a: Sitokrom P450 Family 11, subfamily a

8-OH-dG: 8-Hidroksideoksiguanozin

8-OH-dA: 8-Hidroksideoksiadenozin

PARP: Poly-ADP Riboz Polimeraz

dRP: 5' Deoksiriboz Fosfat

UV-DDB: Ultra Viyole-Hasarlı DNA Ba layıcı Protein

OR: Risk Katsayısı

$\chi^2$  : Ki-Kare

## EK LLER D Z N

- ekil 1.1... Baz Kesip Çıkarma Tamiri
- ekil 1.2 ... Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri
- ekil 4.1 ... *XRCCI* Arg194Trp' nın Erime E risi Analizi
- ekil 4.2 ... *XRCCI* Arg399Gln' nin Erime E risi Analizi
- ekil 4.3 ... *APEI* Asp148Glu' nun Erime E risi Analizi
- ekil 4.4 ... *XPD* Lys751Gln' nin Erime E risi Analizi
- ekil 4.5 ... PKOS'lu Hastalarda Asp148Glu geni için Asp/Asp, Asp/Glu ve Glu/Glu Genotipleri ile VK arasındaki ili ki

**TABLolar D Z N**

- Tablo 3.1..... LightCycler 2.0 Termal Döngü Protokolü
- Tablo 4.1..... PKOS'lu Hasta ve Kontrol Gruplarının Klinik Bulguları ve Biyokimyasal Sonuçları
- Tablo 4.2..... *XRCC1* Arg194Trp Polimorfizmi Bakımından Genotip ve Allel Da ılımları
- Tablo 4.3..... *XRCC1* Arg399Gln Polimorfizmi Bakımından Genotip ve Allel Da ılımları
- Tablo 4.4..... *APE1* Asp148Glu Polimorfizmi Bakımından Genotip ve Allel Da ılımları
- Tablo 4.5..... *XPD* Lys751 Gln Polimorfizmi Bakımından Genotip ve Allel Da ılımları
- Tablo 4.6..... PKOS ve Kontrol Gruplarında Polimorfizmler Arası Kombinasyonla
- Tablo 4.7..... *APE1* Asp148Glu Polimorfizmi Genotiplerine Göre Hasta ve Kontrollerin VK (kg/m<sup>2</sup>) Düzeyleri

## 1. G R

Polikistik over sendromu (PKOS), do urganlık ça ındaki kadınların %4-14'ünü etkileyen heterojen, multifaktöriyel endokrin bir hastalıktır (1, 2, 3, 4, 5). Kronik anovulasyon, infertilite ve hiperandrojenizm, PKOS'un en karakteristik bulguları arasındadır (6). Bu grup hastalarda yapılan bazı genetik çalı malarda özellikle e ey kromozomları ile ili kili anomaliler rapor edilmekte iken bazı çalı malarda ise karyotip anomalisine rastlanmadı ı belirtilmektedir (7, 8). Birçok çalı mada oligogenik bir hastalık olarak tanımlanan PKOS ile ili kili olarak çe itli genlere ili kin polimorfizm çalı maları da bulunmaktadır (9, 10, 11).

Multifaktöriyel bir hastalık olan PKOS ile ilgili olarak birçok biyokimyasal çalı ma da yapılmı tır. Bu çalı malar arasında dikkat çekici olan bu hasta grubunda artan oksidatif stres ve azalan antioksidan kapasitenin rapor edilmi olmasıdır (12). Dolayısı ile biriken DNA kırıklarının olası nedenlerinden biri olan bu durumun yanında e er olu an DNA kırıkları aynı zamanda onarılamıyor ise genomik kararsızlı ın olu ması ve bunun sürekli hale gelmesi kaçınılmaz olacaktır.

DNA tamir genleri ile ili kili polimorfizm birçok hasta grubunda çalı ılmı tır (13, 14, 15). Bu çalı malarda farklı tamir genleri çe itli olgular ile ili kili olarak ele alınmı ve de i en sonuçlar rapor edilmi tir. Farklı hasta grupları ile yapılan çalı maların yanında sa lıklı bireylerden olu an çe itli popülasyonlarda farklı DNA tamir genleri için yapılan polimorfizm çalı maları da vardır (5, 16).

Bunların dı ında farklı yöntemler (mikronükleus, komet testi gibi) ile ölçülen genomik kararsızlık ve DNA tamir genlerindeki polimorfizm ili kisi de birçok çalı mada ortaya konulmu tur (17, 18, 19). Tamir edilmemi DNA hasarını ta ıyan hücrelerin ise apoptozise ya da kontrolsüz bölünmeye gitmeleri olasıdır. Ayrıca çe itli tamir genlerindeki bazı yaygın polimorfizmlerin ise karsinojenlere kar ı hassasiyeti belirledi i öne sürülmü tür (20).

Bazı çalı malarda PKOS'un oksidatif strese neden oldu u rapor edilmektedir (12). Ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROT) oksidatif DNA hasarını, DNA kırıklarını, baz modifikasyonlarını ve kromozom anomalilerini indükleyebildi i

bilinmektedir (21, 22). İlave olarak PKOS hastalarının genomik kararsızlık ve artan kanser riskine sahip olduğu belirtilmektedir (23, 24, 25).

Çeşitli nedenlerle oluşan DNA hasarı altı farklı tamir sistemi tarafından onarılabilmektedir. Bunlar; doğrudan tamir, baz kesip çıkarma tamiri, nükleotid kesip çıkarma, çift zincir kırık tamiri, translesion sentezi (post-transkripsiyonel DNA tamiri), yanlış eşleşme tamiri (mismatch tamiri)'dir (26, 27). Bu tamir mekanizmalarının her birinden çok sayıda proteinin sorumlu olduğu bilinmektedir. Bunlardan olan iki tanesine ifade veren *APE1* ve *XRCC1* baz kesip çıkarma tamirindeki anahtar genlerdendir (27). *XPD* geni ise nükleotid kesip çıkarma tamiri ve zararlı bir DNA lezyonunun olduğu bölgede DNA'nın çözülmesine katılan ve büyük bir tamir proteini olan bir helikazı kodlar (28).

Bu çalışmada, daha önce genomik kararsızlık gözlemlendiği çeşitli çalışmalar ile rapor edilen PKOS olgularında *APE1* (Asp148Glu), *XRCC1* (Arg194Trp ve Arg399Gln) ve *XPD* (Lys751Gln) polimorfizmini araştırmak amaçlanmıştır.

## **2. GENEL B LG LER**

### **2.1 Polikistik Over Sendromu**

#### **2.1.1 Tarihçesi**

Polikistik over sendromu (PKOS), amenore, hirsutizm, obezite ve overlerde polikistik görünüm ile karakterize olup, üreme ça ındaki kadınlar arasında yaygın olarak rastlanılan endokrin kaynaklı bir patolojidir (29).

PKOS, ilk olarak 1844 yılında Cherau tarafından insan overinde gözlenmiş ve sklerotik de i iklikler olarak tanımlanmıştır (30). Daha sonra 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından hirsutizm, obezite ve infertilite ile birlikte tanımlanmıştır (6, 31) 1985 yılında Adams ve arkadaşları PKOS'lu kadınlarda ultrason bulgularına açıklık getirmişlerdir (32). Günümüze kadar olan süreçte de bu konu ile ilgili olarak çalışmalar devam etmektedir.

#### **2.1.2 Epidemiyolojisi**

Farklı klinik sendromlarda polikistik overlere (PKO) rastlanabilmektedir (33). Belli semptomların bir araya gelmesi ile birlikte PKO bir sendrom adını almaktadır (34).

PKOS'un kesin insidansı ile ilgili çalışmalar net değildir. Amerika'da Alabama Üniversitesi tarafından PKOS'un frekansı %4 olarak bildirilmiştir (2). Avrupa'da yapılan birkaç çalışmada ise PKOS'un prevalansının %6-7 arasında olduğu açıklanmıştır (2) birlikte PKOS'un tanı kriterlerinin farklı olmasından dolayı prevalansı hakkında kesin bilgi vermenin zor olduğu fakat üreme ça ındaki kadınlarda yaklaşık olarak %14 olduğu na dair veriler de bulunmaktadır (3).

#### **2.1.3 Tanı Kriterleri**

PKOS, 1990 yılında Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institute of Health) (NIH) tarafından düzenlenen konferansta, nedeni açıklanamayan kronik hiperandrojenik anovulasyon olarak tanımlanmıştır (35, 36). Rotterdam'da 2003 yılında düzenlenen toplantıda [European Society for Human Reproduction and

Embriyology (ESHRE/ASRM) American Society for Reproductive Medicine] ise 1990 yılındaki kriterlerin ikisinin birlikte varlığının önemli olduğu vurgulanmıştır (35, 37) ve polikistik overler en az bir overde 12 veya daha fazla sayıda 2-9 mm çapında folikülün olması ve toplam over volümünün 10 ml'den fazla olması ekinde tanımlanmıştır (38, 39).

National Institute of Health (NIH) (1990) kriterleri:

1. Klinik veya biyokimyasal olarak hiperandrojenizm bulguları
2. Kronik anovulasyon
3. Diğer etyolojik nedenlerin ekarte edilmesi

Rotterdam (ESHRE/ASRM) (2003) kriterleri:

1. Hiperandrojenizm bulguları
2. Oligo-anovulasyon
3. Polikistik over görüntüsü

Androgen Excess Society (AES) (2006) kriterleri:

1. Hiperandrojenizm (hirsutizm ve/veya hiperandrojenemi)
2. Ovaryan disfonksiyon (oligoanovulasyon ve/veya PKO görüntüsü)
3. Diğer etyolojik nedenlerin ekarte edilmesi (40, 41)

#### **2.1.4 Belirgin Klinik ve Laboratuvar Bulguları**

**Menstrual Düzensizlikler:** PKOS'lu kadınlarda farklı anovulatuvar semptomlar gözlenmektedir (4). Bunlar, altı aydan daha uzun süre menstrual kanama olmaması (amenore) veya iki menstrual periyod arasında 35 günden daha fazla zamanın olması (oligomenore) (42) veya amenore ve oligomenorenin tam aksine sık sık ve aırı menstrual kanama periyodlarına rastlanmaktadır (43).

**Hir utizm:** Kadınlarda androjenlere duyarlı olan üst dudak, çene, sırt, bel üst karın, alt karın, üst kol, göğüs, uyluk gibi bölgelerdeki erkek tipi kıl büyümesine hir utizm denir (4, 44, 45).

Hir utizmin nedenleri arasında PKOS, idiopatik hir utizm başta olmak üzere sırası ile over ve adrenal tümörler, konjenital adrenal hiperplazi ve cushing sendromu gelmektedir (46, 47).

Doğurganlık dönemindeki kadınlarda, hir utizm görülme sıklığı %5-8 oranındadır (48). Psikolojik ve fizyolojik açıdan kadınları etkilemektedir (49).

PKOS'lu kadınlarda hir utizm ile birlikte akne, androjenik saç dökülmesi, yağlı cilt, terleme gibi bulgular da görülmektedir (32, 50, 51).

**Obezite:** Obezite, Stein ve Leventhal'ın bu sendromu tanımlamasından bu yana PKOS'un en yaygın özelliğidir. PKOS'ta obezitenin prevalansı yaklaşık olarak %50 kadardır (32). Özellikle abdominal obeziteye rastlanmaktadır. Hasta normal kiloda olsa bile intra abdominal yağlanma fazladır (3). PKOS'taki obezitenin prevalansındaki bu varyasyon, yaşam koşulları ve genetik faktörlerin farklı olmasından dolayıdır (5).

Obezitenin varlığı klinik olarak bazı sonuçları doğurur. Birincisi serbest testosteronun ve östradiolün artması dolayısıyla sex-hormon binding globülin miktarının azalması ile ilişkilidir. İkincisi obezlerde dislipidemi varlığı nedeni ile kardiyovasküler hastalıklar açısından risk oldukça artmaktadır (32, 52). Üçüncüsü ise obezite olup insülin direnci ile ilişkilili olup bu durum tip II diabetin habercisidir (32).

**Hormon Bulguları:** LH/FSH oranı, LH ve glukoz düzeyleri, insülin miktarı, serbest veya total testosteron seviyelerinde artış, DHEA-S seviyesinde bir miktar yükselme ile birlikte normal veya yüksek östrojen seviyesi, normal veya artan PRL seviyesi, normal veya normalin altında FSH, azalan SHBG düzeyi, LDL-kolesterol, kolesterol ve trigliserit seviyelerinde artma, HDL- kolesterol seviyesinde düşüklük gözlenmektedir (33, 53).

### 2.1.5 PKOS ve Jinekolojik Kanserler

**Endometrium Kanseri:** PKOS ve endometrium kanseri arasındaki ili ki ilk kez 1949 yılında Dockerty ve Jackson tarafından bildirilmiştir. Daha sonraları PKOS'un klinik bulgularından olan obezite ve endometrium kanseri arasındaki ili ki sıklıkla rapor edilmiştir (1).

Endometrial kanserin başlıca iki tipi tanımlanmıştır:

TipI endometrium kanseri, bütün vakaların %80'ini oluşturur ve östrojen kullanımı ile ilişkilidir. TipI endometrium kanserinde risk faktörleri erken menar , geç menopoz, infertilite, kronik anovulasyon, diyabet, hipertansiyon, obezite ve östrojen kullanımıdır. Östrojen kullanımı endometrial hücrelerin mitotik aktivitesini artırır ve DNA replikasyon hatalarının miktarı da artar. Bu nedenle de malign fenotipler ortaya çıkar. TipI endometrium kanserinde sıklıkla mikrosatellit instabilitesi görülür. PTEN mutasyonları, K-ras mutasyonları ve -katenin mutasyonları gibi genetik değişimler saptanmıştır (1).

TipII non-endometrium kanseri ise östrojen ile ilişkili değildir ve bu tip endometrium kanserinde sıklıkla p53 mutasyonları ve birkaç kromozomda heterozigozite kaybı saptanmıştır (1).

**Uterus Sarkomları:** Uterus sarkomlarının histolojik varyantları içerisinde leiomyosarkoma, endometrial stromal sarkoma ve mixed müllerian tümörler en yaygın olanlarıdır (54). Endometrial stromal sarkomlar mitotik indeksine göre düşük grade ve yüksek grade olarak iki gruba ayrılır (55). Düşük grade endometrial stromal sarkomlar hormon kullanımına duyarlı tümörler olup bazı vakalarda PKOS'un saptandığı rapor edilmiştir. Karsinomlara daha sıklıkla postmenopozal dönemde rastlanmaktadır. Ancak literatürde PKOS'lu karsinomlara 19, 27 ve 36 yaşlarında üç kadında rastlandığı bildirilmiştir (1).

**Epitelyal Over Kanseri:** PKOS ve over kanseri riski arasındaki ili ki birkaç çalışmada değerlendirilmiştir ve çelişkili sonuçlar bulunmuştur (56, 57, 58, 59).

Schildkraut ve arkadaşları epitelyal over kanserli 476 kadın ve 4081 kontrolü de erlendirip over kanser riskinin PKOS'lu kadınlar arasında 2.5 kat fazla olduğunu saptamışlardır (58). Bununla birlikte Atimo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise PKOS'lu kadınlarda ve bu kadınların ailelerinde over kanser öyküsüne rastlanmamıştır (59).

Yapılan bazı çalışmalarda obezite ile epitelyal over kanseri riski arasında ilişki gösterilmiştir. PKOS'ta obezitenin prevalansı yaklaşık olarak %50 kadardır (32). Amerika Birleşik Devletleri'nde vücut kitle indeksi (VK) yüksek olan kadınlarda düşük olan kadınlara göre kanser riskinin 1.7 kat yüksek olduğunu saptanmıştır (1).

**Meme Kanseri:** Hem epidemiyolojik hem de deneysel veriler meme kanseri etyolojisinde yaşam boyunca kümülatif olarak östrojen ve progesteron kullanımının ilişkili olduğunu açıkça çıkarmıştır (60). Erken menar yaşı, geç menopoz yaşı gibi sebepler malignite için risk faktörleridir (1).

Bazı araştırmacılar obeziteyi de erlendirmiş, postmenopozal meme kanseri riskini obez kadınlarda yüksek bulmuşlardır. Bununla birlikte premenopoz dönemde VK ve meme kanseri arasında ters orantılı bir ilişki gözlemlenmiştir (1).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *CYP11A* geninin promotor bölgesinde [(TAAAA)<sub>n</sub>] tekrarının polimorfizmi tanımlanmış ve PKOS ile ilişkili olduğunu saptanmıştır (1). Zheng ve arkadaşları bu polimorfizmin meme kanseri ile ilişkisini araştırmışlar ve bu hasta grubunda yaygın olarak 4, 6 veya 8 (TAAAA) tekrarlarını belirlemişlerdir (61).

Literatürde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda meme kanseri riski ile PKOS arasında ters orantılı ilişkilerin varlığı da gösterilmiştir (62, 63).

## 2.2 PKOS'un Genetik Temelleri

PKOS, hem çevresel hem de genetik faktörlerin etkisinde olan kompleks bir hastalıktır (64). PKOS klasik Mendelian bir kalıtım göstermez (65). Bununla beraber yapılan çok yönlü çalışmalar PKOS'un ailesel bir yayılım gösterdiğini kanıtlamıştır (36, 65, 66). Ancak PKOS'un kalıtım modeli açık değildir. Bazı çalışmalarda eksik

penetrans ile kalıtım modelinin dominant olduğu vurgulanmış olup bazı çalışmalarda ise çevresel faktörler ile kalıtımın multigenik bir kalıtım modeli olduğu kanıtlanmıştır (64).

Yeni teknolojilerin kullanımının yaygınlaşması, genom taramalarının artması, haplotip haritalarının tamamlanması genetikin sahasını genişletmiş olup, PKOS'un etyolojisinin belirlenmesine önemli katkılar sağlamıştır (66).

PKOS'a yatkınlık oluşturan 50'den fazla aday gen belirlenmiş olup (65) bu genlerden bazılarının ise sendromun patogeneğinde anahtar rol oynadığı rapor edilmiştir (67).

### 2.2.1 PKOS'ta Aday Genler

**Calpain-10 (CAPN10) Geni:** *CAPN10* geni, 2q37'de lokalize olup tip II diabet ile ilişkili bir lokus olarak rapor edilmektedir. İnsülin direnci PKOS hastaları arasında karakterize olan bir durumdur. Bu nedenle *CAPN10* geni olası aday bir genidir. *CAPN10* geninin üç varyantı bulunmaktadır (65). Diopatik hipertansiyon ve hiperandrojenemi ve PKOS hastaları ile yapılan farklı vaka kontrol çalışmalarında *CAPN10* geninin varyant allel ve polimorfizmleri arasında pozitif ilişkiler saptanmıştır (64).

**Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) Geni:** Lokalizasyon bölgesi 17p13.1 olan *SHBG* geninin promotor bölgesinde (TAAAA)n polimorfizmi PKOS'lu 185 Yunan kadınında yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (65). Hogeveen ve arkadaşları gebelik boyunca iddetli hiperandrojenemiye neden olan bir mutasyonunun varlığını yayınlamışlardır (68).

**Follistatin (FST) Geni:** *FST* geni 5q11.2 kromozom bölgesinde lokalize olup bu genin ovarian folliküler gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir. Hipofiz bezinden FSH salınımını ve pankreatik  $\beta$ -hücrelerinden insülin salınımını artıran ve androjen üretimini baskılayan genlerdendir (64). Ericson ve arkadaşları polikistik ve normal overlerin follistatin protein seviyelerini ölçerek yaptıkları çalışmada farklılık belirleyememişlerdir (69). Bunun aksine Norman ve arkadaşları follistatin konsantrasyonlarını 108 PKOS hastasında 20 kişilik kontrol grubundaki sağlıklı

kadıncan daha yüksek olarak saptamı lardır (70). Yine Eldar-Geva ve arkada ları serum follistatin konsantrasyonlarını PKOS hastalarında kontrol grubundan daha yüksek oldu unu belirlemi lerdir (71).

**nsülin (INS) Geni:** PKOS için duyarlı bir lokus olan insülin geni 11p15 bölgesinde lokalize olmu tur. Bu lokus hiperinsulinemi ile ili kili olup tip II diabete duyarlılık olu turabilmektedir (65).

**Androjen Reseptör (AR) Geni:** Androjen reseptör geni Xq11-12 lokalize olup transkripsiyon ürünü 917 aminoasit uzunlu unda olan bir proteini kodlar (72). Androjen reseptör geninin N-terminalinde tekrarlayan CAG dizisinin polimorfizmi ile PKOS arasında ili ki oldu unu kanıtlayan bazı çalı malar gösterilmi tir. Hasta grubunu PKOS olgularının olu turdu u bir vaka kontrol çalı masında CAG tekrar dizilerinin uzunlu u ile testeosteron seviyesi arasında ters orantılı bir ili ki oldu u saptanmı tir (64).

**Cytochrome P450 Family 11, Subfamily A (CYP11a) Geni:** Lokalizasyon bölgesi 15q23-24 olan *CYP11a* geninin 5' ucunda polimorfik bir dizi belirlenmi olup (73) bu dizinin yüksek testeosteron düzeyi ile ili kili oldu u tespit edilmi tir Ghorani ve arkada ları PKOS'lu (Rotterdam kriterlerine göre) 20 aileyi gözden geçirmi , kolesterol artı ı ile *CYP11a* geni arasında bir ili ki saptamı lardır (74).

**Cytochrome P450 Family 11 (CYP17) Geni:** *CYP P450c17* (Sitokrom P450, 17hidroksilaz/ 17,20-liyaz enzimleri) enzimini kodlayan bu gen 10q24.3 bölgesinde lokalize olmu tur. Bu enzimin hem overlerde hem de adrenal bezlerde androjen üretimi için gerekli oldu u belirtilmi tir (75).

### 2.2.2 PKOS ve Genomik Kararsızlık

Kanser ba ta olmak üzere di er birçok hastalıkta genomik kararsızlık belirlenmi tir. Kararsızlık, kromozomal veya mikrosatellit düzeyinde gerçekte ebilmektedir (76). Genomik kararsızlık markerları olarak; DNA ba kırıkları, kromozom aberasyonları, mikronukleus sıklı ı, anöploidiler, telomer kısalması, apurinik bölgeler, DNA katılım ürünleri, DNA oksidasyonu ve

metilasyonu, mitokondrial DNA mutasyonları ve germ hücrelerinde meydana gelen DNA hasarları kullanılmaktadır (77).

Son yıllarda yapılan çalı malarda telomer kısalması, 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ve mikronukleus (MN) çalı maları, genom instabilitesi veya kromozomal hasarın belirlenmesinde geni bir yer tutmaktadır. MN, hem *in vitro* hem de *in vivo* sitotoksisite ve genotoksisite çalı malarında sıklıkla kullanılan bir kromozomal biyomarkerdir. MN, hücre sitotoksisitesi ve hücre ölümü gibi önemli olaylarda kromozom kırıkları, kromozom yeniden düzenlemeleri ve gen amplifikasyonları ile ilgili olarak e zamanlı bilgiler sa lamaktadır (78). Ye ilada ve arkada ları mikronükleus sıklı ının PKOS'lu hastalarda yüksek oldu unu belirlemi lerdir (23).

Oksidatif DNA hasarının güvenilir belirteçleri arasında olan 8-OHdG'nin yer aldı ı çalı maların sayısı da her geçen gün artmaktadır (25, 79, 80). Hamurcu ve arkada larının 2010 yılında yaptıkları bir vaka kontrol çalı masında 8-OHdG seviyesinde hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir fark belirlenememekle birlikte PKOS'lu hasta grubunda MN frekansını önemli oranda yüksek olarak rapor etmi lerdir (25).

PKOS'da görülen menstrual düzensizlikler, hir utizm, akne gibi bulgulara ilave olarak uzun dönemde dislipidemi, hipertansiyon, hiperinsulinemi, insülin direnci, obezite, metabolik sendrom, tip II diabet ve kardiyovasküler hastalıklar da e lik etmektedir (81).

PKOS'ta obezitenin prevalansı yakla ık olarak %50 kadardır (32). PKOS'lu hasta, normal kiloda olsa bile intra abdominal yağlanma fazladır (3). Obezite, metabolik sendromun geli mesinde nedensel bir faktör olup özellikle abdominal obezite metabolik sendrom için temel bir risk etkenidir. Batı toplumlarında obezite kaynaklı hastalıklar, morbidite ve mortalitenin en yaygın nedenleri arasına yerle erek artık tüm dünyada ciddi bir sa lık problemi haline gelmi tir. Kronik oksidatif stresin, kilo artı ı ve obezitenin altında yatan majör mekanizma olabilece i yönünde çalı malar bulunmaktadır (82).

Obez ve metabolik sendromlu hastalar ile MN arasındaki pozitif ili kiyi gösteren çalı malar da rapor edilmi tir (78).

Obezite kaynaklı hastalıklardan olan diabet, akut ve kronik komplikasyonları nedeni ile dünyada geni bir sa lık sorunu haline gelmi tir. Tip I diabetin görülme sıklı ı %5-10 iken tip II diabet, diabetin en yaygın formu olup %90-95 oranında yüksek bir frekansı bulunmaktadır (83, 84).

Tip II diabet, insülin direnci ile karakterizedir. nsülin direnci, PKOS'un patofizyolojisinde majör bir rol oynamaktadır. nsulin direnci, bozulmu glukoz toleransı ile birle ince tip II diabet riski ta ıtmaktadırlar. PKOS'lu hastalarda bozulmu glukoz toleransı prevalansı %31-35, tip II diabet prevalansı ise %7.5-10 olarak belirtilmi tir (83, 84).

Tip I ve Tip II diabette kromozomal DNA hasarı sıklıkla çalı ılan ara tırma konularından biridir. Tip I diabette SCE ve MN frekansı ara tırılmı ve sa lıklı kontrollere göre daha yüksek oldu u belirlenmi tir (85, 86).

VK 'nin genel olarak yüksek oldu u ve abdominal obezitenin sıklıkla görüldü ü tip II diabet hastalarının hem kan hem de idrar örneklerinde oksidatif DNA hasarının göstergesi olan 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) seviyesinin de yüksek oldu u belirlenmi tir (79). Yine yapılan bir ba ka vaka kontrol çalı masında da telomer kısalmasının tip II diabet hastalarında daha fazla oldu u vurgulanmı tir (82). MN frekansı da tip II diabet hasta gruplarında çalı ılan testlerden biri olup bu hasta grubunda MN frekansının sa lıklı kontrol gruplarından daha yüksek oldu u rapor edilmi tir (86, 87, 88).

nsülin direnci, arterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar için de risk faktörüdür. Son yıllarda kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde oksidatif DNA hasarı kaynaklı kromozom instabilitenin rolü sıklıkla ara tırılan konular arasındadır. MN sıklı mın koroner arter hastalarında yükseldi i ve bu yüksekli in hastalı ın iddeti ile de paralellik gösterdi i vurgulanmaktadır (78, 88, 89).

### 2.2.3 PKOS, Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

PKOS'a uzun dönemde dislipidemi, hipertansiyon, hiperinsulinemi, insülin direnci, obezite, metabolik sendrom, tip II diabetes ve kardiyovasküler hastalıklar da eklenmektedir (81). Bu hastalıklarda gözlenen metabolik stres ve hipoksi gibi nedenlerin bir sonucu olarak serbest radikal üretiminin arttırılması ve antioksidan savunma sisteminin bozulmasından ötürü reaktif oksijen türleri ile PKOS'un ilişkisini gösteren çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır (81). Oksidatif stresin endometriozis, polikistik over sendromu gibi bazı jinekolojik hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı ayrıca oosit kalitesi ile folliküler sıvıdaki reaktif oksijen türlerinin (ROT) düzeyi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar bulunmaktadır (90, 91).

#### 2.2.3.1 Oksidatif Stres Nedir?

Son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte kanser, diabetes, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi bazı kronik hastalıkların patofizyolojisinde oksidatif stresin yer aldığı gözlenmektedir (92). Normal fizyolojik koşullarda serbest radikallerin hasar verici etkisi hücrel antioksidanlar ve enzimler tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Organizmalarda serbest radikallerin meydana gelme hızı ile bunların yok edilme hızı arasındaki dengenin bozulması 'oksidatif stress' oluşumuna neden olmaktadır (93).

Serbest radikaller, gen ekspresyonları, reseptör aktivasyonları ve çok sayıda hücrel sinyal sistemlerini kapsayan birçok biyolojik sistemde hem yararlı hem de zararlı rol oynamakla birlikte bunların yüksek konsantrasyonları, karbonhidratlar, proteinler, membran lipidleri ve nükleik asitler gibi önemli hücrel yapıların oksidatif hasara uğramasına neden olmaktadır (94).

Organizmalar için en önemli serbest radikaller arasında, süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksil ( $\bullet OH$ ), nitrik oksit ( $NO^{\bullet}$ ), peroksil ( $RO_2^{\bullet}$ ) yer almaktadır. Peroksinitrit ( $ONOO^{\bullet}$ ), hipokloröz asit ( $HOCl$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), singlet oksijen ( $^1O_2$ ) ise serbest radikal olmamakla birlikte girdikleri reaksiyonlar sonucunda serbest radikal oluşumuna yol açmaktadırlar (94).

Süperoksit radikalinin a ır ı üretimi hücre sel metabolizmanın a ır ı yüksel mi glukoz tarafından bozuldu u durumlarda ger çekle mektedir. Bu da diyabetin komplikasyonlarına yol açmaktadır (95, 96, 97). Nitrik oksit, arjininin nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılı ıyla sitrulline dönü mesinin bir sonucu olarak vazodilatör görevi yapmaktadır. Nitrik oksit ile süperoksidin reaksiyon ürünü olan peroksinitrit çok reaktif bir moleküldür. Kardiyovasküler hastalıkların patogene zinde rol oynamaktadır (92). Hidrojen peroksit bir radikal olmamakla birlikte yarı ömrü uzun olup membranlardan kolaylıkla geçebilmektedir. Geç i metallerinin varlı ında (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları) ve suyun iyonize edici radyasyona maruz kalması durumunda ise hidroksil radikalinin meydana gelmesine neden olmaktadır (94). Hidroksil radikali çok reaktif olup (98) ba ta nükleik asitler olmak üzere, organik asitler, amino asitler, ekerler ve fosfolipidler gibi birçok biyokimyasal madde ile tepkimeye girip bu molekülleri oksitleyebilmektedir (96, 99, 100).

### **2.2.3.2 DNA Hasarı**

#### **DNA Baz Hasarları**

Endojen (deaminasyon, depurinasyon, depirimidasyon, metabolizma ürünleri (101) ya da ekzojen etkenler [kimyasal ajanlar (alkilleyici ajanlar, kemoterapi ilaçları, aflatoksin, benzopiren) ve fiziksel ajanlar (iyonize radyasyon, ultraviyole ı ınlar)] (102) nedeni ile genetik materyalin moleküler bütünlü ünde olu an de i ikliklere 'DNA hasarı' adı verilmektedir (103). DNA hasar ajanlarının büyük ço unlu u hücre genomunun stabilitesini tehdit edebilmektedir. Hidrolitik reaksiyonlar, enzimatik olmayan metilasyon, reaktif oksijen türleri, iyonize radyasyon ve farklı kimyasal ajanlar DNA hasarlarına yol açarlar ve bunlar potansiyel olarak sitotoksiktirler (104, 105).

Serbest radikallerin girmi oldu u tepkimeler sonrasında DNA'nın dört bazında 20'den fazla ürün meydana gelmektedir (106). Özellikle OH<sup>•</sup> radikallerinin girdi i reaksiyonlar pürin ve pirimidin bazlarında de i imler olu turmaktadır (107).

Hidroksil radikali pürin ve pirimidinlerin çift bağlarına bağlanır. Hidroksil radikali sitozinin 5. karbon atomuna %87 oranında eklenirken 6. karbon atomuna %10 oranında eklenir.

Timinde ise %60 oranında 5. karbona eklenirken 6. karbon atomuna %30 oranında eklenir. %10 oranında da metil grubundan bir hidrojen atomunun ayrılmasıyla oluşan alil radikali oluşumu eklenmektedir (108, 109).

Guanin bazının OH radikali ile birlikte tepkimeye girmesi, genellikle C4-, C5- ve C8- pozisyonlarına olur (108). C8-OH- radikallerinin oksidasyonu sonucunda 8-hidroksipurinler yani; 8-OH-guanin ve fapyguanin oluşur.

Adenin bazının OH radikali ile etkileşimi sonucunda 8-OH-adenin ve fapyadenin oluşmaktadır (108).

### **Oksidatif DNA Hasarının Replikasyona ve Transkripsiyona Etkileri**

#### **1. Pürinlere Etkileri**

7,8-Dihidro-8-oxoguanin (8-OH-Gua): Oldukça mutajenik olan bu hasar oksidatif DNA hasarının biyomarkerı olarak kabul edilmektedir (108). 8-OH-Gua, sıklıkla G ve C ile eşleşmektedir. Memeli hücrelerde 8-OH-Gua:C çifti etkili bir şekilde tamir edilirken 8-OH-Gua:A çiftinin tamir oranı zayıftır (110).

Oxazon: Yapılan çalışmaların sayısı çok az olup G → T transversiyonlarına neden olduğu bildirilmiştir (108).

7,8-Dihidro-8-oxoadenin (8-OH-Ade): A → G transisyon ve A → C transversiyonlarına neden olmaktadır. Bu mutasyonların frekansı %1 olarak belirtilmiştir (98).

Formamidopirimidinler: OH radikali ataklarının başlıca ürünleri FapyAde ve FapyGua'dır. 5-metil-FapyGua, guaninin metilasyonu sonucunda oluşur ve *in vitro* koollarda güçlü bir şekilde replikasyonu engeller. FapyAde'ninin 8-OH-Ade'den daha mutajenik olduğu literatürde gösterilmiştir (107).

2-Hidroksiadenin (2-OH-Ade): 2-OH-Ade, A G, A T, A C transversiyonlarına neden olmaktadır (111).

## 2. Pirimidinlere Etkileri

5,6-Dihidro-5,6-dihidroksitimin (Timin glikol): yonize radyasyonun olu turdu u en temel DNA ürünüdür. Yapılan çalı malarda T C transversiyonlarının mutasyon olu turma frekansının %0.3 oldu u belirlenmi tir. Timin glikolün A ile e le melerinin ise mutajenik etkisinin yok denecek kadar az oldu u yapılan di er çalı malarda bildirilmi tir (112).

5-Formilurasil (5-FoUra): Timinin bir di er oksidasyon ürünü 5-FoUra'dir. Hücrelerdeki zararlı etkileri yapılan çalı malarda vurgulanmı tir ve bu lezyonun tamiri için 3-metiladenin-DNA glikozilaz II enzimine ihtiyaç vardır. Yapılan son çalı malarda *in vitro* ko ullarda güçlü bir ekilde replikasyonu engelledi inden sitotoksik etkisinin zayıf oldu u vurgulanmı tir (113).

5-Formilsitozin (5-FoCyt): 5-FoCyt, C:G T:A transisyonlarına ve C:G A:T transversiyonlarına neden olmaktadır (108).

5-Hidroksisitozin, 5-Hidroksiurasil, 5,6-Dihidro-5,6-dihidroksiurasil (Urasil glikol): Sitozinin oksidasyonu sonucunda olu an bu ürünlerin *E.coli*'de C T transisyonlarına neden olarak mutajenik etki gösterdi i belirtilmi tir (114).

5-Hidroksimetilurasil (5-OHMeUra): 5-OHMeUra'in mutajenitesi ile ilgili olarak farklı sonuçlar bulunmaktadır. Bakteri ve memelilerde oldukça mutajenik olarak tanımlanan çalı malar olmakla birlikte 5-OHMeUra'in memelilerde delesyonlara yol açtı nı gösteren çalı malar da bulunmaktadır (108).

Üre: Timin hidroperoksitlerin ve timin glikolün parçalanma ürünü olarak olu an üre toksik olup DNA polimeraz I'in çalı masını etkin ekilde engeller. Bununla birlikte T C mutasyonlarına yol açtı ı da gösterilmi tir (115).

### 2.3 DNA Tamir Mekanizmaları

DNA tamir yolları; do rudan tamir, baz kesip çıkarma tamiri (BER), nükleotid kesip çıkarma tamiri (NER), çift zincir kırık tamiri, translesion sentezi, mismatch tamiri olmak üzere altı grupta incelenmektedir (26). Ara tırmamızla ilgili olarak BER ve NER hakkında geni bilgi a a ıda sunulmu tur.

#### 2.3.1 Baz Kesip Çıkarma Tamiri (BER)

BER; DNA bazlarının spontan kaybı, metilasyon ve büyük olmayan eklentiler nedeni ile olu an küçük lezyonların onarılmasında (116, 117), okside DNA bazlarının kaldırılmasında (118) ve deamine bazların tamirinde (119) görevli olan ba lıca DNA tamir yoludur.

BER, bazın kaldırılması ve Apürinik/Apirimidinik bölgelerin kesilmesi, sentez ve ligasyon basamaklarından olu maktadır. DNA glikozilazlar, APE1, DNA polimerazlar ve DNA ligazlar da BER'de görev alan ba lıca enzimlerdir (119).

Baz eksizyon tamirinde hasarlı baz, baz'a özgü DNA glikozilazlar tarafından tanınmaktadır (16, 120). DNA glikozilaz hasarlı bölgeyi tanımak için DNA'nın küçük olu una yerle erek hasarlı olan baz ile eker arasındaki -N glikozidik ba ı kırır. Böylece hasarlı baz, polinükleotidden ayrılmı tır ve 5' eker fosfat ba ını içeren tek bir zincir kırı ı olu mu tur.

Hasarlı bazın ayrılmasıyla olu an bazsız bölge (apürinik/apirimidinik) AP endonükleazlar (insanda *APE1*) tarafından tanınır (121). Fosfodiesteraz enzimleri AP bölgesindeki fosfodiester ba mın kırılmasını sa lamaktadır (122, 123). AP Endonükleaz1 fosfodiester omurgayı 5' ucundan keserek 3' hidroksil grubu ve 5' deoksiriboz fosfat (dRP) bulunan bir çentik olu turur (124).

Bu a amada dikkat çeken protein, Poly-ADP Riboz Polimeraz (PARP1), Polinükleotid Kinaz (PNK), Polimeraz (Pol ) ve Ligaz3 (LIG3 ) ile etkile im halinde olan *XRCC1* proteindir (125). *XRCC1* enzimi hasarlı bölgede DNA glikozilaz enziminin *APE1* ile yer de i tirmesini sa lar ve hasarlı bazın çıkarılmasını kolayla tırır (126, 127, 128).

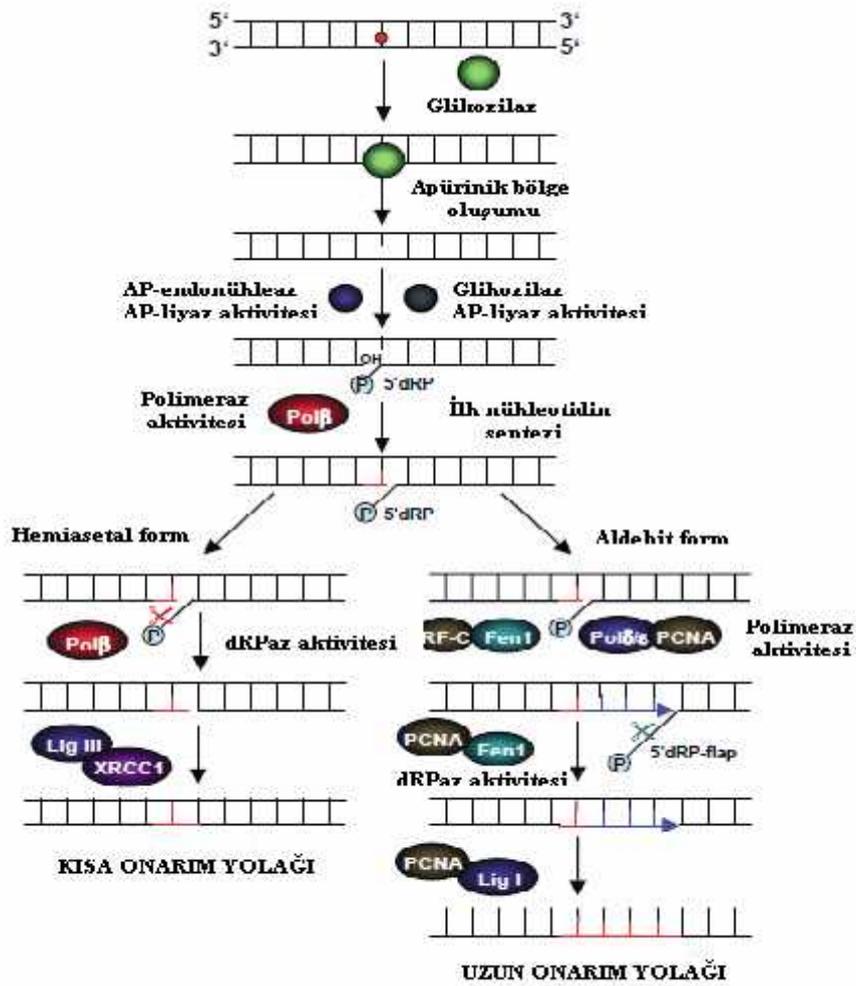
BER iki alt yola a sahiptir (103).

**a. Kısa Yama-Baz Kesip Çıkarma Tamir Yolu ı (SP-BER):** Sadece tek bir nükleotidin de i tirildi i yolaktır. DNA polimeraz görev alır ki 5' sRPaz aktivitesine sahiptir ve kırık ın 5' ucundan bazsız ekeri kaldırabilir (118).

SP-BER, baz ve eker hasarlarının tamiri için majör bir tamir yoludur (118).

**b. Uzun Yama-Baz Kesip Çıkarma Tamir Yolu ı (LP-BER):** Minör BER yola ı olarak da bilinen uzun yama onarım yola ı, 2-13 nükleotidlik hasarların onarıldı ı, tek zincir kırıklarının tamirinde görevli yolaktır (16). Kısa yama onarım yola ında görev alan DNA glikozilaz, *APE1*, DNA polimeraz gibi birçok enzim, uzun yama yola ı ile ortak kullanılır (129). LP-BER'de ilk nükleotid DNA polimeraz tarafından birle tirilirken di erleri DNA poli meraz veya DNA polimeraz tarafından birle tirilir. Ba langıçta DNA polimeraz birkaç nükleotid yardımıyla 3'ucu uzatır ve 5'deoksiribofosfat içerir (118). 5'deoksiribofosfatı bir flap oligonükleotidi olarak de i tirerek bo luk tamir edilir. Bo luk DNA ligaz yardımı ile kapatılmadan önce kalan oligonükleotid parçası spesifik flap endonükleaz (FEN) tarafından uzakla tırılır (116, 130). LP-BER'de farklı olarak proliferere edici nükleer antijen (proliferating nuclear antigen; PCNA) (124), replikasyon faktör C gibi yardımcı proteinlere de ihtiyaç duyulur (121).

BER'de onarılmı olan DNA fragmentlerinin ligasyonu ile DNA hasarının tamiri tamamlanmı olur. SP-BER ve LP-BER'de farklı DNA ligazlar tanımlanmı olup *LIG1* LP-BER'de ve *LIG3* ise SP-BER'de görevlidir. *LIG3* , *XRCC1* proteini ile kompleks yapar ki DNA ucunun *LIG3* tarafından ligasyonunu aktive eder ( ekil 1.1) (118).



ekil 1.1 Baz Kesip-Çıkarma Tamir (BER) Mekanizması (131)

### 2.3.2 Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri (NER)

NER tamir yolu, Xeroderma pigmentosum (XP)'un tanımlanmasından sonra 1874 yılında Moriz Kaposi tarafından açıklanmıştır (132). XP hastaları güne ışığına son derece duyarlı olup güne ışığına maruz kalan bölgelerin deri kanseri olma insidansı 1000 kat artmaktadır. Çoğu XP hastasında hem global genom NER (GG-NER) hem de transkripsiyonla ilişkili NER (TC-NER) defektiftir (132).

Memelilerde NER, UV ışığı ve diğer çevresel karsinojenlerden kaynaklanan pirimidin dimerleri, fotoürünler ve büyük kimyasal eklentiler gibi büyük lezyonların

tamirinde görev alır (125, 133). UV ı ınlarının neden oldu u dimerler DNA konformasyonunu bozar ve DNA polimerazın aktivitesini engelleyerek replikasyonu durdurur (102).

NER sigara kullanımı nedeni ile olu an büyük DNA lezyonlarının da kaldırılmasında rol oynayan bir DNA tamir yoludur (134).

Karaci er kanserine neden olan asetilaminofluoren guanin ve yine akci er kanserine neden oldu u bilinen benzo[a]piren guanin kaynaklı hasarların tamir edilmesinde de NER tamir yolu önemli bir göreve sahiptir (135). Benzo[a]piren DNA'da guanin gruplarına ba lanıp G-C ba mının arasına girerek DNA'nın helix yapısında bozulmalara neden olur. DNA'nın helix yapısındaki bozulmalar NER tarafından tamir edilmektedir (102).

BER mekanizmasının yeterli olmadı ı durumlarda da NER mekanizması hasarın onarılması için devreye girmektedir (135). NER tamir yolu DNA tamir sisteminde anahtar bir role sahiptir (136). NER yolu, hasarlı DNA'nın kesin lokalizasyonunu tanımlamaya dayanır (137). Bu DNA tamir sistemindeki fonksiyon bozuklukları kansere duyarlılı ı artırmaktadır (136).

NER, DNA hasarının tanımlanması, hasarlı bazın kesilip çıkarılması, ligasyon ve yeniden sentezlenmeyi de içine alan yakla ık olarak 30 proteinden olu mu tur (138). NER, iki ayrı mekanizmadan meydana gelmektedir (103, 139).

**1. Global Genom-Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri (GG-NER):** DNA'da genom boyunca transkribe olmayan inaktif bölgelerdeki hasarların tamirinde rol alır (135).

Hasarın tanımlanması basama ında XPA, RPA, XPC-HR23B ve XPE hasarlı DNA'ya ilk olarak ba lanan proteinlerdir. Ancak bunların hiçbiri hasarı tanımlayabilecek kadar yeterli spesifiteye sahip de ildir (132).

XPC'nin HR23B ile kompleks olu turmasının XPC proteinini stabilize etti i ve proteozomal degradasyondan korunmayı sa ladı ı dü ünülmektedir. Biyokimyasal çalı malardan sonra görülmü tür ki XPC, DNA'daki lezyonun açılmasını sa lar ve

sonraki NER faktörlerinin bölgeye toplanmasını kolaylaştırır. *in vitro* çalışmalar sayesinde ise farklı tiplerdeki DNA hasarlarına öncelikli olarak XPC-HR23B'nin bağlandı ve heliks bozulmalarına karşı daha fazla affinite sağladığı gösterilmiştir. Ancak yine de XPC ile ilgili bilgiler yeterli değildir (132).

UV ışığı altında XPC proteininin UV-DDB (Ultra-violet-damaged DNA Binding protein) alt birimi hasarın tanınmasında önemli rolü bulunmaktadır. UV-DDB özellikle siklopirimidin dimerleri ve fotoürünlerin tanınmasında önemlidir (140). UV-DDB proteini (DDB1, p127) ve (DDB2, p48, XPE) iki subüniteden oluşmaktadır (141). Bunların daha ufak DNA kırılmalarının algılanmasında rolü oynayabileceği düşünülmektedir. Bu kompleksin üçüncü üyesi centrin 2 proteini olup bu proteinin NER reaksiyonlarını tetiklediği gösterilmesine rağmen kesin rolü hala anlaşılamamıştır (132).

Kompleksin açılmasında TFIIH proteini görev almaktadır. TFIIH 10 subünelik bir kompleks olup, çekirdek bir subkompleks (XPB, XPD, p62, p52, p44, p34, p8) ve cyclin-aktivating kinaz subkompleksi (CAK: cdk7, cyclin H ve Mat1)'nden oluşmaktadır (142).

TFIIH, XPC-HR23B proteini ile etkileşim halindedir. Bu safhada DNA'nın hasarlı bölgesinin açık kalması XPC-HR23B tarafından stabil hale getirilmeye olur (132).

NER'de görev alan XPB proteini 3' 5' ve XPD proteini ise 5' 3' helikaz aktivitelerine sahiptir (143). Bu sayede lezyonlu bölgelerin açılmasını sağlarlar (144, 145).

XPG'nin hasarın 3' ucundan, XPF/ERCC1 proteininin 5' ucundan kesmesi ile kesme işlemi biter. Çıkarılan hasarlı oligonükleotid, XPC-HR23B tarafından uzaklaştırılır (146).

XPF/ERCC1 yapı-spesifik endonükleazdır. Lezyonun 5' ucundan ayrılmasını sağlar (147). XPG ise NER'deki ikinci yapı-spesifik endonükleazdır ve lezyonu 3' ucundan keser.

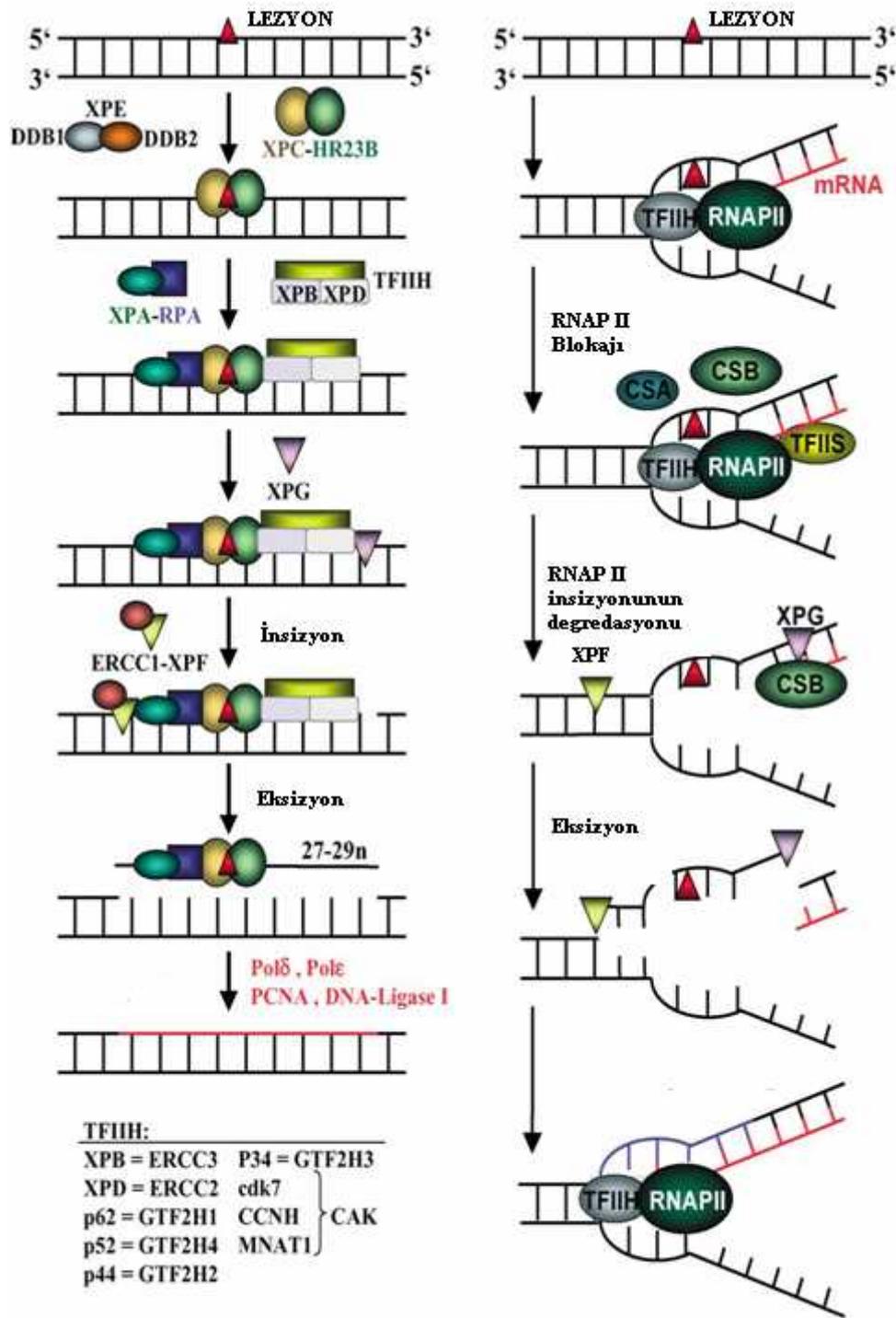
Tamir sentezi ve ligasyon için PCNA, DNA polimeraz ve DNA polimeraz , RPA ve DNA ligaz I'e ihtiyaç duyulur (132). DNA polimeraz ve DNA polimeraz replikatif polimerazlardır. Bunlar yüksek hızda DNA'yı replike edebilirler ve çok düşük hata oranları vardır. Bunlara ek olarak 3' 5' ekzonukleazlar, replikatif polimerazlar ile ilişkilidir. Araya giren her yanlı bazı uzakla tırma yeteneğine sahiptirler (148).

DNA ligaz I ile ligasyon gerçekleşir (149, 150).

## **2. Transkripsiyonla İlişkili Nükleotid Kesip Çıkarma Tamiri (TC-NER):**

Belirgin olarak transkribe olan zincirdeki DNA lezyonlarını hedef alır (151). Transkribe olan DNA transkribe olmayan DNA'ya göre daha hızlı tamir edilir. Bu şekilde hücrenin ölümü engellenmiş olur (135).

TC-NER'de lezyonun tanımlanması dışında kalan basamaklar GG-NER ile aynıdır (150). Lezyonlu DNA'nın transkripsiyonu sırasında RNA polimeraz II lezyonda durur ve GG-NER'deki XPC-HR23B kompleksi yerine CBS (sistationin beta sentaz) proteini görev alır. Bu protein RNA polimeraz II'yi ubiquitinleyerek parçalanmasını sağlar ve lezyonlu bölgeye TFIIH, XPA ve RPA proteinlerinin ulaşmasını sağlar. Diğer basamaklar GG-NER ile aynıdır (152, 153).



ekil 1.2 Nükleotid Kesip-Çıkarma Tamiri (NER) (131)

## 2.4 DNA Tamir Genleri

DNA tamirinde görev alan genler, genomik bütünlüğün korunmasında önemli rol oynamaktadır. Bugüne kadar insanda 130'dan fazla DNA tamir geni tanımlanmış olup (154) bu genlerden sadece yarısının fonksiyonu bilinmektedir (33).

DNA tamir genleri iki grup altında incelenmektedir. Bunlardan birincisi sinyal iletimi ve tamirin düzenlenmesi ile ilgili olan genler, ikincisi ise baz ve nükleotid çıkarma ve hatalı elementlerin onarımı ile ilgili genlerdir (102).

Bu çalışmada PKOS olgularında daha önce rapor edilen genomik kararsızlık ile DNA tamir genlerinin polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlandı. İnançlı çok sayıda DNA tamir geninden çalışılacak konumuzu oluşturan *XRCC1* (Arg194Trp, Arg399Gln), *APE1* (Asp148Glu) ve *XPB* (Lys751Gln) gen polimorfizimleri özetlenmiştir.

### 2.4.1 *XRCC1* (X-Ray Cross Complementing Group 1) Geni ve Polimorfizimleri

*XRCC1* geni, 19. kromozomun 19q13.2 bölgesinde lokalize olup 17 ekzonu olan, 633 aminoasit uzunluğunda ve yaklaşık 31.9 kb aralığında (155). Enzimatik aktivitesi tam olarak bilinmeyen *XRCC1* geninde bir adet N-terminal DNA binding ve iki adet de BRCT motifi bulunmaktadır (121, 156).

*XRCC1* ilk olarak, hem alkali ajanlara hem de iyonize radyasyona karşı hassasiyet gösteren mutant Çin hamsterinin yumurtalık hücre serisinde yokluğunun belirlenmesinin ardından tanımlanmıştır (121).

*XRCC1*, 20'den fazla üyesi olan 'X-ray repair cross complementing' gen ailesinin bir üyesidir. Bu genin ürünleri, farklı mekanizmalar boyunca DNA tamirinde görev almaktadır. Örneğin *XRCC2* ve *XRCC3* çift zincir homolog rekombinasyonda *XRCC4-XRCC7* ise çift zincir kırıklarının tamirinde görevli nonhomolog uç birleştirme tamir (NHEJ) yolunda görev alır. *XRCC1* ise, BER yoluyla tek zincir kırıklarının tamirinde tanımlanmıştır (157).

*XRCCI* baz eksizyon tamiri ve tek sarmal kırıklarının tamirinden sorumlu bir gendir (156, 158). *XRCCI* iyonize radyasyondan sonra oluşan dimerlerin ayrılmasını sağlar (159). Bu gen ürününün hücrelerdeki eksikliği hidrojen peroksit, iyonize radyasyon ve alkali ajanlara karşı artırı hassasiyete neden olup mutant hücrelerde spontan kromozomal aberasyonların ve delesyonların frekansını yükseltmektedir (156).

*XRCCI*'in tek zincir kırıklarının tamirindeki rolü birkaç invitro model ile açıklanmıştır. Çin hamsterlarının yumurtalık hücrelerinde *XRCCI* proteini eksikliğinin, tek zincir kırıklarının seviyesinde ve kardeş kromatid defektlerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (157). Hücrelerde *XRCCI*'in yokluğu, mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen hücrelerde LIG3 seviyesinin azalmasına neden olduğu da bildirilmiştir (120).

*XRCCI* çift zincir kırıklarının tamirine de katılmaktadır. 2004 yılında Audebert ve arkadaşları *XRCCI/LIG3* kompleksinin çift zincir kırıklarının tekrar birleşiminde gelişmesini göstermişlerdir (160). Ayrıca Çin hamsterlarının yumurtalık hücre serisinin EM9 hücrelerinde oluşan çift zincir kırıklarının (DSBs) tamirinde, *XRCCI* S371L mutantlarının başarısız olduğu gözlenmiştir (159).

*XRCCI* bir platform proteindir. DNA polimeraz, *APE1*, hOGG1, poly (ADP-riboz) polimeraz ve DNA ligaz3 gibi BER'in birçok komponenti ile ilişkili halindedir (161).

Dokularda *XRCCI*'in ekspresyonu fazladır fakat defektlidir. *XRCCI* özellikle primatlarda, testis dokusunda, yumurtalık ve kardiyak dokularda oldukça yüksek düzeyde ifade edilir. *XRCCI*'in ifadesi rodent dokusunda da benzer şekilde düzenlenmektedir. Gonodal dokularda *XRCCI*'in yüksek ifadesi DNA tamiri için anahtar bir rol oynadığını düşündürmektedir (157).

*XRCCI* geninde 90 adet insan hücre serisi kullanılarak 27 adet gen varyasyonu tespit edilmiştir. Bunlardan üçü 5'UTR'de, oniki tanesi insersiyon/delesyon, dört tanesi sinonim SNP ve sekiz tanesi ise nonsinonim SNP'dir (156).

Son zamanlarda Çin popülasyonunda *XRCC1* geninde 5'UTR (5'-untranslated bölge), -77 T C lokalize olan ba ka bir varyant daha tanımlanmıştır. Daha sonra bu polimorfizmin Kafkas toplumunda yüksek frekansta olduğu doğrulanmıştır (162).

Nickerson laboratuvarları tarafından da be adet nonsinonim SNP tanımlanmıştır. Bunlar epidemiyolojik ara tırmalarda %5'den daha düşük prevalansa sahiptir ve çalı ılmamıştır. Bunlardan biri P161L, di eri Y576S'tir (156).

*XRCC1* geninde bulunan tek nükleotid polimorfizmi 60'dan fazladır (157). Bütün tek nükleotid polimorfizimleri, *XRCC1* geninin fonksiyonunda de i imlere ve DNA tamir kapasitesinde bozulmalara sebep olmaktadır. 1998'de Shen ve arkadaşları *XRCC1* geninde üç polimorfizm tanımlamışlardır (162). Bunlar ekzon 6'da kodon 194, ekzon 9'da kodon 280 ve ekzon 10'da kodon 399'dur (156). Populasyondaki yüksek sıklıklarından dolayı kodon 194 ve kodon 399 kanser epidemiyolojisi ara tırmalarında en çok çalı ılan varyantlardır (157).

*XRCC1*'in Arg194Trp polimorfizmi *XRCC1*'in sıklıkla çalı ılan SNP'lerinden biridir. Bu SNP, *XRCC1* proteininin hidrofobik bölgesinde meydana gelmektedir. NLS domaininde olup ve di er domainlerle yakınlığı nedeni ile DNA polimeraz ve APE1 ile interaktif bir ili ki içerisinde (163). Bu nedenle *XRCC1* defektleri, protein konformasyonunu bozarak DNA tamir fonksiyonlarını ve kanser duyarlılığını de i tirebilmektedir (164). *XRCC1* Arg194Trp polimorfizminin kanser ile ili kisini ara tırmaya yönelik birçok çalı ma rapor edilmiştir (156, 165, 166, 167).

*Arg399Gln*, *XRCC1*'in en yaygın SNP'sidir (162). Bu bölge *XRCC1*'in PARP (Poly-ADP-Riboz Polimeraz) molekülü ile birlikte kompleks meydana getirdi i bölge olmasından ötürü çok önemli polimorfik bir bölgedir (168). Taylor ve arkadaşları, tek zincir kırıklarının etkili tamiri için kritik bir öneme sahip olduğunu vurgulamışlardır (162). *XRCC1* Arg399Gln bakımından, mutant hücrelerin iyonize radyasyon, UV, hidrojen peroksit ve mitomisinC duyarlılığının arttığı bilinmektedir (164).

*XRCC1* Arg399Gln gen polimorfizminin farklı kanser türlerinde farklı ili kiler gösterdiği rapor edilmiştir. Örne ğin nonmelanoma deri kanseri, özofagus ve mesane

kanserleri için risk azalmı tır. Fakat akci er ve mide kanserleri için risk artmı tır (156). Arg399Gln polimorfizminin Gln varyant allelinin koroner arter hastalı ı ile ili kisi ara tırılmı ancak herhangi bir ili ki saptanamamı tır. Ancak MN frekansı koroner arter hastalarında kontrollere oranla daha yüksek olarak belirlenmi fakat hastalı ın iddeti ile ili kili bulunamamı tır (169). SCE frekansı Gln varyant alleli varlı ında sigara içenlerde içmeyenlere göre artmı tır (170). Benzene maruz kalan i çilerde de kodon 399 Arg/Gln ve Gln/Gln genotiplerine sahip olanlarda kromozom aberasyonlarının frekansının attı ı da veriler arasındadır (171).

#### **2.4.2 APE1 (APE Endonükleaz) Geni ve Polimorfizmleri**

Apuritik/Apirimidinik (AP) endonükleazlar BER'de AP bölgesinin i lenmesi ve tanınmasında önemli enzimlerdir (124).

APE Endonükleaz (*APE1*) geni, 14q11.2-12 kromozom bölgesinde olup 4 intron ve 5 ekzondan oluşur (124). 35 kDa a ırlı ında 318 amino asitlik bir protein kodlar (121) ve multifonksiyonel bir protein olup nukleusta (119, 121) bazı hücre tiplerinde ise mitokondri ve sitoplazmada lokalizedir (121, 172).

DNA'dan DNA glikozilazlar aracılı ı ile hasarlı bazların kaldırılması apuritik/apirimidinik (AP) bölgenin ekillenmesine neden olur (16). Bir AP endonükleaz BER'de kritik bir öneme sahiptir (121). *APE1* çok fonksiyonlu bir protein olup sadece AP bölgelerin tamirinden sorumlu değildir. Aynı zamanda transkripsiyon faktörlerinin korunmasında oksidasyon-redüksiyon (redoks) faktörü olarak da fonksiyon görmektedir (119, 121). Bununla birlikte hücrel apoptozis ile yakın bağlantılı olduğu gösterilmiştir (121).

Memeliler aynı zamanda APE2 proteinine de sahiptir. Fakat bu protein nispeten daha zayıf AP bölge-spesifiktir (173).

Apuritik/aprimidinik bölgeler mutajenik olup hücrenin ölümüne neden olabilirler (174). Farelerde homozigot APE (*APEX*) delesyonunun, embriyonik ölüme sebep olduğu gösterilmiştir. *APEX* +/- heterozigot farelerin ise oksidatif strese karşı duyarlı olduğu saptanmıştır (124). Endojen reaktif oksijen türleri,

beyin hücreleri gibi her bir memeli hücresinde her gün yaklaşık olarak 50.000 ile 200.000 arasında AP bölgelerinin oluşmasına neden olabilmektedir (174).

*APE1*'de ilk rapor edilen missens mutasyonlar Lue104Arg, Glu126Asp, Asp283Gly, Gly306Ala ve Asp148Glu'dur. Günümüzde Asp148Glu substitüsyonunun polimorfik bir varyant olduğu belirtilmiştir (16). Asp148Glu *APE1*'in en sıklıkla çalışılan varyantlarından biri olup birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Mesane, kolorektal, meme, pankreas, baş ve boyun, lösemi, tiroid gibi birçok kanser türü ile ilişkilendirilmiştir (175).

Çin'de yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında *APE1* Asp148Glu polimorfizmi ile akciğer kanserinin gelişimi arasında önemli bir ilişki belirlenmiştir. Deng ve arkadaşları sigara içenler ile içmeyenler arasında yaptıkları bir vaka kontrol çalışmasında sigara içmeyenlerde *APE1* Asp148Glu polimorfizminin akciğer kanserinin gelişiminde koruyucu bir rol oynadığını bildirmiştir (176). Tüm bu verilerle birlikte Asp148Glu Asp/Glu polimorfizminin kanser gelişimi için düşük penetrans etki gösterdiği de bir meta analiz çalışması ile rapor edilmiştir (177).

Kanserin dışında *APE1* ifadesinin Amiyotrofik Lateral Skleroz-Motor Nöron Hastalığı (ALS) ve sporadik ALS hastalarında azaldığı da gösterilmiştir (178).

Bu polimorfizmlerden başka 20 endometrial tümör incelenmiş ve tümörlerin üçünde somatik bir mutasyon bulunmuştur. Bunlardan ikisi proteinin aminoasit bileşiminde de değişiklik ile (Pro112Leu ve Arg237Cys) dimeri ise prematür stop kodonu ile sonuçlanmıştır (16).

### **2.4.3 XPD (Xeroderma Pigmentosum Group D) Geni ve Polimorfizmleri**

19. kromozomun q kolunun 13.3 bölgesine lokalize olan *XPD* geni aynı zamanda *ERCC2* (Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency, Group2) olarak da adlandırılmaktadır (134). *XPD* geni 23 ekzondan oluşmuştur ve transkripsiyon ürünü 761 amino asitten meydana gelen bir protein olup 86.9 kDa moleküler ağırlığındadır (28).

*XPD*, ATP ba ımlı 5' 3' DNA helikaz aktivitesine sahiptir. NER mekanizmasının i leyi i sırasında DNA çift zincirinin açılması i leminde rol aldı ı dü ünülmektedir (28).

nsanda *XPD* genindeki nokta mutasyonları (xeroderma pigmentosum, trikothiodistrophy ve cockayne sendromu) ya lanma, bazı mental ve büyüme gerilikleri, kansere yatkınlık gibi yüksek mutasyon frekansı olan yüksek UV-ı ı na duyarlılıkla karakterize DNA tamir eksikli i hastalıklarına neden olmaktadır (179). Bu mutasyonların ço u proteinin C-terminalinde lokalizedir (134). *XPD* geninde yakla ık olarak 100 mutasyon tanımlanmı tır (28). Nokta mutasyonlarının bir kısmı hastalıkların sebebidir ve bu mutasyonlar hastalarda homozigot olarak saptanmı tır (28, 134).

*XPD* geninde 8 kodon tek nükleotid polimorfizmi (4 sinonim ve 4 amino asit substitüsyonu) ve 138 intronik National Center for Biotechnology Information's SNP database tanımlanmı tır (180, 181).

En sık görülen mutasyonlar kodon 156, 312, 711 ve 751 olup allel frekansları %25'den büyüktür (134). Dört polimorfizm amino asit de i imiyle sonuçlanır (28). Özellikle G'nin A'ya substitüsyonu ile olu an kodon 312 (Asp312Asn)'de aspartik asit asparajin, A'nın C'ye substitüsyonu sonucu olu an kodon 751 (Lys751Gln)'de lizin glutamin (182), kodon 199'da izolosin metionin, kodon 201'de histidin tirozin amino asit de i imleri (28) az veya çok olmak üzere proteinin etki mekanizmasında de i ikliklere yol açarak tamir sisteminde bozulmalara ve karsinogeneze yol açabilmektedir (183). Kodon 199 ve kodon 201 polimorfizmleri daha nadir olup allel frekansı yakla ık olarak %4'tür (28).

*XPD* varyantlarının fonksiyonel önemini anlamak için yapılan çalı malar, kromozom aberasyonlarını, p53 mutasyonlarının, DNA tamir kapasitesindeki de i iklikler ve DNA eklentilerinin ekilerini kapsayan çalı malardır (181).

*XPD* Lys751Gln, *XPD* genindeki en yaygın SNP olup en sıklıkla çalı ılan SNP'lerin ba ında gelmektedir. Allelik frekansı farklı etnik gruplarda %9'dan %37'ye kadar çıkmaktadır. Literatürde biyolojik test ölçümleri kullanılarak yapılan

bazı çalı malarda DNA tamir kapasitesi ve *XPD* varyantları arasında anlamlı bir ili ki oldu u gösterilmi tir. Bu çalı malardan denek sayısı en az olan meme kanseri tanısı almı 31 kadın, kodon 751 *XPD* Lys/Lys genotipi açısından de erlendirilmi ve X ı mı kaynaklı DNA hasarının tamirinin azaldı ı yönünde saptamalar yapılmı tır. Bireylerde bir veya iki Gln alleli ile homozigot wild tip alleli için kromozom aberasyonları daha yüksek seviyelerde bulunmu tur (28).

*XPD* Lys751Gln polimorfizminin koroner arter hastalı ı ile ili kisi ara tırılmı ancak herhangi bir ili ki saptanamamakla birlikte MN frekansı koroner arter hastalarında kontrollere oranla daha yüksek olarak belirlenmi fakat hastalı ın iddeti ile ili kili bulunamamı tır (169). Farklı *XPD* allelllerinin kromozomal aberasyonlar (184), SCE frekansı, DNA katılım ürünleri ile ili kili oldu u DNA tamir kapasitesini azalttı ı tespit edilen veriler arasındadır. *XPD* 751Gln allelinin ba ve boyun, melanoma ve akci er kanseri riskini artırdı ı rapor edilmi tir (169).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

PKOS ve kontrol gruplarında XRCC1 (Arg194Trp ve Arg399Gln), APE1 (Asp148Glu), ve XPD (Lys751Gln) polimorfizmini ara tırmak amacı ile çalı mamızda kullandı ımız araç-gereçler, sarf malzemeler ve uyguladı ımız yöntemler sırası ile a a ıda belirtilmi tir.

#### 3.1 Örneklerin Seçimi

##### **Hasta Grubunu Olu turan Bireylerin Çalı maya Dahil Edilme Kriterleri**

nönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Kadın Hastalıkları ve Do um Poliklini i'ne ba vuran ve 2003 Rotterdam kriterlerine göre PKOS tanısı almı 18-40 ya ları arasında olan ve son altı ay içerisinde hir utizm veya herhangi bir hormon veya steroid tedavisi almamı ba ka hastalı ı bulunmayan PKOS'lu 114 kadından menstrual periyodun 3.gününde EDTA'lı tüplere kan örnekleri alınmı tir.

Hasta grubunu olu turan kadınlar, gönüllü bilgilendirme formunu okuyup ara tırmaya katılmayı kabul ettiklerine dair imzaları alındıktan sonra çalı maya dahil edilmi lerdir.

##### **Kontrol Grubunu Olu turan Bireylerin Çalı maya Dahil Edilme Kriterleri**

nönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Kadın Hastalıkları ve Do um Poliklini i'ne ba vuran ve 18-40 ya ları arasında olan ve son üç ay içerisinde herhangi bir tedavi almamı sa lıklı 91 kadından, menstrual periyodun 3. gününde EDTA'lı tüplere kan örnekleri alınmı tir.

Kontrol grubunu olu turan kadınlar, gönüllü bilgilendirme formunu okuyup ara tırmaya katılmayı kabul ettiklerine dair imzaları alındıktan sonra ara tırmaya dahil edilmi lerdir.

Bu çalı manın protokolü önü Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmı tir. Etik kurul onayı ekler bölümündedir.

### 3.2 Alet ve Cihazlar

1. Isı blo u (Wealtec)
2. Mikro santrifüj (Hettich Mikro 20)
3. Derin dondurucu (-20°C) (Regal)
4. Vorteks (Nüve, NM 110)
5. Otomatik pipet (20, 100, 200, 1000 µl) (Eppendorf)
6. Real-time PZR cihazı (Roche, LightCycler 2.0)

### 3.3 Sarf Malzemeler

1. DNA izolasyon kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche Diagnostic, Mannheim, Germany)
2. LC™ FastStart DNA Master HybProbe kit (Roche Diagnostics Mannheim, Germany),
2. LightSNiP *XRCCI* (Arg194Trp) (TIB MOLBIOL, Berlin, Germany)
3. LightSNiP *XRCCI* (Arg399Gln) (TIB MOLBIOL, Berlin, Germany)
4. LightSNiP *APEI* (Asp148Glu) (TIB MOLBIOL, Berlin, Germany)
5. LightSNiP *XPD/ERCC2* (Lys751Gln) (TIB MOLBIOL, Berlin, Germany)

### 3.4 Yöntemler

#### 3.4.1 Biyokimyasal ncelemeler

LH, FSH, açlık insülin miktarı, total testeosteron, DHEA-S, estradiol seviyesi, SHBG düzeyi Immulite 2000, açlık glukoz düzeyleri ise Architect cihazı ile belirlenmiştir. Adı geçen biyokimyasal parametreler, nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Kadın Do um Hastalıkları ve Do um AD tarafından istem yapılan testler olup hastanemiz merkez laboratuvarında çalı ılmı tır.

Hasta ve kontrol gruplarında HOMA-IR de erleri, açlık serum insülin de eri ( $\mu\text{IU/mL}$ ) $\times$ açlık glukoz (mg/dL)/405 olarak hesaplanmıştır (67).

Hasta ve kontrol gruplarının vücut kitle indeksi de erlendirilmesi, vücut kütlesi (kg) / boy<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>) olarak yapılmı tır (23).

### 3.4.2 Polimorfizmlerin Belirlenmesi

Bu çalı mada hasta ve kontrol grubunu olu turan tüm bireylerden 2 ml periferik kan EDTA'lı tüplere alınarak a a ıdaki çalı malar yapılmı tır.

#### 3.4.2.1 Periferik Kandan DNA zolasyonu

Periferik Kandan DNA izolasyonu için “High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics Mannheim, Germany)” kullanılmı tır. Kit içerisinde parçalama tamponu (Lizis Buffer), ba lama tamponu (Binding Buffer), proteinaz K çözültisi (Liyofilize durumda olan proteinaz K, 4.5 ml distile su eklenerek çözüdür. Elde edilen solusyon -15/-25°C’de saklanır.), inhibitör yok edici tampon (Inhibitor Removal Buffer) (Bu tampon, kendi i esinde mevcut olan tampona, 20 ml saf etanol eklenip hafifçe karı tırılarak hazırlanır), yıkama tamponu (Wash Buffer) (Bu tampon i esinde mevcut olan tampona 80 ml saf etanol eklenip hafifçe karı tırılarak hazırlanır) ve elüsyon tamponu (Elution Buffer) bulunmaktadır.

DNA izolasyonu için öncelikle kuru ısı blo u, 70°C’a getirilir. Ependorf tüpüne yeterli miktarda (bir örnek için 200 µl) elüsyon tamponu konulur ve 70°C’da kuru ısı blo una daha sonrasında kullanılmak üzere yerle tirilir.

Sırası ile a a ıdaki i lemler yapılır:

1. Ekstraksiyon yapılacak numune sayısı kadar 1.5 ml’lik ependorf tüp hazırlanıp numaralandırılır.
2. EDTA’lı tüplerde bulunan kan örneklerinin her birinden ayrı ayrı olmak üzere 200 µl alınır ve numaralandırılmı olan ependorf tüplere da ıtılır.
3. Aynı ependorf tüplere 200 µl parçalama tamponu, 200 µl ba lama tamponu ve 40 µl proteinaz K ilave edilir.
4. Vorteks yapılır ve kuru ısı blo unda 70°C’de 10 dakika inkübe edilir.

5. inkübasyon sonrası ependorf tüplerin kapakları açılarak 100 µl 2-propanol (saf) ilave edilir.

6. Vorteks yapılır ve ependorf tüpteki tüm miktar daha önceden toplama tüpü içerisine yerle tirilen ve numaralandırılan kolonlara eklenir.

7. 1 dakika 10000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılır ve yeni kolleksiyon tüp takılır.

8. 500 µl inhibitör removal tamponu tüplerin kapakları açılarak ilave edilir.

9. 1 dakika 10000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonrası kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılır ve kolon yeni kolleksiyon tüpüne takılır.

10. Kolona 500 µl yıkama tamponu ilave edilir.

11. 1 dakika 10000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonrası kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılır ve yeni kolleksiyon tüp takılır.

12. Kolona 500 µl yıkama tamponu eklenir.

13. 1 dakika 10000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonrası kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılır ve kolon yeni kolleksiyon tüpüne yerle tirilir.

14. 1 dakika 13000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonrası kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılır ve kolon 1.5 ml'lik steril ependorf tüplere yerle tirilir.

15. Daha öncesinde kuru ısı blo unda 70°C'da bekleyen elusyon tamponundan 200 µl ilave edilir.

16. 1 dakika 10000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonrası ependorf içindeki kolon atılır. Tüpün kapı ı kapatılır, izole DNA kullanılmak üzere -15/-25°C'de saklanır.

#### **3.4.2.2 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu**

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda temel mekanizma, nükleik asit amplifikasyonu ile e zamanlı olarak artı gösteren floresan sinyalinin ölçülerek kısa

sürede sonuçların elde edilmesidir. Ticari olarak geliştirilmiş birkaç tipi mevcuttur. Bu çalışmada LightCycler 2.0 sistemi kullanılmıştır.

Bu yöntemde genotipler "erime erisi analizi" ile belirlenmektedir. Erime erisi analizinin amacı hedef DNA'nın erime sıcaklığını ( $T_m$ ) belirlemek ve ürünleri erime sıcaklıklarına dayanarak analiz edebilmektir. Bunun için, PZR'de DNA amplifikasyonunun tamamlanmasından sonra, sıcaklık yavaş bir şekilde yükseltilerek her bir örnek için erime erisi oluşturulmuştur. Sıcaklık yükselmesi sırasında normal dizi ile polimorfizm içeren dizinin ayırımı gerçekleştirilmektedir. Erime sıcaklığı dizinin uzunluğu, baz sırasına ve G-C içeriğine bağlı olarak değişiklikler göstermektedir. Floresan/sıcaklık negatif türevinin sıcaklığa göre çizilmesiyle erime erileri, erime piklerine dönüştürülür.

### **Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Koşulları:**

Polimorfizmlerin belirlenmesi için ilgili gen bölgesi bir çift primer ve floresan etiketli prob kullanılarak çoğaltıldı. Bu amaçla LightSNiP assay (TIB-MolBiol, Berlin, Germany) ve "LC<sup>TM</sup> LightCycler FastStart DNA Master HybProbe Kit" kullanılarak LightCycler 2.0 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazında erime erisi analizine göre yapıldı. Reaksiyon karışımı, bir hasta için 20 µl hacimde 5 µl genomik DNA, 2 µl LC<sup>TM</sup> FastStart DNA Master miksi, 1 µl reagent mix, 1.2 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM) ve 10.8 µl H<sub>2</sub>O olmak üzere hasta sayısına uygun olarak hazırlandı ve cam kapiller tüplere dağıtıldı. Kapiller tüpler kapatılarak cihaza yerleştirildi.

Cihazın PZR programı; 95°C'de 10 dk'lık başlangıç denatürasyonunun ardından; 95°C'de 10 saniye denatürasyon, 60°C'de 10 saniye başlangıç ve 72 °C'de 15 sn uzamayı içeren 45 döngü olarak ve erime erisi analizi için, 95°C'de 20 sn denatürasyonu takiben ısı değişim oranı 20°C/sn olacak şekilde 40°C'ye kadar soğutma, sonra ısı değişim oranı 0.2°C/sn olacak şekilde 85°C'ye kadar tekrar ısıtma son olarak tekrar 40°C'de 30 sn son soğutma olacak şekilde ayarlandı (Tablo 3.1).

Her mutasyon için olguların genotiplendirilmeleri, çalışmada sonrasında oluşan erime derecelerine (melting temperature,  $T_m$ ) göre belirlenmiş olup her bir örneğe ait 640 nm dalga boyunda ölçülen floresanın negatif türevini sıcaklığa göre değerlendirilen ve amplikona özgün erime derecesini ( $T_m$ ) gösteren grafik elde

edilmi tir. Çalışma kapsamımızda bulunan her bir gene ait polimorfizmler yabancı ve mutant genotiplerde beklenen erime sıcaklığına göre de erlendirilerek hasta ve kontrol gruplarımızı oluşturan tüm bireylerin genotipleri belirlenmi tir.

Tablo 3.1. LightCycler 2.0 Termal Döngü Protokolü

Program	Denaturasyon	Cycling			Erime			Soğutma
Analysis Modu	None	Ölçme (Quantification)			Erime Erisi			
Döngü Sayısı	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Hedef Sıcaklık (°C)	95	95	60	72	95	40	85	40
inkubasyon süresi Hh:mm:ss	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:20	00:00:20	00:00:00	00:00:30
Sıcaklık Geçi Oranı (°C/s)	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	0.2	20.0
Okuma modu	Yok	Yok	Single	Yok	Yok	Yok	Sürekli	Yok

### 3.4.3 istatistiksel Analiz

Tüm veriler Statistical Package for Social Science Software” (SPSS, Inc, IL, USA) paket programına girilerek kodlanmış olup nicel veriler ortanca (min-max) ile nitel veriler sayı ve yüzde olarak belirtilmi tir. Değişkenlere ilişkin nicel veriler Shapiro Wilk normallik testi ile analiz edilmi tir. Gruplar arasında *XRCCI* (Arg194Trp), *XRCCI* (Arg399Gln), *APE1* (Asp148Glu) ve *XPD* (Lys751Gln) gen polimorfizmlerinin allel ve genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirleyebilmek için ‘Pearson ki-kare’ ve ‘Fisher’in kesin ki-kare’ analizi ve Odds Ratio (OR) kullanılmıştır. Nicel verilere ilişkin iki ve daha fazla grupların karşılaştırılmasında unpaired t-test, Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. P < 0.05 istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmi tir.

Hasta ve kontrol gruplarında, *XRCCI* (Arg194Trp), *XRCCI* (Arg399Gln), *APE1* (Asp148Glu) ve *XPD* (Lys751Gln) gen polimorfizmlerinin her biri için popülasyon

denge kontrolü yapılarak genotip da ılımlarının Hardy-Weinberg e itli ine uygun oldu u tespit edilmi tir.

## 4. BULGULAR

Bu çalı ma nönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Kadın Hastalıkları ve Do um Poliklini i'ne ba vurarak PKOS tanısı almı 114 hasta ve 91 sa lıklı kadından alınan kan örnekleri kullanılarak yapılmı tır. Ya aralı ı 18-40 arasında de i en bireylerden olu an kontrol ve hasta gruplarımızda öncelikle klinik ve laboratuvar bulguları de erlendirilmi ve devamında da *XRCCI* (Arg194Trp ve Arg399Gln), *APEI* (Asp148Glu) ve *XPD* (Lys751Gln) polimorfizmleri bakımından genotipler belirlenerek gruplar arası farklılıklar ara tırılmı tır.

### 4.1 Klinik ve Biyokimyasal Bulgular

Çalı mamıza dahil edilen PKOS olgularının klinik ve laboratuvar bulguları, nönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Kadın Hastalıkları ve Do um Anabilim Dalı tarafından de erlendirilmi tir. Bu de erlendirmeden elde edilen klinik bulgular ve biyokimyasal sonuçlar kontrol grubu ile birlikte Tablo 4.1'de gösterilmi tir. Benzer ya larda bireylerden olu an PKOS'lu hasta ve kontrol grubu kar ıla tırıldı nda olguların LH, estradiol, DHEA-S, açlık insülin, açlık glukoz ve HOMA-IR de erleri PKOS'lu kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oldu u belirlenmi tir. FSH ve SHBG de erleri ise PKOS'lu kadınlarda kontrol grubuna göre daha dü ük olarak saptanmı tır. VK , ya ve testosteron açısından de erlendirme yapıldı nda ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemi tir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. PKOS'lu hasta ve kontrol gruplarının klinik bulguları ve biyokimyasal sonuçları

Parametre	Grup	Median	Min	Max	P de eri
VK (kg/m <sup>2</sup> )	Kontrol	23,43	20,18	31,12	0.17
	Hasta	25,84	20,12	34,82	
Ya (yıl)	Kontrol	31,51	18	40	0,11
	Hasta	30,09	18	40	
LH (mIU/mL)	Kontrol	5,80	1,60	14,40	0.0001
	Hasta	11,15	3,90	19,40	
FSH (mIU/mL)	Kontrol	5,30	2,60	16,00	0.0001
	Hasta	3,81	1,20	12,70	
Estradiol (pg/mL)	Kontrol	55,00	12,00	116,00	0.0001
	Hasta	88,50	46,00	252,00	
DHEA-S (µg/dL)	Kontrol	134,00	39,00	467,00	0.0001
	Hasta	205,00	48,00	585,00	
SHBG (nmol/mL)	Kontrol	79,00	10,00	143,00	0.0001
	Hasta	26,75	10,20	86,10	
Açlık nsulin (µIU/mL)	Kontrol	17,00	4,00	34,00	0.0001
	Hasta	28,00	11,90	42,60	
Açlık Glukoz (mg/dL)	Kontrol	96,00	49,00	128,00	0.0001
	Hasta	115,00	78,00	141,00	
HOMA-IR Index	Kontrol	3,98	,89	10,11	0.0001
	Hasta	7,83	3,42	13,33	
Testeosteron (ng/dL)	Kontrol	46,60	20,00	111,00	0.27
	Hasta	46,10	20,30	120,40	

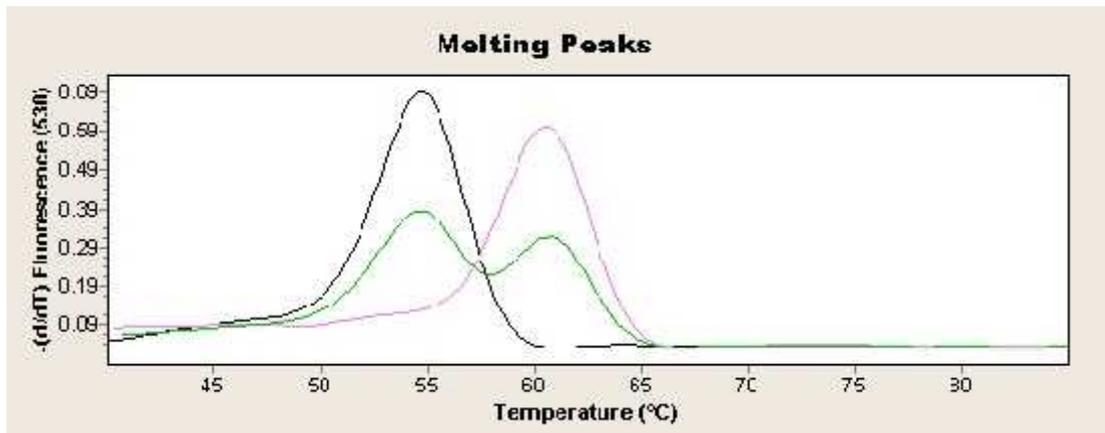
VK :Vücut Kitle ndeksi, LH: Lüteinizan Hormon, FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon, DHEA-S: Dehidroepiandrosteron-Sülfat, SHBG: Sex Hormonu Ba layan Globulin, HOMA-IR: Homeostazis Modeli - nsulin Direnci

## 4.2. PKOS ve Kontrol Gruplarında Polimorfizm Bulguları

### 4.2.1 XRCC1 Arg194Trp (rs 1799782) Polimorfizminin Analizi

Bu polimorfizmde 26304. nükleotid olan C (Sitozin), T (Timin) ile yer de i tirmektedir. Bu de i im ise polipeptid dizinde 194. aminoasit olan arjininin (Arg)'nin triptofan (Trp)'a de i mesi ile sonuçlanmaktadır.

Gerçek zamanlı PZR sonucunda elde ettiğimiz erime eğrilerinin analizinde ortalama olarak 54.7°C’de gözlenen erime eğrisinin varlığı Arg/Arg (homozigot normal) genotipi, 61°C’de gözlenen erime eğrisinin varlığı Trp/Trp (homozigot mutant) genotip ve hem 54.7°C’de ve hem de 61°C’de gözlenen erime eğrisinin varlığı ise Arg/Trp (heterozigot) genotip olarak değerlendirilmiştir (ekil 4.1) (LightSNiP assay TIB-MolBiol, Berlin, Germany).



ekil 4.1. *XRCC1* Arg194Trp’ün erime eğrisi analizi. Erime noktası ( $T_m$ ), Arg alleli için 54.7°C ve Trp alleli için de 61°C’dir. Grafikte gösterilen erime eğrilerinden siyah renk, homozigot normal genotipli; mor renk, homozigot mutant genotipli ve yeşil renk ise heterozigot genotipli bireye aittir.

*XRCC1* Arg194Trp polimorfizmi bakımından PKOS ve kontrol gruplarındaki tüm bireylerin genotipleri ekil 4.1’de tanımlandığı şekilde belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar ile her grupta *XRCC1* Arg194Trp polimorfizmi için genotip ve allel dağılımları hesaplanmıştır ve Tablo 4.2’de verilmiştir. Buna göre kontrol grubunda Arg/Arg genotipinde 78 (%85.79) ve Arg/Trp genotipinde 13 (%14.29) birey saptanırken Trp/Trp genotipinde bireye rastlanmamıştır. Hasta grubunda ise Arg/Arg genotipinde 99 (%86.84), Arg/Trp genotipinde 14 (%12.28) ve Trp/Trp genotipinden ise yalnızca 1 birey (%0.88) belirlenmiştir. Genotip frekansları bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar

arasındaki farkın anlamlı olmadığıdır (P>0.05). Mutant allel olan Trp'ı heterozigot veya homozigot (Arg/Trp veya Trp/Trp) olarak taşıyan bireylerin sayısı kontrol grubunda 13 (%7.14) ve hasta grubunda 15 (%7.02) olarak hesaplanmış olup istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlenmiştir (P>0.05) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. PKOS ve kontrol gruplarında *XRCCI* Arg194Trp polimorfizmi bakımından genotip ve allel frekanslarının dağılımı

	<b>Kontrol</b> N (%)	<b>Hasta</b> N (%)	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
<b>Genotipler</b>					
Arg/Arg	78 (85.71)	99 (86.84)			
Arg/Trp	13 (14.29)	14 (12.28)	0.16	0.69	1.18 (0.49-2.25)
Trp/Trp	0	1 (0.88)	0.17	1.0*	0.0 (0-22.42)
Arg/Trp, Trp/Trp	13 (7.14)	15 (7.02)	0.05	0.81	1.10 (4.6-2.62)
<b>Alleller</b>					
Arg	169 (92.85)	212 (92.98)			
Trp	13 (7.15)	16 (7.02)	0.0	0.96	

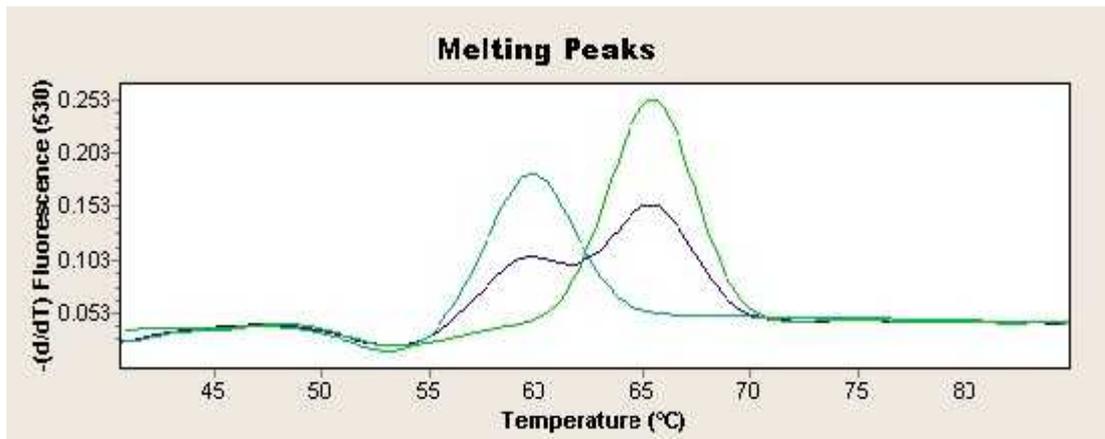
\*Fisher'in kesin ki-kare analizi, Pearson ki-kare analizi

PKOS ve kontrol gruplarında elde edilen bulgular, allel dağılımları bakımından da değerlendirilmiş olup sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir. Buna göre kontrol grubunda Arg allel sayısı 169 olup bu allelin frekansı %92.85 olarak ve Trp allel sayısı 13 olup allel frekansı %7.15 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda ise *XRCCI* geninin Arg allel sayısı 212 olup allel frekansı %92.98, Trp allel sayısı 16 olup allel frekansı %7.02 olarak belirlenmiştir. Allel sıklığı bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir (P>0.05).

#### 4.2.2 *XRCC1* Arg399Gln (rs25487) Polimorfizminin Analizi

Bu polimorfizmde, 28152. nükleotid olan G (Guanin), A (Adenin) ile yer de i tirmektedir. Bu de i im ise polipeptid dizinde 399. aminoasit olan arjininin (Arg)'nin glutamin (Gln)'e de i mesine neden olmaktadır.

Gerçek zamanlı PZR sonucunda elde etti imiz erime e rilerinin analizinde ortalama olarak 59.5°C' de gözlenen erime e risinin varlı ı Arg/Arg (homozigot normal), genotip 65.3°C' de gözlenen erime e risinin varlı ı Gln/Gln bakımından (homozigot mutant) genotip ve hem 59.5°C' de ve hem de 65.3°C' de gözlenen erime e risinin varlı ı ise Arg/Gln (heterozigot) genotip olarak de erlendirilmi tir ( ekil 4.2) (LightSNiP assay TIB-MolBiol, Berlin, Germany).



ekil 4.2. *XRCC1* Arg399Gln'un erime e risi analizi. Erime noktası (T<sub>m</sub>), Arg alleli için 59.5 °C ve Gln alleli için de 65.3°C dir. Grafikte gösterilen erime e rilerinden mavi renk, homozigot normal genotipli; ye il renk, homozigot mutant genotipli ve mor renk ise heterozigot genotipli bireye aittir.

*XRCC1* Arg399Gln polimorfizmi bakımından PKOS ve kontrol gruplarındaki tüm birelerin genotipleri ekil 4.2'de tanımlandı ı ekilde belirlenmi tir. Elde edilen bu sonuçlar ile her grupta *XRCC1* Arg399Gln polimorfizmi için genotip ve allel da ılımları hesaplanmı ve Tablo 4.3'de verilmi tir.

Buna göre kontrol grubunda Arg/Arg genotipinde 36 (%39.56) ve Arg/Gln genotipinde 43 (%47.25) birey saptanırken Gln/Gln genotipinde ise 12 (%13.19) bireye rastlanmıştır. Hasta grubunda ise Arg/Arg 53 (%46.49), genotipinde, Arg/Gln genotipinde 47 (%41.23) ve Gln/Gln genotipinden ise 14 (%12.28) birey belirlenmiştir. Genotip frekansları bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Mutant allel olan Gln'ı heterozigot veya homozigot (Arg/Gln veya Gln/Gln) olarak taşıyan bireylerin sayısı kontrol grubunda 67 (%36.81) ve hasta grubunda 75 (%32.90) olarak hesaplanmıştır olup istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. PKOS ve kontrol gruplarında *XRCC1* Arg399Gln polimorfizmi bakımından genotip ve allel frekanslarının dağılımı

	<b>Kontrol N (%)</b>	<b>Hasta N (%)</b>	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
<b>Genotipler</b>					
Arg/Arg	36 (39.56)	53 (46,49)			
Arg/Gln	43 (47.25)	47 (41.23)	0.97	0.32	1.35 (0.71-2.54)
Gln/Gln	12 (13.19)	14 (12.28)	0.27	0.60	1.26 (0,48-3.32)
Arg/Gln, Gln/Gln	67 (36.81)	75 (32.90)	0.02	0.88	1.04 (0.59-1.84)
<b>Alleller</b>					
Arg	115 (63.19)	153 (67.10)			
Gln	67 (36.81)	75 (32.90)	0.69	0.40	

Pearson ki-kare analizi

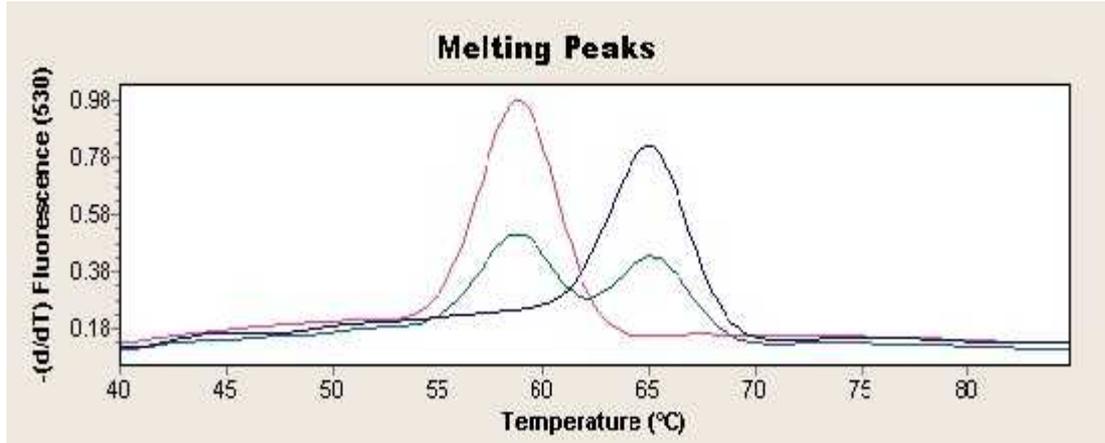
PKOS ve kontrol gruplarında elde edilen bulgular, allel dağılımları bakımından değerlendirilmiştir olup sonuçlar Tablo 4.3'de verilmiştir. Buna göre kontrol

grubunda Arg allel sayısı 115 olup bu allelin frekansı %63.19 olarak ve Gln allel sayısı 67 olup allel frekansı %36.81 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda ise *XRCCI* geninin Arg allel sayısı 153 olup allel frekansı %67.10, Gln allel sayısı 75 olup allel frekansı %32.90 olarak belirlenmiştir. Allel sıklığı bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ).

#### **4.2.3 APEI Asp148Glu (rs1130409) Polimorfizminin Analizi**

Bu polimorfizmde 2197. nükleotid olan T (Timin), G (Guanin) ile yer değiştirmektedir. Bu değişim ise polipeptid dizisinde 148. aminoasit olan asparjin (Asp)'in glutamik asit (Glu)'e değişmesine neden olmaktadır.

Gerçek zamanlı PZR sonucu elde ettiğimiz erime sıcaklıklarının analizinde ortalama olarak 58.5°C'de gözlenen erime sıcaklığının varlığı Asp/Asp (homozigot normal) genotip, 65°C'de erime sıcaklığının varlığı Glu/Glu bakımından (homozigot mutant) genotip ve hem 58.5°C'de ve hem de 65°C'de gözlenen erime sıcaklığının varlığı ise Asp/Glu (heterozigot) genotip olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.3) (LightSNiP assay TIB-MolBiol, Berlin, Germany).



ekil 4.3. *APE1* Asp148Glu'in erime e risi analizi. Erime noktası ( $T_m$ ), Asp alleli için 58.5°C ve Glu alleli için de 65 °C dir. Grafikte gösterilen erime e rilerinden mavi renk, homozigot normal genotipli; ye il renk, homozigot mutant genotipli ve mor renk ise heterozigot genotipli bireye aittir.

*APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından PKOS ve kontrol gruplarındaki tüm bireylerin genotipleri ekil 4.3'de tanımlandı ı ekilde belirlenmi tir. Elde edilen bu sonuçlar ile her grupta *APE1* Asp148Glu polimorfizmi için genotip ve allel frekanslarının da ılımları hesaplanmı ve Tablo 4.4'de verilmi tir.

Buna göre kontrol grubunda Asp/Asp genotipinde 62 (%68.13) birey Asp/Glu genotipinde 23 (%25.27) birey saptanırken Glu/Glu genotipinde de 6 (%6.60) bireye rastlanmı tir. Hasta grubunda ise Asp/Asp genotipinde 42 (%36.84), Asp/Glu genotipinde 58 (%50.88) ve Glu/Glu genotipinden ise 14 (%12.28) birey belirlenmi tir. Genotip frekansları bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak de erlendirildi inde gruplar arasındaki farkın anlamlı oldu u saptanmı tir ( $P < 0.05$ ). Mutant allel olan Glu'yu heterozigot veya homozigot (Asp/Glu ve Glu/Glu) olarak ta ıyan bireylerin sayısı kontrol grubunda 35 (%19.23) ve hasta grubunda 86 (%37.72) olarak hesaplanmı olup istatistiksel olarak de erlendirildi inde gruplar arasındaki farkın anlamlı oldu u saptanmı tir ( $P < 0.05$ ) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. PKOS ve kontrol gruplarında *APEI* Asp148Glu polimorfizmi bakımından genotip ve allel frekanslarının dağılımı

	<b>Kontrol N (%)</b>	<b>Hasta N (%)</b>	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
<b>Genotipler</b>					
Asp/Asp	62 (68.13)	42 (36.84)			
Asp/Glu	23 (25.27)	58 (50.88)	17.87	0.0001	0.26 (0.14-0.05)
Glu/Glu	6 (6.60)	14 (12.28)	5.94	0.015	0.29 (0.10-0.81)
Asp/Glu, Glu/Glu	35 (19.23)	86 (37.72)	21.47	0.0001	0.27 (0.15-0.48)
<b>Alleller</b>					
Asp	147 (80.77)	142 (62.28)			
Glu	35 (19.23)	86 (37.72)	16.63	0.0001	

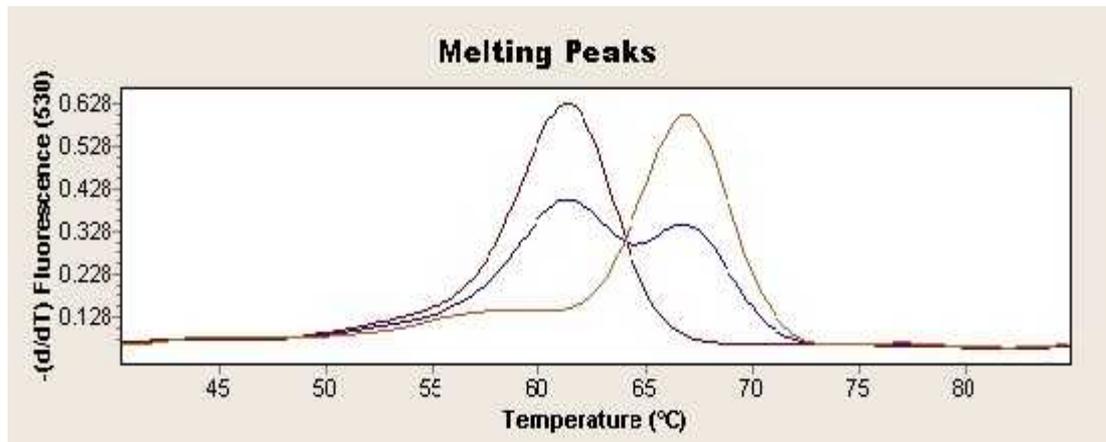
Pearson ki-kare analizi

PKOS ve kontrol gruplarında elde edilen bulgular, allel dağılımları bakımından da değerlendirilmiştir olup sonuçlar Tablo 4.4'de verilmiştir. Buna göre kontrol grubunda Asp allel sayısı 147 olup bu allelin frekansı %80.77 olarak ve Glu allel sayısı 35 olup allel frekansı %19.23 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda ise *APEI* geninin Asp allel sayısı 142 olup allel frekansı %62.28, Glu allel sayısı 86 olup allel frekansı %37.72 olarak belirlenmiştir. Allel sıklığı bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir (P < 0.05).

#### 4.2.4 *XPD* Lys751Gln (rs13181) Polimorfizminin Analizi

Bu polimorfizmde 35931. nükleotid olan A (Adenin), C (Sitozin) ile yer değiştirmektedir. Bu değişim ise polipeptid dizinde 751. aminoasit olan lizin (Lys)'nin glutamin (Gln)'e değişmesine neden olmaktadır.

Gerçek zamanlı PZR sonucu elde edilen erime e rilerin analizinde ortalama olarak 61°C’ de erime e risinin varlı ı Lys/Lys bakımından homozigot normal genotip, 67°C’ de gözlenen erime e risinin varlı ı Gln/Gln bakımından homozigot mutant genotip ve hem 61°C’de ve hem de 67°C’ de gözlenen erime e risinin varlı ı ise Lys/Gln bakımından heterozigot genotip olarak de erlendirilmi tir ( ekil 4.4) (LightSNiP assay TIB-MolBiol, Berlin, Germany).



ekil 4.4. *XPD* Lys751Gln’ün erime e risi analizi. Erime noktası ( $T_m$ ), Lys alleli için 61°C ve Gln alleli için de 67°C dir. Grafikte gösterilen erime e rilerinden siyah renk, homozigot normal genotipli; gri renk, homozigot mutant genotipli ve mor renk ise heterozigot genotipli bireye aittir.

*XPD* Lys751Gln polimorfizmi bakımından PKOS ve kontrol gruplarındaki tüm bireylerin genotipleri ekil 4.4.’de tanımlandı ı ekilde belirlenmi tir. Elde edilen bu sonuçlar ile her grupta *XPD* Lys751Gln polimorfizmi için genotip ve allel frekanslarının da ılımları hesaplanmı ve Tablo 4.5’te verilmi tir.

Buna göre kontrol grubunda Lys/Lys genotipinde 25 (%27.47) ve Lys/Gln genotipinde 43 (%47.25) birey saptanırken Gln/Gln genotipinde ise 23 (%25.28) bireye rastlanmı tır. Hasta grubunda ise Lys/Lys genotipinde 33 (%28.94), Lys/Gln genotipinde 54 (%47.37) ve Gln/Gln genotipinden ise 27 (%23.69) birey belirlenmi tir.

Genotip frekansları bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak de erlendirildi inde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Mutant allel olan Gln'ı heterozigot veya homozigot (Lys/Gln ve Gln/Gln) olarak taşıyan bireylerin sayısı kontrol grubunda 89 (%48.90) ve hasta grubunda 108 (%47.37) olarak hesaplanmıştır olup istatistiksel olarak de erlendirildi inde gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. PKOS ve kontrol gruplarında *XPD* Lys751Gln polimorfizmi bakımından genotip ve allel frekanslarının dağılımı

	<b>Kontrol N (%)</b>	<b>Hasta N (%)</b>	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>
<b>Genotipler</b>					
Lys/Lys	25 (27.47)	33 (28.94)			
Lys/Gln	43 (47.25)	54 (47.37)	0.02	0.88	1.05 (0.52-2.14)
Gln/Gln	23 (25.28)	27 (23.69)	1.67	0.18	0.15 (0.03-0.59)
Lys/Gln, Gln/Gln	89 (48.90)	108 (47.37)	0.08	0.78	0.75 (0.38-1.48)
<b>Alleller</b>					
Lys	93 (51.10)	120 (52.63)			
Gln	89 (48.90)	108 (47.37)	0.23	0.63	

Pearson ki-kare analizi

PKOS ve kontrol gruplarında elde edilen bulgular, allel dağılımları bakımından da de erlendirilmiştir olup sonuçlar Tablo 4.5'te verilmiştir. Buna göre kontrol grubunda Lys allel sayısı 91 olup bu allelin frekansı %51.10 olarak ve Gln allel sayısı 89 olup allel frekansı %48.90 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda ise *XPD* geninin Lys allel sayısı 120 olup allel frekansı %52.63, Gln allel sayısı 108 olup allel frekansı %47.37 olarak belirlenmiştir. Allel sıklığı bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak de erlendirildi inde gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ).

### 4.3 Polimorfizmler Arası Kombinasyonlar

Çalışma kapsamımızda bulunan *XRCCI* (Arg194Trp), *XRCCI* (Arg399Gln), *APE1* (Asp148Glu) ve *XPB* (Lys751Gln) polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarında tespit ettiğimiz frekansları Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5'te belirtilmiştir. Araştırmamızın sonucunda *XRCCI* Arg194Trp, *XRCCI* Arg399Gln ve *XPB* Lys751Gln polimorfizmleri açısından hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında allel ve genotip frekansları bakımından istatistiksel bir farklılık olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu polimorfizm bakımından kontrol ve hasta gruplarında genotip frekansları sırası ile Asp/Asp için %68.13 ve %36.84, Asp/Glu için %25.27 ve %50.88, Glu/Glu için ise %6.60 ve %12.28 olarak belirlenmiştir. Bu farklılıktan yola çıkarak *APE1* Asp148Glu polimorfizminin diğer polimorfizmler (*XRCCI* Arg194Trp, *XRCCI* Arg399Gln ve *XPB* Lys751Gln) ile olan kombinasyonunu araştırmak amacıyla yapılan analiz sonuçları Tablo 4.6'da verilmiştir. Buna göre;

*APE1* Asp148Asp ve *XRCCI* Arg194Arg birlikteli referans alındığında hasta ve kontrol grupları arasında *APE1* Asp148Glu genotipinin *XRCCI* Arg194Arg genotipi ile birlikteli bakımından ( $P=0.0001$ ) ve ayrıca *APE1* Asp148Glu+*APE1* Glu148Glu varyantlarının ve *XRCCI* Arg194Arg genotipi ile birlikteli ( $P=0.0001$ ) veya *XRCCI* Arg194Trp+*XRCCI* Trp194Trp varyant genotipleri ile birlikteli ( $P=0.016$ ) bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur.

*APE1* Asp148Glu genotipinin *XRCCI* Arg399Arg genotipi ile birlikteli için PKOS'lu hastalarda görülme sıklığının 3 kat ( $OR, 3.1; \%95 CI, 1.2-8.06$ ), *APE1* Asp148Glu+*APE1* Glu148Glu genotiplerinin ve *XRCCI* Arg399Arg genotipi ile birlikteli için ise PKOS'lu hastalarda görülme sıklığının 2 kat ( $OR, 2.78; \%95 CI, 1.15-6.68$ ) fazla olduğu belirlenmiştir.

*APE1* Asp148Glu varyant genotipinin *XPB* Lys751Gln ve Gln751Gln varyantları ile birlikteli için PKOS'lu hastalarda görülme sıklığının sırası ile 2 kat ( $OR, 2.67; \%95 CI, 1.13-6.31$ ) ve 3 kat ( $OR, 3.97; \%95 CI, 1.10-14.31$ ) fazla olduğu belirlenmiştir. *APE1* Asp148Glu genotipinin *XPB* Lys751Gln+*XPB* Gln751Gln

genotipleri (OR, 2.93 ; %95 CI, 1.3-6.61) ile birlikteli inin ve *APE1* Asp148Glu+*APE1* Glu148Glu varyantlarının *XPD* Lys751Gln+*XPD* Gln751Gln varyant genotipi ile birlikteli inin (OR, 2.7; %95 CI, 1.2-5.9) PKOS'lu hastalarda görülme sıklı ının 2 kat *APE1* Asp148Glu+*APE1* Glu148Glu varyant genotiplerinin *XPD* Lys751Lys genotipi ile birlikteli inin ise 4 kat (OR, 4.8; %95 CI, 1.3-17.2) fazla oldu u tespit edilmi tir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 PKOS ve kontrol gruplarında polimorfizmler arası kombinasyonlar

<b>XRCC1 Kodon194</b>	<b>APE1 Kodon148</b>	<b>Hasta %</b>	<b>Kontrol %</b>	<b>OR%95CI</b>	<b>P</b>	<b>X<sup>2</sup></b>
Arg/Arg	Asp/Asp	40 (35)	54 (60)	Referans		
Arg/Trp		2 (2)	8 (9)	0.33(0.06-1.6)	0.16	1.91
Trp/Trp		-	-	-	-	-
Arg/Trp+ Trp/Trp		2 (2)	8 (9)	0.33(0.06-1.6)	0.16	1.91
Arg/Arg	Asp/Glu	50 (45)	20 (22)	<b>3.37(1.74-6.5)</b>	<b>0.0001</b>	13.5
Arg/Trp		7 (6)	3 (3)	3.15(0.76-12.9)	0.09	2.7
Trp/Trp		1 (1)	-	-	-	-
Arg/Trp+ Trp/Trp		8 (7)	3 (3)	3.6(0.89-14.4)	0.057	3.6
Arg/Arg	Glu/Glu	10 (9)	5 (5)	2.7(0.85-8.5)	0.08	3.0
Arg/Trp		4 (4)	1 (1)	5.4(0.58-50.1)	0.10	2.6
Trp/Trp		-	-	-	-	-
Arg/Trp+ Trp/Trp		4 (4)	1 (1)	5.4(0.58-50.1)	0.10	2.6
Arg/Arg	Asp/Glu+Glu/Glu	60 (53)	25 (27)	<b>3.24(1.7-6.0)</b>	<b>0.0001</b>	14.2
Arg/Trp+ Trp/Trp		12 (11)	4 (4)	<b>4.05(1.2-13.4)</b>	<b>0.016</b>	5.7
<b>XRCC1 Kodon 399</b>						
Arg/Arg	Asp/Asp	23 (20)	24 (26)	Referans		
Arg/Gln		13 (11)	27 (30)	0.50(0.21-1.20)	0.12	2.4
Gln/Gln		6 (5)	11 (12)	0.56(0.18-1.79)	0.33	0.9
Arg/Gln+ Gln/Gln		19 (17)	38 (42)	0.52(0.23-1.15)	0.10	2.6
Arg/Arg	Asp/Glu	27 (24)	9 (10)	<b>3.1(1.2-8.06)</b>	<b>0.016</b>	5.7
Arg/Gln		25 (22)	23 (25)	1.13(0.50-2.53)	0.75	0.1
Gln/Gln		6 (5)	1 (1)	6.2(0.69-56.1)	0.10	*
Arg/Gln+ Gln/Gln		31(27)	24 (26)	1.34(0.61-2.94)	0.45	0.5
Arg/Arg	Glu/Glu	5 (4)	3 (3)	1.7(0.37-8.12)	0.70	*
Arg/Gln		7 (6)	3 (3)	2.4(0.56-10.5)	0.30	1.4
Gln/Gln		2 (2)	-	-	-	-
Arg/Gln+ Gln/Gln		9 (8)	3 (3)	3.1(0.75-13.0)	0.10	2.6
Arg/Arg	Asp/Glu+Glu/Glu	32 (28)	12 (13)	<b>2.78(1.15-6.68)</b>	<b>0.02</b>	5.3
Arg/Gln+ Gln/Gln		40 (35)	27 (30)	1.54(0.72-3.27)	0.25	1.2
<b>XPD Kodon 751</b>						
Lys/Lys	Asp/Asp	18 (16)	22 (24)	Referans		
Lys/Gln		16 (14)	26 (29)	0.75(0.31-1.81)	0.52	0.4
Gln/Gln		8 (7)	14 (15)	0.69(0.24-2.03)	0.51	0.4
Lys/Gln+Gln/Gln		24 (21)	40 (44)	0.73(0.32-1.63)	0.44	0.5
Lys/Lys	Asp/Glu	10 (9)	3 (3)	4.07(0.97-17.0)	0.045	4.0
Lys/Gln		35 (31)	16 (18)	<b>2.67(1.13-6.31)</b>	<b>0.023</b>	5.1
Gln/Gln		13 (11)	4 (4)	<b>3.97(1.10-14.31)</b>	<b>0.029</b>	4.7
Lys/Gln+Gln/Gln		48 (42)	20 (22)	<b>2.93(1.3-6.61)</b>	<b>0.008</b>	6.9
Lys/Lys	Glu/Glu	6 (5)	1 (1)	7.3(0.8-66.6)	0.097	*
Lys/Gln		4 (4)	2 (2)	2.4(0.4-14.9)	0.40	*
Gln/Gln		4 (4)	3 (3)	1.63(0.32-8.24)	0.69	*
Lys/Gln+Gln/Gln		8 (7)	5 (5)	1.95(0.54-7.02)	0.30	1.1
Lys/Lys	Asp/Glu+Glu/Glu	16 (14)	4 (4)	<b>4.8(1.3-17.2)</b>	<b>0.01</b>	6.6
Lys/Gln+Gln/Gln		56 (49)	25 (27)	<b>2.7(1.2-5.9)</b>	<b>0.01</b>	6.5

Pearson ki-kare analizi, \*Fisher'in ki-kare analizi

#### **4.4. PKOS ve Kontrol Gruplarında Klinik ve Biyokimyasal Parametreler ile *XRCCI* (Arg194Trp ve Arg399Gln), *APEI* (Asp148Glu) ve *XPB* (Lys751Gln) Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması**

##### **4.4.1 *XRCCI* Arg194Trp**

PKOS'lu hasta grubumuz ile kontrol grubumuzda klinik ve biyokimyasal veriler bakımından *XRCCI* Arg194Trp genotipleri (Arg/Arg, Arg/Trp ve Trp/Trp) arasında bir fark belirlenmemiştir.

##### **4.4.2 *XRCCI* Arg399Gln**

PKOS'lu hasta grubumuz ile kontrol grubumuzda klinik ve biyokimyasal veriler bakımından *XRCCI* Arg399Gln genotipleri (Arg/Arg, Arg/Gln ve Gln/Gln) arasında bir fark belirlenmemiştir.

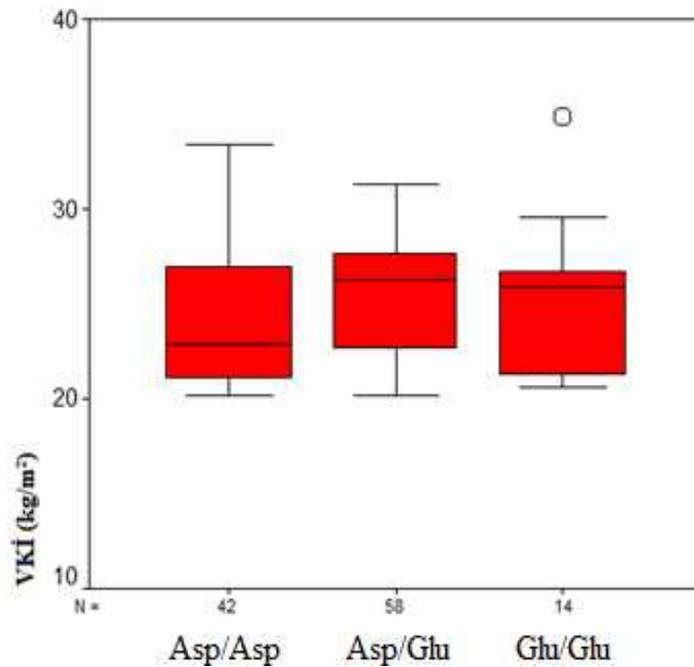
##### **4.4.3 *APEI* Asp148Glu**

PKOS'lu hasta grubumuz ile kontrol grubumuzda klinik ve biyokimyasal veriler bakımından *APEI* Asp148Glu genotipleri (Asp/Asp, Asp/Glu ve Glu/Glu) arasında değerlendirme yapılmıştır. Buna göre; PKOS'lu hasta grubumuzda Asp/Glu ve Glu/Glu genotipine sahip olan hastalarda VK'nin Asp/Asp genotipli hastalara göre daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiş olup veriler Tablo 4.8'de ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

Diğer klinik ve biyokimyasal parametreler ile genotipler arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır.

Tablo 4.7. *APEI* Asp148Glu polimorfizmi genotiplerine göre hasta ve kontrollerin VK ( $\text{kg/m}^2$ ) düzeyleri

<i>APEI</i> Asp148Glu				
VK ( $\text{kg/m}^2$ )				
	Asp/Asp (Min-Max)	Asp/Glu (Min-Max)	Glu/Glu (Min-Max)	p
Kontrol	22,78 (20,18-31,12)	26,20 (20,55-28,30)	26,57 (22,83-27,91)	0,06
PKOS	22,85 (20,14-33,35)	26,24 (20,12-31,30)	25,81 (20,61-34,82)	0,01



ekil 4.5. PKOS'lu hastalarda *APEI* Asp148Glu polimorfizmi Asp/Asp, Asp/Glu ve Glu/Glu genotipleri ile VK arasındaki ilişki

#### 4.4.4 *XPD* Lys751Gln

PKOS'lu hasta grubumuz ile kontrol grubumuzda klinik ve biyokimyasal veriler bakımından *XPD* Lys751Gln genotipleri (Lys/Lys, Lys/Gln ve Gln/Gln) arasında bir fark belirlenmemiştir.

## 5. TARTI MA

PKOS, reproduktif ya taki kadınlarda görülen yaygın endokrin bir hastalık olup (1, 185) genetik ve çevresel faktörlerin etkisi altında heterojen görünüm sergileyen bir sendromdur. PKOS'ta hormonlardaki düzensizlikler, obezite, insülin direnci, hipertansiyon, hiperinsulinemi, dislipidemi belirgin olarak izlenmektedir (31). PKOS'ta sıklıkla görülebilen bu bulgular ile artan reaktif oksijen türleri arasındaki ili ki birçok çalı mada rapor edilmektedir (78, 82).

Reaktif oksijen türleri hücre sel metabolizma ürünleridir. Serbest radikallerin artması ve yokedilmesi arasındaki dengenin bozulması sonucunda ise karbonhidratlar, proteinler, lipidler ve DNA gibi birçok biyomolekül hasar görmektedir (186). Reaktif oksijen türlerinin oksidatif DNA hasarını, DNA kırıklarını, baz modifikasyonlarını ve kromozom anomalilerini indükledi i bilinmektedir (187).

DNA hasarlarının onarılması hücreyi genomik kararsızlıklara kar ı korumada esastır. DNA hasarları, do rudan tamir, baz kesip çıkarma tamiri (BER), nükleotid kesip çıkarma tamiri (NER), çift zincir kırık tamiri, translesion sentezi (post-transkripsiyonel DNA tamiri), mismatch tamiri (yanlı e le me tamiri) gibi çe itli DNA onarım mekanizmaları ve gen ürünleri ile tamir edilmektedir (26). Bugüne kadar insanda 130'dan fazla DNA tamir geni tanımlanmı tır (154). XRCC1, APE1 ve XPD farklı DNA tamir mekanizmalarında birçok görevi olan tamir genlerinin ba nda gelmektedir. Bu genlerdeki *XRCC1* Arg194Trp, Arg399Gln *APE1* Asp148Glu ve *XPD* Lys751Gln bazı yaygın polimorfizmleri ta ıyan bireylerde DNA tamir kapasitesinin etkilendi i ve karsinojenlere kar ı hassasiyetin arttı ı belirtilmektedir (20, 188). Bu genlerdeki polimorfizmler nedeni ile olu an bireysel duyarlılıklar genetik çalı maların önemli bir bölümünü olu turmaktadır (189).

DNA tamir genleri ile ili kili polimorfizmler birçok hasta grubunda çalı ılmı tır. Bunlar arasında çok önemli bir yeri çe itli kanser grupları olu turmakla birlikte tekrarlayan dü ükleri olan kadınlarda yapılan çalı malar, endometriozis ve preeklampsi hastalarında yapılan çalı malar da dikkati çekmektedir (166, 190, 191, 192). Bu polimorfizmlerin kanser geli iminde rolü oldu u veya hiç ili kisinin

olmadı ı ve hatta koruyucu etkilerinin oldu una dair veriler rapor edilmektedir. DNA tamir genlerindeki polimorfizm çalı malarının di er bir sonucu da genomik kararsızlık ile ili kili verilerin belirtilmi olmasıdır (188).

Polimorfizm ve genomik kararsızlı ı belirlemek için ara tırcılar farklı yöntemler kullanmaktadır Bunlar arasında 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), karde kromatid de i iminin (SCE) ve mikronukleus (MN) çalı maları sayılabilir. Özellikle MN sıklı ının belirlenmesi genotoksisite çalı malarında sıklıkla kullanılan bir belirteçtir (23, 25).

Son dönemlerde yapılan bazı çalı malarda PKOS'lu hastalarda kromozom instabilitesinin bulundu u ve bu hastalarda mikronukleus sıklı ının yüksek oldu u vurgulanmı tır (23, 25, 193). Kültüre edilmi lenfositlerdeki mikronukleus sıklı ı dola ımdaki lenfositlerde biriken genetik hasarın bir göstergesidir. Mikronukleus sayısının fazla oldu u bireylerde DNA zincir kırıklarının da yüksek oldu u bilinmektedir (194). Bu durum ise DNA onarımı ile ili kili genleri gündeme getirmektedir.

*XRCCI*, serbest radikaller, iyonizasyon ve alkilleyici ajanlar nedeni ile meydana gelen tek zincir kırıklarının onarımında rol alarak BER tamir yola ında görevli bir DNA tamir proteindir. *XRCCI* geninde birçok polimorfizm tanımlanmı tır. Ancak bunlardan en çok dikkat çekenleri ekzon 6'da kodon 194 ve ekzon 10'da kodon 399 amino asit substitüsyonu ile sonuçlanan kodon polimorfizmleridir. *XRCCI*'de belirlenen polimorfizmler BER'i etkilemektedir. *XRCCI* Arg194Trp varyantının in vitro ko ullarda bleomisin ve benzo(a)piren diol duyarlılı ı ile ili kili oldu u *XRCCI* kodon 399 varyant alleli varlı ında ise lenfositlerde karde kromatid de i iminin seviyesinde artı ın, mononukleer hücrelerde polifenol DNA eklentilerinin ve büyük DNA eklentilerinin frekanslarında artı ların oldu u rapor edilmi tir (188). *XRCCI* mutant hücrelerinde, iyonize radyasyon, UV, hidrojen peroksit ve mitomisin C duyarlılı ının arttı ı bilinmektedir (164).

*XRCCI*'in sıklıkla çalı ılan polimorfizmlerinden biri Arg194Trp olup *XRCCI* proteininin hidrofobik bölgesini etkilemektedir. Bu durum DNA tamir fonksiyonlarını ve kanser duyarlılı ını de i tirebilmektedir (164). Arg194Trp

polimorfizminin kanser ve di er farklı hastalıklar ile ili kisini ara tırmaya yönelik birçok çalı ma rapor edilmi tir (156, 166, 195, 196).

*XRCCI*'in Arg194Trp polimorfizmi bakımından çalı mamızın kontrol grubunda elde edilen verilere bakıldı ında normal allel olan Arg'in %92.85, Trp allelinin ise %7.15 sıklıkta oldu u bulunmu tur (Tablo 4.2). Farklı populasyonlarda yapılan çalı malarda da kontrol grupları için mutant allel olan Trp allelinin bizim bulgularımıza benzer ekilde dü ük frekanslarda oldu u rapor edilmektedir. Bu çalı malardan birinde Sobczuk ve arkada ları kontrol grubunda Arg allelinin frekansını %95, Trp allelinin frekansını %5 olarak (166) rapor ederlerken Vural ve arkada ları tarafından yapılan di er bir çalı mada ise yine kontrol grubu için Trp allelinin frekansı çok daha dü ük olup %0.9 olarak rapor edilmi tir (192).

Çalı mamızda PKOS'lu hasta grubunda Arg allelinin frekansı %92.98, Trp allelinin frekansı ise %7.02 olarak elde edilmi tir. Allel frekansları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir farklılık olmadı ı gözlenmi tir (Tablo 4.2.). *XRCCI* Arg194Trp farklı hasta gruplarında sıklıkla çalı ılan bir polimorfizmdir. Bu çalı malardan birinde endometrium kanseri ile ili kisi ara tırılmı ve hasta grubunda Trp allelinin sıklı ı %0.3 olarak belirlenmi tir (166). Türk toplumunda yapılan iki ayrı vaka-kontrol çalı masının hasta grubunda Trp allelinin frekansı %0.6 (192) ve %0.9 (167) olarak belirlenmi tir. Her iki çalı mada da hasta ve kontrol grupları arasında allel frekansları açısından istatistiksel bir farklılık belirlenmemi olup Trp mutant allelin frekansının hem hasta gruplarında hem de kontrol gruplarında oldukça dü ük frekanslarda olması dikkati çekmektedir.

Genotip frekansları açısından çalı mamızı de erlendirdi imizde ise kontrol grubunda Arg/Arg genotipinin %85.71, Arg/Trp genotipinin ise %14.29 oldu u hesaplanmı ancak Trp/Trp genotipini ta ıyan bireye rastlanmamı tır (Tablo 4.2.). Çalı mamıza benzer olarak homozigot mutant genotip kontrol gruplarında ya hiç belirlenememi ya da oldukça dü ük frekanslarda rapor edilmi tir. Abbaso lu ve arkada ları graves hastaları ile yaptıkları ara tırmada kontrol grubunda Arg/Arg, Arg/Trp ve Trp/Trp genotiplerinin frekanslarını sırası ile %85.1, %13.9 ve %1 olarak rapor etmi lerdir (167). Sterpone ve arkada ları ise çalı malarının kontrol grubunda Arg/Arg genotipini %90.3, Arg/Trp genotipini %9.7 sıklıkta olarak rapor ederken

Trp/Trp genotipine ise rastlayamadıklarını belirtmişlerdir (165). Çalı mamızın hasta grubunda ise Arg/Arg ve Arg/Trp genotipleri sırası ile %86,84 ve %12,28 olarak Trp/Trp genotipi ise %0,88 oranında belirlenmiştir (Tablo 4.2.). Çalı mamızda olduğu gibi birçok farklı hasta grubu ile yapılan ara tırmalarda da Trp/Trp genotipine ya çok az oranlarda ya da hiç rastlanmamıştır. Genotip frekansları açısından sonuçlarımız literatür ile paralellik göstermektedir (165, 192).

Birçok çalı mada DNA tamir genlerinin polimorfizmleri ve çevresel etkenlere maruz kalma nedeni ile oluşan genetik kararsızlıklar veya kanserin ortaya çıkması arasında ilişki kurulmuştur (197). Arg194Trp polimorfizminin homozigot mutant genotipi olan Trp/Trp'nin artan genetik instabilite ile ilişkisini birçok çalı ma rapor etmektedir. Bunlardan birinde vinil kloride maruz kalan ve Trp/Trp genotipine sahip kişilerde MN frekansının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (163). Ancak çalı mamızda hasta ve kontrol grupları arasında Arg194Trp polimorfizminin herhangi bir genotipi bakımından farklılık belirlenmemiştir.

*XRCCI*'in en yaygın SNP'si Arg399Gln'dir (156, 162). Bu bölge BRCT domaininin içinde lokalize olup *XRCCI*'in PARP (Poly-ADP-Riboz Polimeraz) molekülü ile birlikte kompleks meydana getirdiği bölge olmasından dolayı çok önemli olup oldukça polimorfik bir bölgedir (162, 168). Taylor ve arkadaşları BRCT1 domaininin hücre sağ kalımı ve tek zincir kırıklarının etkili tamiri için kritik bir öneme sahip olduğunu belirlemişlerdir (162, 164). Farklı grup kanser hastaları ile yapılan çalı malarda *XRCCI* Arg399Gln polimorfizmi ve kanser arasında farklı sonuçlar rapor edilmiştir (156, 166, 190, 195).

Çalı mamızda kontrol grubunda normal allel olan Arg allelinin frekansı %63,19 ve mutant allel olan Gln allelinin frekansını ise %36,81 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3). Endometriyum kanseri ve *XRCCI* Arg399Gln polimorfizminin ilişkisini ara tırmak amacıyla yapılan bir çalı mada kontrol grubunda Arg allelinin frekansı %58, Gln allelinin frekansı %42 olarak (166) rapor edilir iken Vural ve arkadaşları yine kontrol grubu için mutant allel Gln'in frekansını %34 olarak belirlemişlerdir (192). Görüldüğü gibi oldukça polimorfik olan *XRCCI* Arg399Gln polimorfizminin varyant alleli olan Gln için farklı popülasyonlardaki kontrol grupları için benzer oranlar belirtilmektedir (166, 192).

Ara tırmamızda hasta grubundaki allel frekansları sırası ile Arg %67.10, Gln %32.90 olup hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı bulunmuştur (Tablo 4.3). Endometrium kanseri ve preeklampsi riskinin *XRCCI* Arg399Gln polimorfizmi ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda da gruplar arasında anlamlı bir fark belirlenmemiş olup hastalarda Gln mutant allelinin frekansı %47 (166) ve %37 olarak belirlenmiştir (192).

*XRCCI* Arg399Gln polimorfizmi ile yapılan epidemiyolojik çalışmalarda normal populasyonda, Arg/Arg, Arg/Gln, Gln/Gln genotiplerinin frekansları sırası ile Avrupa'da %44.2, %44.1 ve %11.7 olarak USA'de %42, %43 ve %15 olarak Çin'de ise %39.7, %51.8 ve %8.5 olarak rapor edilmiştir (198).

Genotip frekansları açısından çalışmamıza baktığımızda, kontrol grubunda Arg/Arg genotipini %39.56, Arg/Gln genotipini %47.25, Gln/Gln genotipini ise %13.19 sıklıkta olduğu bulunmuştur (Tablo 4.3). Preeklampsi riski ve *Arg399Gln* polimorfizmi arasındaki ilişkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada kontrol grubunda genotip frekansları Arg/Arg için %41.1, Arg/Gln için %49.5 ve Gln/Gln için %9.4 olarak rapor edilmektedir (192). Yoshimitu Niwa ve arkadaşları Japonlarda servikal kanser riskini araştırmaları ve Gln/Gln genotipini kontrollerde %8.1 olarak rapor etmişlerdir (199).

Çalışmamızın hasta grubunda ise *XRCCI* geninin 399. kodonunda genotip frekansları Arg/Arg için %46.49, Arg/Gln için %41.23 ve Gln/Gln için %12.28 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3). Hasta ve kontrol grupları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Araştırmamızın sonucunda *XRCCI* Arg399Gln polimorfizmi allel ve genotip frekansları açısından kontrol ve hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde bazı hasta grupları ile yapılan çalışmalarda bu polimorfizmle ilişkili grup hastalıkları arasında bir ilişki kurulamamıştır (166, 190, 192, 199). Ancak istatistiksel olarak ilişkili genotipler bakımından pozitif veya negatif ilişkilerin rapor edildiği çalışmalar da bulunmaktadır. Bunlar arasında Gln mutant allelinin premenopoz dönemindeki kadınlarda meme kanseri riskini 3.8 kat artırdığını rapor eden araştırma (200) ile

serviks kanserli hastalarda Arg/Arg genotipinin kemoterapi tedavisine yanıt ansını artırdı mı gösteren çalı ma (190) dikkati çekmektedir.

AP endonukleazlar BER tamir yolunda görev almaktadır. APE1 proteini 3' 5' ekzonukleaz, 3'fosfataz ve fosfodiesteraz enzim aktivitelerine sahiptir. APE1, DNA polimeraz , XRCC1 gibi birçok protein ile etkile im halindedir ve ilave olarak hücre döngüsünde de bir regülatör olarak da görev almaktadır. APE1 memelilerde özellikle UV radyasyonu, oksidatif ajanlar ve stres gibi genotoksik ajanlara kar ı DNA tamirini düzenlemektedir (188). *APE1* Asp148Glu polimorfizmi çe itli hasta gruplarında çalı ılmı ve mesane, kolorektal, meme, pankreas, ba ve boyun, lösemi, tiroid gibi birçok kanser türü ile ili kilendirilmi tir (175).

Çalı mamızın kontrol grubunda *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından elde edilen sonuçlara göre normal allel olan Asp'in frekansı %80.77 olarak bulunurken mutant allel olan Glu'in frekansı ise %19.23 olarak belirlenmi tir (Tablo 4.4). Hasta grubunda ise Asp ve Glu allel frekansları sırası ile %62.28 ve %37.72 olarak hesaplanmı tır. Gruplar arasındaki farkın ise istatistiksel olarak önemli oldu u bulunmu tur ( $P=0.0001$ ). Dongying ve arkadaş ları Glu mutant allelinin farklı etnik kökenlerde farklılık göstermedi ini ve Asya ve Avrupa'da %41.4 ve %43.7 gibi yüksek bir frekansa sahip oldu unu rapor etmi lerdir (201). *APE1* Asp148Glu polimorfizminin kanser geli iminde etkisinin ara tırıldı ı bir vaka-kontrol çalı masının meta analizinde Glu allelinin frekansının %20 ile %52 arasında de i ti i, ancak bu frekansın Asya'da %42, Avrupa'da ise %44 olup birbirine çok yakın de erler oldu u belirlenmi tir (202).

Genotip frekansları açısından çalı mamızı de erlendirecek olursak; kontrol grubunda Asp/Asp genotipinin %68.13, Asp/Glu genotipinin %25.27 ve Glu/Glu genotipinin ise %6.60 sıklıkta oldu u belirlenmi tir. Epidemiyolojik bir çalı mada Avrupa'da Asp/Asp, Asp/Glu, Glu/Glu genotiplerinin frekansları sırası ile %28.2, %48.1 ve %23.7 olarak USA'de %29.3, %48.3 ve %18.6 olarak Japonya'da ise %35.4, %50.3 ve %14.3 olarak rapor edilmi tir (198). Çalı mamızın hasta grubunda ise genotip frekansları Asp/Asp için %36.84, Asp/Glu için %50.88, Glu/Glu için ise %12.28 olarak belirlenmi olup (Tablo 4.4) genotip frekansları bakımından hasta ve kontrol grupları arasındaki farklılı ın istatistiksel olarak önemli oldu u bulunmu tur

( $P=0.0001$ ,  $P=0.015$ ,  $P=0.0001$ ). Homozigot mutant genotip olan Glu/Glu'nin frekansının hasta grubumuzda yüksek olması önceki çalı malarda PKOS grupları için rapor edilen yüksek mikronukleus sıklı ı (23, 25) bulgularını destekler niteliktedir. Yine bununla ili kili olarak Glu mutant allelinin, enzimin endonukleaz ve DNA ba lanma aktivitelerini de i tirebilece i ve di er BER proteinleri ile olan ili kisini azaltması nedeni ile DNA tamirinin etkilenebilece i belirtilmektedir (176, 201).

Son yıllarda *APE1* tamir genindeki polimorfizmlerin kanser ve birçok hastalık ile ili kisi sıklıkla çalı ılmakta olup oldukça farklı sonuçlar da rapor edilmektedir (202). Kuzey Hindistan'da serviks kanseri riski ile *APE1* Asp148Glu polimorfizmi arasındaki ili kinin ara tırıldı ı çalı manın sonuçlarına göre; hastalar arasında Asp/Asp genotipi %68.1, Asp/Glu genotipi %29.0, Glu/Glu genotipi ise %2.9 oranında belirlenmi tir (203). Genotip frekanslarına göre Asp/Glu genotipinin HPV tip 16 kaynaklı serviks kanserinin görülme riskini istatistiksel olarak azalttı ı ve de Asp/Glu ve Glu/Glu genotiplerinin serviks kanserinden koruyucu etki gösterdi i rapor edilmi tir (203). Dongying ve arkadaşları ise Asp/Asp genotipinin Asp/Glu heterozigot varyantı ile kar ıla tırıldı ında akci er, mesane, kolorektal, meme ve di er kanser tipleri için kanser riskini hafif ekilde azalttı ını belirlemi lerdir (201). Bundan ba ka vinil kloride ve 1,3-bütadine maruz kalan i çilerde yapılan bir çalı mada *APE1* Asp148Glu polimorfizmi ile MN frekansı arasındaki ili ki ara tırılmı ancak herhangi bir genotip ile MN frekansı arasında bir ili ki tespit edilememi tir (204).

Çalı mada elde edilen bulgular aynı zamanda PKOS'un klinik bulguları ile birlikte de de erlendirilmi tir. Bunlar arasında VK , ya , LH, FSH, estradiol, DHEA-S, açlık insülin, açlık glukoz, HOMA-IR, SHBG ve testeosteron bulunmaktadır. Ancak tüm de erlendirmeler arasında yalnızca VK bakımından ve yine yalnızca *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından genotipler arasında farklılık belirlenmi tir. Yapılan çalı malarda VK 'nin PKOS'lu hastalarda yüksek oldu u ve hastaların yakla ık olarak yarısının obez oldu u rapor edilmektedir (32). Bu çalı mada VK , Asp/Asp genotipli hastalarda daha dü ük olup 22,85 olarak belirlenmi tir. Oysa Asp/Glu ve Glu/Glu genotipli hastalarda sırası ile 26,24 ve 25,85 olarak belirlenmi olup farklılık istatistiksel olarak da önemli bulunmu tur ( $P=0,01$ )

(Tablo 4.7 ve ekil 4.5). Ortaya çıkan bu sonuç obez hastalar ile MN arasındaki pozitif ili kiyi rapor eden çalı maları (78, 205) desteklemektedir.

*APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından heterozigot veya homozigot mutant genotipte olanların di er polimorfizmler bakımından durumunu de erlendirmek üzere bir çalı ma yapılmı tır (Tablo 4.6). Buna göre *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından heterozigot olanların XRCC1 kodon 194 ve kodon 399'un normal genotipleri ile birlikteli inin PKOS grubunda kontrol grubuna göre 3.37 kat ve 3.10 kat fazla oldu u hesaplanmı tır. Di er taraftan yine *APE1* Asp148Glu polimorfizmi bakımından heterozigot olanların XPD kodon 751 polimorfizminin heterozigot ve homozigot mutant genotipleri ile birlikteli inin hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla sırası ile 2.67 ve 3.97 kat fazla oldu u hesaplanmı tır. APE polimorfizmi bakımından mutant allel ta ıyanların di er polimorfizmler bakımından genotiplerinin de erlendirildi i bir çalı maya ula abildi imiz kadarı ile rastlanmamı tır.

XPD proteini NER'de önemli bir rol oynamakta olup büyük eklentiler nedeni ile olu an bölgelerin tanınması ve onarımında görev almaktadır (206). 5' 3' helikaz aktivitesine sahip olan bu protein normal transkripsiyonun ba laması için gereklidir (28). *XPD* geninde kodon 751 deki polimorfizm sıklıkla çalı ılan SNP'lerindedir (206). Çalı mamızda *XPD* Lys751Gln polimorfizmi bakımından kontrol grubu ele alındı nda Lys allelinin frekansı %51.10 Gln allelinin frekansı ise %48.90 olarak belirlenmi tir. Hasta grubunda ise Lys allel frekansı %52.63, Gln allel frekansı ise %47.37 olarak hesaplanmı tır. Hasta ve kontrol grupları arasında allel frekansları bakımından istatistiksel bir farklılık belirlenmemi tir (Tablo 4.5). *XPD* kodon 751 için farklı etnik gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar rapor edilmekte olup bu SNP'nin allelik frekansının %9'dan %37'ye kadar çıkt ı belirtilmi tir (181). Anna Sobczuk ve arkadaş ları tarafından yapılan bir çalı mada kontrol grubunda Lys allelinin frekansı %61, Gln allel frekansı ise %39 olarak belirlenmi tir (166). Bir ba ka çalı mada ise Gln mutant allel frekansı kontrol grubunda %35 olarak belirlenmi tir (192). Lys allel frekansının %52, Gln allel frekansı %48 olarak belirlendi i çalı manın hasta grubunda yabancı tip ve mutant

allel frekansları birbirlerine çok yakın oranlarda olup (166) bu de erler hasta grubumuzun allel frekansları ile oldukça yakın de erlerdedir.

Genotip frekansları açısından çalı mamızı de erlendirdi imizde ise kontrol grubunda Lys/Lys genotipinin frekansı %27.47, Lys/Gln genotipinin frekansı %47.25, Gln/Gln genotipinin frekansı ise %25.28 olarak belirlenmi tir. Hasta grubumuzda ise Lys/Lys genotip frekansı %28.94, Lys/Gln genotip frekansı %47.37, Gln/Gln genotip frekansı %23.69 olarak belirlenmi tir (Tablo 4.5). Genotip sıklı ı bakımından elde edilen veriler istatistiksel olarak de erlendirildi inde gruplar arasındaki farkın önemli olmadı ı saptanmı tir. Hem Lys/Gln hem de Gln/Gln mutant genotiplerinin frekansları hasta grubunda %47.37, kontrol grubunda ise %48.90 olarak hesaplanmı olup veriler literatür verilerini desteklemektedir (183, 192, 207). *XPD Lys751Gln* polimorfizmi Gln/Gln homozigot mutant genotipinin prevalansının ara tırıldı ı bir çalı mada Asya'da %1.1, Afrika kökenli Amerikalılarda %6.9 ve Kafkas ırkında %13.4 oldu u belirlenmi tir (208).

*XPD* kodon 751 polimorfizminin birçok hastalık ile ili kisine dair çalı malar bulunmaktadır (183, 206, 209). *XPD Lys751Gln* polimorfizminin ya lanma ile ili kisinin ara tırıldı ı bir çalı mada Gln/Gln genotipinin MN frekansı ile ili kili oldu u belirtilmi tir. Fırın i çilerinde yapılan bir çalı mada da yine Gln/Gln mutant genotipinde MN frekansı yüksek olarak belirlenmi tir (204). Farklı *XPD* allellerinin kromozomal aberasyonlar (184), SCE frekansı (210) ile ili kili oldu u ve DNA tamir kapasitesini azalttı ı da rapor edilen veriler arasındadır.

NER, DNA tamir sisteminde hücre döngüsünün kontrolü, apoptozis ve transkripsiyon gibi önemli hücresel görevlerde anahtar bir role sahiptir (136). Memelilerde NER, UV 111 ve di er çevresel karsinojenlerden kaynaklanan pirimidin dimerleri, fotoürünler ve büyük kimyasal eklentiler gibi büyük lezyonların tamirinde görev alır. DNA'da meydana gelen tüm bu de i iklikler, küçük de i iklikler olmasına ra men büyük oranda mutajenik olmaları nedeni ile genomun bütünlü ünü bozar (211).

DNA tamir genlerindeki polimorfizmleri konu alan birçok çalı ma rapor edilmi tir. Bu çalı malarda polimorfizmler ile genomik kararsızlık, kansere yatkınlık

ya da çe itli sınıf hastalıklar arasındaki ili kiler ara tırlımı tır (13, 14, 15, 188). PKOS'da rapor edilen genomik kararsızlık ile *XRCCI*, *APEI* ve *XPD* genlerindeki polimorfizmlerin ili kisinin ara tırlıldı ı bu çalı mada *APEI* Asp148Glu polimorfizmi bakımından gruplar arasında farklılık belirlenmi tir. Bu durumla ili kili olarak hem mutant allelin (Glu) frekansının hem de homozigot mutant genotipin (Glu/Glu) frekansının PKOS grubunda yüksek oldu u belirlenmi tir. Çok sayıda olan DNA tamir genlerinden yalnızca üç tanesinin ele alındı ı bu çalı ma ula abildi imiz kaynaklara göre bu hasta grubu ile yapılan ilk çalı madır. Sonraki çalı malarda daha fazla sayıda bireyi kapsayan grupla di er tamir genlerinin de çalı ılması yeni verilerin ortaya konulması açısından yararlı olacaktır.

## 6. SONUÇ VE ÖNER LER

1. Bu tez çalı masında polikistik over sendromlu olgularda *XRCCI* Arg194Trp ve *Arg399Gln*, *APEI* Asp148Glu ve *XPD* Lys751Gln polimorfizmleri arasındaki ili ki ara tırılmı tır.

2. PKOS'lu hastalar ve kontrol grubu klinik bulguları ve endokrin sonuçları açısından kar ıla tırıldı nda;

a. Olguların ya ortalaması hasta grubunda 30,09 ve kontrol grubunda 31,51 olarak belirlenmi tir.

b. LH, Estradiol, DHEA-S, açlık insülin, açlık glukoz ve HOMA-IR de erleri PKOS'lu kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oldu u belirlenmi tir.

c. FSH ve SHBG de erleri ise PKOS'lu kadınlarda kontrol grubuna göre daha dü ük olarak saptanmı tır.

d. VK ve toplam testeosteron açısından de erlendirme yapıldı nda ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemi tir.

3. *XRCCI* Arg194Trp, *XRCCI* Arg399Gln ve *XPD* Lys751Gln polimorfizmleri ve PKOS arasında allel ve genotip frekansları açısından pozitif veya negatif bir ili ki kurulamamı tır.

4. *APEI* Asp148Glu polimorfizmi bakımından PKOS ve kontrol grubu arasında allel ve genotip frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar elde edilmemi tir. Buna göre mutant allel olan Glu'in frekansı ile mutant allel bakımından heterozigot veya homozigot genotipe sahip olan bireylerin frekansı kontrol grubuna göre daha yüksek olarak tespit edilmemi tir.

5. *APEI* Asp148Glu polimorfizmi Asp/Asp, Asp/Glu ve Glu/Glu genotipleri ile vücut kitle indeksi birlikte de erlendirildi inde VKI'nin Asp/Asp normal genotipine sahip hastalarda heterozigot ve homozigot mutant genotipte olan hastalara kıyasla daha dü ük oldu u belirlenmi tir.

6. *XRCC1* Arg194Trp ve Arg399Gln, *APE1* Asp148Glu ve *XPB* Lys751Gln polimorfizmlerini konu alan çalı malara baktı ımızda farklı sonuçlar görmekteyiz. Genlerin normal ve mutant allellerinin da ılımını bir çok faktör etkilemektedir. Bunlar arasında çalı ılan popülasyonların farklı olması kontrol gruplarındaki farklılı ının en önemli nedenini olu turmaktadır. Ayrıca farklı hasta gruplarındaki klinik heterojenite söz konusu genlerin allel frekanslarını ve bireylerin ta ıdı ı genotiplerinin da ılımlarını farklı oranlarda etkilemektedir.

7. Genetik polimorfizm çalı maları, bireylerin hastalıklara duyarlılıkları konusunda bilgi veren çalı malardır. Mutant genotiplerin etkileri ve mutant genotipler ile hastalıklara olan duyarlılıklar arasındaki ili kinin önemi her geçen gün artmaktadır.

8. PKOS'da ortaya çıkan genomik kararsızlık ve bunun DNA tamir genleri ile ili kisini net olarak ortaya çıkarabilmek için daha fazla sayıda gen çalı maları ve daha büyük popülasyonlardaki ara tırmalar yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Gadducci, A., Gargini, A., Palla, E., Fanucchi, A., Genezzani, A, R. (2005) Polycystic Ovary Syndrome and Gynecological Cancers: Is There A Link?. *Gynecological Endocrinology*, 20 (4),200-208
2. Creatsas, G., Deligeoroglou, E. (2007). Polycystic Ovarian Syndrome In Adolescents. *Current Opinion In Obstetrics And Gynecology*, 19, 420-426.
3. Hart, R. (2007). Polycystic Ovarian Syndrome-Prognosis And Treatment Outcomes. *Current Opinion In Obstetrics and Gynecology*, 19, 529-535.
4. Sarkar, C., Maitra, A. (2008). Deciphering The Cis-Regulatory Elements Of Co-Expressed Genes In PCOS By In Silico Analysis. *Gene*, 408, 72-84.
5. Hoeger, K, M. (2007). Obesity And Lifestyle Management In Polycystic Ovary Syndrome. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 50 (1), 277-294.
6. Deligeoroglou, E., Kouskouti, C., Christopoulos, P. (2009). The Rol Of Genes In The Polycystic Ovary Syndrome: Predisposition And Mechanisms. *Gynecological Endocrinology*, 25 (9), 603-609.
7. Deepika, M, L, N., Nalini, S., Maruthi, G., Ramchander, V., Ranjith, K., Latha, K. P., Rani, V. U., Jahan, P. (2014) Analysis of Oxidative Stress Status Through MN Test and Serum MDA Levels in PCOS Women. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 17 (4), 574-577.
8. Fenech, M. (2011). Micronuclei and Their Association With Sperm Abnormalities, Infertility, Pregnancy Loss, Pre-eclampsia and Intra-uterine Growth Restriction in Humans. *Mutagenesis*, 26 (1), 63-67.
9. Skrgatic, L., Baldani, D, P., Gersak, K., Cerne, J, Z., Ferk, P., Coric, M. (2013). Genetic Polymorphisms of INS, INSR and IRS-1 Genes are not Associated with Polycystic Ovary Syndrome in Croatian Women. *Coll Antropol*, 37 (1), 141-6.
10. Kambalachenu, H,R., Durairaj, S, F, P., Nallepalli, S, R., Venkatachalam, P. (2013). Study on Follicle Stimulating Hormone Receptor Gene Polymorphisms in South ndian Women With Polycystic Ovarian Syndrome. *American Medical Journal* 4 (2), 160-167.

11. L. Skrgatic, L. D., Pavicic, B., J.Z. Cerne, J. Z., Ferik, P., Gersak, K. (2012). CAG Repeat Polymorphism in Androgen Receptor Gene is not Directly Associated With Polycystic Ovary Syndrome but Influences Serum Testosterone Levels. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 128 (3-5), 107-112.
12. Mora, M., Ramírez, M, L., Insenser, M., Ojeda, M,O., Morreale, H, F, E. (2013). Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 19 (3).
13. Ye, L., Shuying, L., Zhiwei, W., Fulan H, Lin, Z., Xiaojuan, Z., Binbin, C., Xinshu, D., Suli, T., Fan, W., Yashuang, Z. (2013). Polymorphisms in Genes of APE1, PARP1, and XRCC1: Risk and Prognosis of Colorectal Cancer in a Northeast Chinese Population. *Medical Oncology*, 30, 505
14. Rebeka, Sultana.,1, Tarek, Abdel-Fatah., Rachel, Abbotts., Claire, Hawkes., Nada, Albarakati., Claire, Seedhouse., Graham, Ball., Stephen, Chan., Emad, A. R., Ian, O, Ellis., Srinivasan, M. (2013). Targeting XRCC1 Deficiency in Breast Cancer for Personalized Therapy. *American Association for Cancer Research*, 75, 3
15. Klosoka, G, A., Maria, Widelb., Wolny, J, R. (2013). The Influence of XPD, APE1, XRCC1, and NBS1 Polymorphic Variants on DNA Repair in Cells Exposed to X-rays. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 755 (1) , 42–48.
16. Wilson III, D, M., Kim, D., Berquist, B, R., Siquardson, A,J. (2011). Variation in Base Excision Repair Capacity. *Mutation Research*, 711, 100-112.
17. Zijno, A., Verdina, A., Galati, R., Leopardi, P., Marcon, F., Andreoli, C., Rossi, S., Crebelli, R. (2006). Influence of DNA Repair in Polymorphisms on Biomarkers of Genotoxic Damage in Peripheral Lymphocytes of Healthy Subjects. *Mutation Research*, 600, 184-192.
18. Dhillon, S, V., Thomas, P., Iarmarcovai, G., Volders, K, M., Bonassi, S., Fenech, M. (2011). Genetic Polymorphisms of Genes Involved in DNA Repair and Metabolism Influence Micronucleus Frequencies in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Mutagenesis*, 26 (1), 33-42.

19. Skjelbred, F, C., Stevendsen, M., Haugan, V., Eek, A, K., Clausen, O, K., Svendsen, V, M., Hansteen, I, L. (2006). DNA Repair Gene Polymorphisms of hOGG1, XRCC1, XRCC3, ERCC2 and The Folate Metabolism Gene MTHFR on Chromosomal Aberration Frequencies. *Mutation Research*, 602, 151-162.
20. Sever, T., Pehlivan, S. (2007). The Frequency of XRCC1 DNA Repair Gene A399G Polymorphism in THA Western Anatolia, *Gaziantep Üniversitesi Tıp Dergisi*, 1, 22-25.
21. Norppa, H. (2004). Cytogenetic Biomarkers and Genetic Polymorphisms. *Toxicology Letters*, 149, 309-334.
22. Marnett, L, J. (2000). Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 21, 361-370.
23. Ye ilada, E., ahin, ., Özcan, H., Yıldırım, , H., Yolo lu, S., Ta kapan, Ç. (2006). Increased Micronucleus Frequencies in Peripheral Blood Lymphocytes in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 154, 563-568.
24. Harris, S, E., Maruthini, D., Tang, T., Balen, A, H., Picton, M, H. (2010). Metabolism and Karyotype Analysis of Oocytes from Patiens with Polycystic Ovary Syndrome. *Human Reproduction*, 25 (9), 2305-2315.
25. Hamurcu, Z., Bayram, F., Kahriman, G., Altunta , H, D., Baskol, G. (2010). Micronucleus Frequency in Lymphocytes and 8-Hydroxydeoxyguanosine Level in Plasma of Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Gynecological Endocrinology*, 26 (8), 590-595.
26. Lee, S,Y. (2010). DNA Repair Pathways: Effects of SNPs on Their Functions and Their Role in Drug Resistance. The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong.
27. Wood, R,D. (2001). Mitchell, M., Sgouros, J., Lindahl ,T., Human DNA Repair Genes. *Science*, 291, 1284-1289.

28. Benhamou, S., Sarasin, A. (2002). ERCC2/XPD Gene Polymorphism and Cancer Risk. *Mutagenesis*, 17 (6), 463-469.
29. Battaglia, C., Mancini, F., Cianciosi, A., Busacchi, P., Facchinetti, F., Marchesini, G, R., Marzocchi, R., Aloysio, D. (2008). Vascular Risk In Young Women With Polycystic Ovary And Polycystic Ovary Syndrome. *Obstetrics and Gynecology*, 111 (2), 385-95.
30. Stein I, F., Leventhal M, L. (1935). Amenorrhea Associated With Bilateral Polycystic Ovaries. *Am J Obstet Gynecol*, 29, 181-191.
31. Essah, A, P., Wickham, E.P., Nestler, J, E. (2007). The Metabolic Syndrome In Polycystic Ovary Syndrome. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 50 (1), 205-225.
32. Brown, M, A., Chang, R, J. (2007). Polycystic Ovary Syndrome Clinical And Imaging Features. *Ultrasound Quarterly*, 23 (4), 233-238.
33. De irmencio lu, S. (2007). Polikistik Over Sendromunda TNF-ALFA (-308), nterlökin-6 (-174) ve nterlökin-10 (-1082) Gen Polimorfizmi. Yüksek Lisans Tezi, stanbul Üniversitesi, stanbul.
34. Goodarzi M, O., Azziz, R. (2006). Diagnosis , Epidemiology and Genetics of The Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 20, 193-205.
35. Stanley, T., Madhusmita, M. (2008). Polycystic Ovary Syndrome In Obese Adolescents. Current Opinion In Endocrinology. *Diabetes & Obesity*, 15, 30-36.
36. Nisenblat, V., Norman, R. (2009). Androgens And Polycystic Ovary Syndrome. Current Opinion In Endocrinology. *Diabetes & Obesity*, 16, 224-231.
37. Areej, H., Gordon, C, M. (2007). Polycystic Ovary Syndrome Update In Adolescence. *Current Opinion in Pediatrics*, 19, 389-397.
38. Angioni, S., Portoghese, E., Milano, F., Melis, G, B., Fulghesu, M, A. (2008). Diagnosis Of Metabolic Disorders In Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Obstetrical And Gynecological Survey*, 63 (12).
39. Katsiki, N., Apostolos, I, H. (2010). Insulin- Sensitizing Agents In The Treatment Of Polycystic Ovary Syndrome: An Update. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 22, 466-476.

40. Trivax, B., Azziz, R. (2007). Diagnosis Of Polycystic Ovary Syndrome. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 50 (1), 168-177.
41. Dumesic, D, A., Padmanabhan, V., Abbott, D.H. (2007). Polycystic Ovary Syndrome And Oocyte Developmental Competence. *Obstetrical And Gynecological Survey*, 63 (1).
42. Solomon, C, G. (2006). The Epidemiology of PCOS. Prevalance and Associated Disease Risks, *Endocrinol Metab North Am*, 28, 247-263.
43. Baumann, E, E., Rosenfield R, L. (2002). Polycystic Ovary Syndrome in Adolescence, *The Endocrinologist*, 12, 333-348.
44. Azziz, R. (2003). The Evolution and Management of Hirsutism, *Obstet And Gynecol*, 101, 1995-1007-10.
45. Deplewski, D., Rosenfield, R, L. (2000). Role of Hormenes in Plasebaceous Unit Development. *Endocr Rev*, 21, 363-392.
46. Olah, K, S. (2004). The Modern Management of Hirsutism. *Rev In Gynecol Practice*, 4, 211-220.
47. Azziz, R., Carmina, E., Sawaya, M, E. (2000). Idiopathic Hirsutism. *Endocrine Rev*, 21, 347-62.
48. Azziz, R., Carmina, E., Sawaya, M, E. (2000). Idiopathic Hirsutism. *Endocr Rev*, 21, 347-362.
49. Himelein, M, J., Thatcher, S, S. (2006). Polycystic Ovary Syndrome And Mental Health: A Review. *Obstetrical And Gynecological Survey*, 61 (11).
50. Hasheemipour, M., Faghihimani, S., Zolfaghary, B., Hovsepien, S., Ahmedi, F., Haghghi, S. (2004). Prevalance of Polycystic Ovary Syndrome in Girls Aged 14-18 Years in Isfahan, Iran. *Horm Res*, 62, 278-282.
51. Chen, M, J., Yang, W, S., Yang, J, H., Chen, C, L., Ho, H, N., Yang, Y, S.(2007) Relationship Between Androgen Levels And Blood Pressure In Young With Polycystic Ovary Syndrome. *Hypertension*, 49, 1442-1447.
52. Susanne, M., Veltman, V., Bas, B, R., Westerveld, H, E., Franx, A., Bruinse, H, W., Fauser, B, C, J, M., Goverde, A, J. (2010). *Menopause*, 17 (5),990-996.

- 53.** Demirci, H. (2007). Polikistik Over Sendromunda Adiponektin Gen Polimorfizmi Sıklığı ve Bunun Serum Adiponektin, Androjen Düzeyleri, İnsulin Direnci ve Klinik Parametrelerle İlişkisi. Yan Dal İhtisas Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- 54.** Salazar O, M., Bonfiglio, T, A., Patten, S, F., Keller, B, E., Feldstein, M., Dunne, M.E., Rudolph, J. (1978). Uterine sarcomas. Natural history, treatment and prognosis. *Cancer*, 42 (3), 1152–1160.
- 55.** Gadducci, A., Sartori, E., Landoni, F. (2002). The Prognostic Relevance Of Histological Type In Uterine Sarcomas: A Cooperation Task Force (CTF) Multivariate Analysis Of 249 Cases. *Eur J Gynaecol Oncol*, 23, 295-299.
- 56.** Solomon, C, G., (1999). The Epidemiology Of Polycystic Ovarian Syndrome. Prevalance And Associated Disease Risks. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 28, 247-263
- 57.** Resta, L., Russo, S., Colucci, G, A., Prat J. (2002) Morphologic Precursors Of Ovarian Epithelial Tumors. *Obstet and Gynecol*, 82, 181-186.
- 58.** Schildkraut, J, M., Schwingl, P, J., Bastos, E., Evanoff, A., Hughes, C. (1996). Epithelial Ovarian Cancer Risk Among Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet And Gynecol*, 88, 554-559.
- 59.** Atimo, W, U., El-Mahdi, E., Hardiman, P. (2003). Familial Associations In Women With Polycystic Ovary Syndrome. *Fertil Steril*, 80,143-145.
- 60.** Key,T, J., Pike, M, C. (1988). The Rol Of Oestrogens and Progestagens In The Epidemiology And Prevention Of Breast Cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 24, 29-43
- 61.** Zheng, W., Gao, Y, T., Shu, X, O. (2004). Population- Based Case-Control Study Of CYP11A Gene Polymorphism And Breast Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 13,709-714.
- 62.** Wild, S., Pierpoint, T., Jacobs, H., McKeigue, P. (2000). Long-Term Consequences Of Polycystic Ovary Syndrome: Results Of A 31 Year Follow-Up Study. *Hum Fertil*, 3, 101-105.

63. Balen, A. (2001). Polycystic Ovary Syndrome And Cancer. *Hum Reprod Update*, 7, 522-525
64. Urbanek, M., Spielman, R, S. (2002). Genetic Analysis Of Candidate Genes For The Polycystic Ovary Syndrome. *Current Opinion In Endocrinology & Diabetes*, 9,492-501
65. Menke, M, N., Strauss, J, F. (2007).Genetics Of Polycystic Ovarian Syndrome. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 50 (1), 188-204
66. Menke, M, N., Strauss, J, F. (2007). Genetic Approaches to Polycystic Ovarian Syndrome. *Current Opinion In Obstetrics and Gynecology*, 19, 355-359.
67. Çelik, Ö., Ye ilada, E., Haşçalık, ., Çelik, N., ahin, I. Keskin, L., Özerol, E. (2010). Angiotensin- Converting Enzyme Gene Polymorphism and Risk of Insulin Resistance in PCOS. *Reproductive BioMedicine Online*, 20, 492-498.
68. Hogeveen, K, N., Cousin, P., Pugeat, M., Dewailly, D., Soudan, B., Hammond, G, L. (2002). Human Sex Hormone-Binding Globulin Variants Associated with Hyper-Androgenism and Ovarian Dysfunction. *J Clin Invest*, 109, 973-981.
69. Ericson, G, F., Chung, D, G., Sit, A., DePaolo L, V., Shimasaki, S., Ling, L. (1995). Follistatin Concentrations in Follicular Fluid of Normal and Polycystic Ovary Syndrome Follicies. *Human Reprod*, 10, 2120-2124.
70. Norman, R, J., Milner, C, R., Groome, N, P., Robertson, D, M., (2001). Circulating Follistatin Concentrations are Higher and Activin Concentrations are Lower in Polycystic Ovarian Syndrome. *Human Reprod*, 16, 668-672.
71. Eldar-Geva, T., Spitz, I, M., Goome, N, P., Margalioth, E,J., Homburg, R. (2001). Follistatin and Activin A Serum Concentrations in Obese and Non-obese Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Hum Reprod*, 16 (12), 2552-6.
72. Brinkmann, A, O., Faber, P,W., van Rooij, H, C, J., Kuiper, G, G, J, M., Ris, C., Klaassen, P., Van Der Korput, J, A, G, M., Voorhorst, M, M., Van Laar J, H., Mulder, E., Trapman, J. (1989). The Human Androgen Receptor: Domain Structure, Genomic Organization and Regulation of Expression. *Journal of Steroid Biochemistry*, 34, (1-6), 307-310.

73. Franks, S., McCarthy, M. (2004). Genetics of Ovarian Disorders: Polycystic Ovary Syndrome. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 5, 69-76.
74. Gharani, N., Waterworth, D, M., Batty, S., White, D., Gilling-Smith, C., Conway, G. S., McCarthy, M., Franks, S., Williamson, R. (1997). Association of The Steroid Synthesis Gene CYP11a with Polycystic Ovary Syndrome and Hyperandrogenism. *Hum Mol Genet*, 6, 397-402.
75. Chua, A, K., R, Azziz.,O, Mark. (2012). Association Study of CYP17 and HSD11B1 in Polycystic Ovary Syndrome Utilizing Comprehensive Gene Coverage *Molecular Human Reproduction*, 18 (6), 320–324.)
76. Tezcan, G. (2008). PARP1 ve XRCC1 Polimorfizmlerinin Astım'da DNA Onarım Mekanizması ile Olan li kisinin Ara tırılması. Yüksek Lisans Tezi, stanbul Üniversitesi, stanbul.
77. Fenech, M. (2002). Chromosomal Biomarkers of Genomic Instability Relevant to Cancer. *DDT*, 7 (22).
78. Andreassi, M, G., Barale, R., Iozzo, P., Picano, E. (2011). The Association of Micronucleus Frequency with Obesity, Diabetes and Cardiovascular Disease. *Mutagenesis*, 26 (1), 77-83.
79. Kasai, H., Tanaka, I, N., Miyamoto, T., Kawanami, K., Kawanami, S., Kido, R., Ikeda, M. (2001). Life Style and Urinary 8-Hydroxy-Deoxyguanosine, a Marker of Oxidative DNA Damage: Effects of Exercise, Working Conditions, Meat Intake,, Body Mass Index, (T2DM). *Chem Biol Interact*, 173, 159-165.
80. Yoku , B., Çakır, D, Ü. (2002). Invivo Oksidatif DNA Hasarı Biomarkeri; 8-Hydroxy-2'Deoxyguanosine. *T Klin Med Sci*, 22
81. Dasanu, C, A., Clark III, B, A., Ichim, T, E., Alexandrescu, D,T. (2011). Polycystic Ovary Syndrome: Focus On Platelets And Prothrombotic Risk. *Southern Medical Journal*, 104 (3).
82. Tomasello, B., Malfa, G., Galvano, F., Renis, M. (2011). DNA Damage in Normal- Weight Obese Syndrome Measured by Comet Assay. *Med J Nut Metabol*, 4, 99-104.

- 83.** Legro, R, S., Kunselman, A, R., Dudson, W, C., Dunaif, A. (1999). Prevalance and Predictors of Risk for Type 2 Diabetes Mellitus and Impaired Glucose Tolerance in Polycystic Ovary Syndrome: a Prospective, Controlled Study in 254 Affected Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 84, 165-9.
- 84.** Ehrmann, D, A., Barnes, R, B., Rosenfield, R, L., Cavaghan, M, K., Imperial, J. (1999). Prevalance of Impaired Glucose Tolerance and Diabetes in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Diabetes Care*, 22, 141-6.
- 85.** Cinkılıç N., Kıyıcı, S., Çelikler, S., Vatan, O., Öz, G, O., Tuncel, E., Bilalo lu, R. (2009). Evaluation, of Chromosome Aberrations, Sister Chromatid Exchange and Micronuclei in Patiens with Type-1 Diabetes Mellitus. *Mutat Res*, 676, 1-4.
- 86.** Zuniga-Gonzales, G, M., Batista-Gonzales, C, M., Gomez-Meda, B, C., Ramos-Ibarra, M, L., Zamra-Perez, A, L., Munoz-Mangalanes, T., Ramos-Valdes, C., Gallegos-Arreola, M, P., (2007). Micronuclei in Diabetes: Folate Supplementation Diminishes Micronuclei in Diabetic Patiens but not in an Animal Model. *Mutat Res*, 634, 126-134.
- 87.** Martinez-Perez, L, M., Cerda-Flores, R, M., Gallegos-Cabriales, E, C., Davilla-Rodriguez, M, I., Ibarra-Costilla, E., Cortes-Gutierrez, E, I. (2007). Frequency of Micronuclei in Mexicans with Type2 Diabetes Mellitus. *Praque Med Rep*, 108, 248-255.
- 88.** Andreassi, M, G., Botto, N., Simi, S., Casella, M.,Manfredi, S., Lucarelli, M., Venneri, L., Biagini, A., Picano, E. (2005). Diabetes and Chronic Nitrate Therapy as co-Determinants of Somatic DNA Damage in Paties with Coronary Artery Disease. *J Mol Med*, 83, 279-286.
- 89.** Güven, M., Güven, G, S., Öz, E., Özyaydn, A., Batar, B., Ulutin, T., Hacıhanefio lu, S., Domanic, N. (2007). DNA Repair Gene XRCC1 and XPD Polymorphisms and Their Association with Coronary Artery Disease Risks and Micronucleus Frequency. *Heart Vessels*, 22, 355-360.
- 90.** Venkatesh, S., Kumar, M., Sharma, A., Kriplani, A., Ammini, A, C., Talwa,r P., Agarwal, A., Dada, R., (2010). Oxidative Stress and ATPase6 Mutation is Associated with Primary Ovarian Insufficiency. *Arch Gynecol Obstet*, 282, 313-318.

- 91.** Agarwal, A., Gupta, S., Sharma, R, K. (2005). Role of Oxidative Stress in Female Reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*, 3, 28.
- 92.** Wu, Y., Zhang, X., Kang, X, Li, N., Wang, R., Hu, T., Xiang, M., Wang, X., Yuan, W., Chen, A., Meng, D., Chen, S. (2013). Oxidative Stress Inhibits Adhesion and Transendothelial Migration, and Induces Apoptosis and Senescence of Induced Pluripotent Stem Cells, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 40 (9) 626–634.
- 93.** Förstermann, U. (2010). Nitric Oxide and Oxidative Stress in Vascular Disease. *Eur. J. Physiol*, 459 (6), 923-939
- 94.** Dizdaro lu, M., Pawel, J. (2012). Mechanisms of Free Radical-Induced Damage to DNA. *Free Radical Research*, 46 (4), 382–419
- 95.** Memi o ulları, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.
- 96.** Vincent A,M., Russel, J, W., Feldman, E, L. (2004). Oxidative Stress in The Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*, 25, 612-628.
- 97.** Memi o ulları, R., Taysi, S., Bakan, E., Çapao lu, I. (2003). Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Fun*, 21, 291-296.
- 98.** Dizdaro lu, M., Jaruga, P., Birincio lu, M., Rodriguez, H. (2002). Free Radical-Induced Damage to DNA: Mechanisms and Masurement . *Free Radical Biology & Medicine*, 32 (11), 1102-1115.
- 99.** Giuseppe Banfi, Iorio, G, E, L., Corsi, M, M. (2008). Oxidative Stress, Free Radicals and Bone Remodeling. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 46 (11), 1550–1555.
- 100.** Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M, C., Mecocci, C. (2005). Potential Markers of Oxidative Stress in Stress in Stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, 39, 841-852.
- 101.** Friedberg, E,C., Walker, G, C., Siede, W., Wood, R, D., Schultz, R, A., Ellenberger, T. (2006). *DNA Repair and Mutagenesis*, Washington DC: ASM Press,

- 102.** Onur, E., Turul, B., Bozyigit, F. (2009). DNA Damage and Repair Mechanisms. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 7 (2), 61-70.
- 103.** Peterson, C, L., C, Jacques. (2004). Cellular Machineries for Chromosomal DNA Repair. *Genes & Development*, 18, 602-616.
- 104.** Auerbach, P., Bennett, R, A., Bailey, E, A., Krokan, H, E., Demple, B., (2005). Mutagenic Specificity of Endogenously Generated Abasic Sites in *Saccharomyces cerevisiae* Chromosomal DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 17711-6.
- 105.** Li, L., Zou, L. (2005). Sensing, Signaling, and Responding to DNA Damage: Organization of The Checkpoint Pathways in Mammalian Cells. *J Cell Biochem*, 94, 298-306.
- 106.** Emerce, E, T. (2007). DNA Onarım Enzimi OGG1 Ser326Cys Polimorfizmi ile Akciğer Kanseri ile kisinin Türk Popülasyonunda Araştırılması ve Oksidatif Hasarın Biyogöstergesi 8-OHdG Ölçümü. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- 107.** Cooke, M, S., Evans, M, D., Dizdaro lu, M. Lunec, J. (2003). Oxidative DNA Damage: Mechanisms, Mutation and Disease. *FASEB Journal*, 17, 1195-1214.
- 108.** Evans, M, D., Dizdaro lu, M., Cooke, M, S. (2004). Oxidative DNA Damage and Disease: Induction, Repair and Significance. *Mutation Research*, 567, 1-61.
- 109.** Dizdaro lu, M. (2005). Base-Excision Repair of Oxidative DNA Damage by DNA Glycosylase. *Mutation Research*, 591, 45-59.
- 110.** Duarte, V., Gasparutto, D., Jaquinod, M., Cadet, J. (2000). In Vitro DNA Synthesis Opposite Oxazolone and Repair of This DNA Damage Using Modified Oligonucleotides. *Nucl Acids Res*, 28, 1555-1563.
- 111.** Kamiya, H., Kasai, H. (1995). Formation of 2-Hydroxydeoxyadenosine Triphosphate, an Oxidatively Damaged Nucleotide, and its Incorporation by DNA Polymerases. Steady-State Kinetics of The Corporation. *J Biol Chem*, 270, 19446-19450.

- 112.** Basu, A. K., Loechler, E. L., Leadon, S. A., Essigmann, J. M. (1989). Genetic Effects of Thymine Glycol: Site-Specific Mutagenesis and Molecular Modelling Studies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86, 7677-7681.
- 113.** Yoshida, M., Makino, H., Morita, H., Tearato, H., Ohyama, Y., Ide, H. (1997). Substrate and Mismatching Properties of 5-formyl-2'-deoxyuridine 5'-triphosphate Assessed by in vitro DNA Polymerase Reactions. *Nucl Acids Res*, 25, 1570-1577.
- 114.** Roy-Burmann, S., Roy-Burmann, P., Visser, D. W. (1970). Studies on The Effect of Triphosphates of 5-aminouridine and 5-hydroxydeoxyuridine on Ribonucleic Acid Polymerases. *Biochem Pharmacol*, 19, 2745-2756.
- 115.** Evans, J., Maccabee, M., Hattahet, Z., Courcelle, J., Bockrath, R., Ide, H., Wallace, S. (1993). Thymine Ring Saturation and Fragmentation Products: Lesion Bypass. *Mutat Res*, 299, 147-156.
- 116.** Engin, A. B. (2008 ). Gastrointestinal Adenokarsinomaları ile Bazı DNA Onarım Genleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- 117.** Memişoğlu, A., Samson, L. (2000). Base Excision Repair in Yeast and Mammals. *Mutat Res*, 451 (1-2), 39-51.
- 118.** Tudek, B. (2007). Base Excision Repair Modulation as a Risk Factor for Human Cancers. *Molecular Aspects of Medicine*, 28, 258-275.
- 119.** Martin, L. J. (2008). DNA Damage and Repair: Relevance to Mechanisms of Neurodegeneration. *J Neuropathol Exp Neurol*, 67 (5), 377-387.
- 120.** Nemeček, A. A., Wallace, S. S., Sweasy, J. B. (2012). Variant Base Excision Repair Proteins: Contributors to Genomic Instability. *Seminars in Cancer Biology*, 20, 320-328.
- 121.** Sharma, A. R., Dianov, G. L. (2007). Targeting Base Excision Repair to Improve Cancer Therapies. *Molecular Aspects of Medicine*, 28, 345-374.

- 122.** Mourgues, S., Lomax, M, E., Neill, P., (2007). Base Excision Repair Processing of Abasic Site/Single-Strand Break Lesions Within Clustered Damage Sites Associated With *XRCC1* Deficiency. *Nucleic Acids Research*, 35 (22), 7676-7687.
- 123.** Sossou, M., Flohr-Bechaus, C., Schulz, I., Daboussi, F., Epe, B., Radicella, J, P. (2005). *APE1* Overexpression in *XRCC1* Deficient Cells complements The Defective Repair Oxidative Single-Strand Breaks But Increases Genomic Instability. *Nucleic Acids Res*, 33, 298-306.
- 124.** Abbotts, R., Madhusudan, S. (2010). Human AP Endonuclease 1 (*APE1*): From Mechanistic Insights to Druggable Target in Cancer. *Cancer Treatment Reviews*, 36, 425-435.
- 125.** Goode, E, L., Ulrich, C, M., Potter, J, D. (2002). Polymorphisms in DNA Repair Genes and Associations with Cancer Risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 11, 1513-1530.
- 126.** Karata , L. (2009). DNA Onarım Mekanizması ile ilişkili: *XRCC1*, *PARP1*, *OGG1* Ve *APE1* Gen Polimorfizmleri ile Diyabetik Nefropati Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul
- 127.** Wood, R, D., Mitchell, M., Lindahl, T. (2005). Human DNA Repair Genes. *Mutant Res*, 577, 275-283.
- 128.** Srivasta, D, K., Vande, B, B, J., Prasad, R. (1998). Mammalian Abasic Site Base Excision Repair. Identification of The Reaction Sequence and Rate-Determining Steps. *J Biol Chem*, 273, 21203-21209.
- 129.** Hoeijmakers, J, H, J. (2001). Genome Maintenance Mechanisms for Preventing Cancer. *Nature*, 411 (6835), 366-74.
- 130.** Matsumoto, Y., Kim, K., Bogenhagen, D, F. (1994). Proliferating Cell Nuclear Antigen- Dependent Abasic Site Repair in *Xenopus Laevis* Oocytes: An Alternative Pathway of Base Excision Repair. *Mol Cell Biol*, 14 (9), 6187-97.
- 131.** Christmann, M., Tomacic, M, T., Roos, W, P., Kaina, B.,

- (2003). Mechanisms of Human DNA Repair: an Update. *Toxicology*, 15, 193 (1-2), 3-34.
- 132.** Staresinic, L. (2007). Coordination Of Dual ncision and Repair Synthesis in Human Nucleotide Excision Repair. Stony Brook University, New York.
- 133.** Batty, D, P., Wood, R, D. (2000). Damage Recognition in Nucleotide Excision Repair of DNA. *Gene*, 241, 193-204.
- 134.** Benhamou, S., Sarasin, A. (2005). ERCC2/*XPD* Gene Polymorphisms and Lung Cancer: A Huge Review. *American Journal of Epidemiology*, 161 (1), 1-14.
- 135.** Kulaksız, G., Sancar, A. (2007). Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser . *Turkish J Biochem*, 32 (3), 104-111.
- 136.** Mitrunen, K., Hirvonen, A. (2003). Molecular Epidemiology of Sporadic Breast Cancer. The Role of Polymorphic Genes Involved in Oestrogen Biosynthesis and Metabolism. *Mutation Research*, 544, 9-41.
- 137.** Park, C, J., Choi, B, S. (2006). The Protein Shuffle. Sequential Interactions Among Components of The Human Nucleotide Excision Repair Patway. *The Febs Journal*, 273, 1600-1608.
- 138.** Attar, R., Cacina, C., Sozen, S., Attar, E., Agachan, B. (2010). DNA Repair Genes in Endometriosis. *Genetics and Molecular Research*, 9 (2), 629-636.
- 139.** Pascucci, B., Errico, M, D., Parlanti, E., Giovanni, S., Dogliotti, E. (2011). Role of Nucleotide Excision Repair Proteins in Oxidative DNA Repair: an Updating. *Biochemistry (Moscow)*, 76 (1), 4-15.
- 140.** Sugasawa, K., Okuda, Y., Saijo, M., Nishi, R., Matsuda, N., Chu, G., Mori, T., Iwai, S., Tanaka, K., Hanaoka, F. (2005). UV-Induced ubiquitylation of XPC Protein Mediated by UV-DDB-Ubiquitin Ligase Complex. *Cell*, 121, 387-400.
- 141.** Tang, J., BChu, G. (2002). Xeroderma Pigmentosum Group E and UV-Damaged DNA Binding Protein. *DNA Repair*, 1, 601-616.

- 142.** Fisher, L., Moncollin, V., Chipoulet, J, M., Chambon, P., Egly, J, M. (1991). Purification and Interaction Properties of Human RNA Polymerase B (II) General Transcription Factor BTF2. *J Biol Chem*, 266, 20940-20945.
- 143.** Dip, R., Camenisch, U., Naegeli, H. (2004). Mechanisms of DNA Damage Recognition and Strand Discrimination in Human Nucleotide Excision Repair *DNA Repair (Amst)*, 3, 1409-1423.
- 144.** Schaffer, L., Moncollin, V., Roy, R., Staub, A., Mezzina, M., Sarasin, A. Weeda, G., Hoejimakers, J, H., Egly, J, M. (1994).The ERCC2/DNA Repair Protein is Associated with The Class II BTF2/TFIIH Transcription Factor. *Embo J*, 13, 2388-2392.
- 145.** Evans, E., Moggs, J, G., Hwang, J,R., Egly, J, M., Wood, R, D. (1997). Mechanism of Open Complex and Dual Incision Formation by Human Nucleotide Excision Repair Factors. *Embo J*, 16, 6554-6573.
- 146.** nan Z. (2008). Larinks Kanserli Hastalarda DNA Tamir Geni Polimorfizmlerinin PZR-RFLP Yöntemiyle Ara tırılması. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- 147.** Sijbers, A, M., Laat, W, L., Ariza, R,R., Biggerstaff, M., Wei, Y, F., Moggs, J, G., Carter, K, C., Shell, B, K., Evans, E., Jong, M, C. (1996). Xeroderma Pigmentosum Group F Caused by a Defect in a Structure- Specific DNA Repair Endonuclease. *Cell*, 86, 811-822.
- 148.** Lehman, A, R. (2006). Translesion Synthesis in Mammalian Cells. *Exp Cell Res*, 312, 2673-2676.
- 149.** Sancar, A., Lindsey, B, L, A., Kaçmaz, Ü, K., Linn, S. (2004). Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and The DNA Damage Checkpoints. *Annu Rev Biochem*, 73, 39-85.
- 150.** Sancar, A, Reardon, J, T. (2004). Nucleotide Excision Repair in E.coli and Man. *Advances in Protein Chemistry*, 69, 43-71.

- 151.** Hanawalt, P.C. (2002). Subpathways of Nucleotide Excision Repair and Their Regulation. *Oncogene*, 21, 8949-56.
- 152.** Özcan, A. (2008). Hematolojik Maligniteli Hastalarda DNA Tamir Genlerindeki (*XRCC1* ve *XPD*) Polimorfizmlerin Ara tırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, zmir.
- 153.** Leibeilling, D., Laspe, P., Emmert, S. (2006). Nucleotide Excision Repair and Cancer. *J Mol Hist*, 37, 225-238.
- 154.** Hu, J, J.,, Mohrenweiser, H, W., Bell, D, A., Leadon, S,A., Miller, M, S (2002). Syposium Overview: Genetic Polymorphisms in DNA Repair and Cancer Risk. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 185, 64-73.
- 155.** Kocaba , N, A., Karahalil, B. (2006). *XRCC1 Arg399Gln* Genetic Polymorphism in a Turkish Population. *International Journal of Toxicology*, 25, 419-422.
- 156.** Ladiges, W, C. (2006). Mouse Models of *XRCC1* DNA Repair Polymorphisms and Cancer. *Oncogene*, 25, 1612-1619.
- 157.** Ginsberg, G., Angle, K., Guyton, K., Sonawane, B. (2011). Polymorphism in The DNA Repair Enzyme *XRCC1*: Utility of Current Database and Implications for Human Health Risk Assessment. *Mutation Research*, 727, 1-15.
- 158.** Duman, N. (2008). Kronik Lenfositik Lösemili Hastalarda *XRCC1* (X-Ray Cross Complementing Group 1) Geninde Arg399Gln ve Arg194Trp Polimorfizmlerinin Ve Karde Kromatid De i imi Sıklı ı le Korelasyonlarının Ara tırılması. Doktora Tezi, stanbul Üniversitesi, stanbul.
- 159.** Levy, N., Martz, A., Bresson, C., Spenlehauer, C., Murcia, G., Murcia, J, M. (2006). *XRCC1* is Phosphorylated by DNA-Depentend Protein Kinase in Responce to DNA Damage. *Nucleic Acids Research*, 34 (1), 32-41.
- 160.** Audebert, M., Salles, B., Calsou, P. (2004). Involvement of Poly (ADP-Ribose) Polymerase-1 and *XRCC1*/DNA Ligase III in an Alternative Route for DNA Double-Strand Breaks Rejoining. *Journal of Biological Chemistry*, 279 (53), 55117-55126.

- 161.** Vidal, A, E., Boiteux, S., Hickson, I, D., Radicella, J, P. (2001) . *XRCC1* Coordinates The Initial and Late Stages of DNA Abasic Site Repair Through Protein-Protein Interactions. *EMBO Journal*, 20 (22), 6530-6539.
- 162.** Sterpone, S., Cozzi, R. (2010). Influence of *XRCC1* Genetic Polymorphisms of Ionizing Radiation-Induced DNA Damage and Repair. *Journal of Nucleic Acids*, 780369-780375.
- 163.** Wang, Q., Tan, H, S., Zhang, F., Suni Y., Feng, N, N., Zhou, L, F., Ye, Y, J., Zhu, Y, L., Rauf, P, W, R., Shao, H., Xia, Z, L. (2013). Polymorphisms in BER and NER Patway Genes: Effect on Micronucleus Frequencies Among Vinyl Chloride-Exposed Workers in Nothern China. *Mutation Research*, 754, 7-14.
- 164.** Smith, T, R., Miller, M, S., Lohman, K., Lange, E, M., Case, L, D., Mohrenweiser, H, W., Hu, J, J. (2003). Polymorphisms of *XRCC1* and *XRCC3* Genes and Susceptibility to Breast Cancer. *Cancer Letters*, 190, 183-190.
- 165.** Sterpene, S., Mastellone, V., Padua, L., Novelli, F., Patrono, C., Cornetta, T., Giammarino, D., Donata, V., Testa, A., Cozzi, R (2010). Single-Nucleotide Polymorphisms in BER and HRR Genes, *XRCC1* Haplotypes and Breast Cancer Risk in Caucasian Women. *J Cancer Res Clin Oncol*, 136, 631-636.
- 166.** Sobczuk, A., Poplawski, T., Blasiak, J. (2012). Polymorphisms of DNA Repair Genes in Endometrial Cancer. *Pathol. Oncol. Res*, 18, 1015-1020.
- 167.** Abbaso lu, S, D., Tanrikulu, S., Ademo lu, E., Erbil, Y., Özderya, A., Karada , B., Uysal, M. (2009). Polymorphisms of DNA Base-Excision Repair Genes APE/Ref-1 and *XRCC1* are not Associated with The Risk for Graves' Disease. *Cell Biochemistry and Function*, 27, 462-467.
- 168.** Duell, E, J., Holly, E, A., Bracci, P, M., Wiencke, J, K., Kelsey, K, T. (2002). A Population-Based Study of The Arg399Gln Polymorphism in *XRCC1* and Risk of Pancreatic Adenocarcinoma. *Cancer Research*, 62 (16), 4630-4636.
- 169.** Guven, M., Guven, G, S., Oz, E., Ozaydin, A., Batar, B., Ulutin, T., Hacıhanefio lu, S., Domanic, N. (2007). DNA Repair Gene *XRCC1* and XPD

Polymorphisms and Their Association With Coronary Artery Disease Risks and Micronucleus Frequency. *Heart Vessels*, 22, 355-360.

**170.** Lei, Y. C., Hwang, S. J., Chang, C.C., Kuo, H. W., Luo, J. C. Chang, m. j., Cheng, T. J. (2002). Effect on Sister Chromatid Exchange Frequency of Polymorphisms in DNA Repair Gene XRCC1 in Smokers. *Mutat Res*, 519, 93-101.

**171.** Chanvaivit, S., Navasumrit, P., Hunsonti, P., Autrup, H., Ruchirawat, M. (2007). Exposure Assessment of Benzene in Thai Workers, DNA-Repair Capacity and Influence of Genetic Polymorphisms, *Mutat Res*, 626, 79-87.

**172.** Weissman, L., Souza-Pinto, N. C., Stevensner, T., Bohr, V. A. (2007). DNA Repair, Mitochondria, and Neurodegeneration. *Neuroscience*, 145, 1318-1329.

**173.** Hadi, M. Z., Ginalski, K., Nguyen, L. H., Wilson, S. D.M. (2002). Determinants in Nuclease Specificity of *APE1* and *APE2*, Human Homologues of Escherichia coli Exonuclease III. *J Mol. Biol*, 316, 853-866.

**174.** Atamna, H., Cheung, I., Ames, B. H. (2000). A Method for Detecting Abasic Sites in Living Cells: Age-Dependent Changes in Base Excision Repair. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97, 686-91.

**175.** Gu, D., Wang, M., Wang, S., Zhang, Z., Chen, J. (2011). The DNA-Repair Gene *APE1* T1349G Polymorphisms and Risk of Gastric Cancer in Chinese Population. *Plos One*, 6 (12).

**176.** Ji, Y. N., Zhan, P., Wang, J., Qiu, L. X., Yu, L. K. *APE1 Asp148Glu* Gene Polymorphism and Lung Cancer Risk: A Meta- Analysis. *Mol Biol Rep*, 38, 4537-4543

**177.** Kang, H., Dai, Z., Ma, X., Ma, L., Jin, Y., Liu, X., Wang, X. (2013). A Genetic Variant in The Promoter Gene (-656T G) is Associated With Breast Cancer Risk and Progression in Chinese Population. *Gene*, 531, 97-100.

**178.** Maynard, S., Schurman, H. S., Harboe, C., Souza-Pinto, N. C., Bohr, V. A. (2009). Base Excision Repair of Oxidative DNA Damage and Association with Cancer Aging. *Carcinogenesis*, 30 (1), 2-10.

- 179.** Stary, A., Sarasin, A. (2002). The Genetics of The Hereditary Xeroderma Pigmentosum Syndrome. *Biochimie*, 84, 49-60.
- 180.** <http://ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>
- 181.** Manuguerra, M., Saletta, F., Karagas, M, R., Berwick, M., Veglia, F., Vineis, P., Matullo, G. (2006). XRCC3 and XPD/ERCC2 Single Nucleotide Polymorphisms and The Risk of Cancer: A Huge Review. *American Journal of Epidemiology*, 164 (4), 297-302.
- 182.** Costa, S., Pinto, D., Pereira, D., Vasconcelos, A., Afonso, L., Osorio, T., Lopes, C., Medeiros, R. (2007). Importance of Xeroderma Pigmentosum Group D Polymorphisms in Susceptibility to Ovarian Cancer. *Cancer Lett*, 246, 324-330.
- 183.** Gallon, D, B., Bosviel, R., Dellort, L., Fontana, L., Chamoux, A., Rabiau, N., Kwiatkowski, F., Chalabi, N., Satih, S., Bignon, Y, J. (2008). DNA Repair Gene ERCC2 Polymorphisms and Association with Breast and Ovarian Cancer Risk. *Molecular Cancer*, 7, 36.
- 184.** Vodicka, P., Kumar, R., Stetina, R., Sanyal, S., Soucek, P., Haufroid, V., Dusinska, M., Kuricova, M., Zamecnikova, M., Musak, L., Buchancova, J., Norppa, H., Hirvonen, A., Vodickova, L., Naccarati, A., Matouso, Z., Hemminki, K. (2004). Genetic Polymorphisms in DNA Repair Genes and Possible Links With, DNA Repair Rates, Chromosomal Aberarations and Single- Strand Breaks in DNA. *Carcinogenesis*, 25, 757-763.
- 185.** Dokras, A., Clifton, S., Futterweit, W., Wild, R. (2011). Increased Risk for Abnormal Depression Scores in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Obstetrics&Gynecology*, 117 (1),
- 186.** Altan, N., Dinçel, A, S., Koca, C. (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Turkish Journal of Biochemistry*, 31 (2),51-56.
- 187.** Marnett, L, J. (2000). Oxyradicals and DNA Damage. *Carcinogenesis* 21, 361-370.

- 188.** Da, Silva, A, L, G., da, Rosa, H, T., Karnopp, T, E., Charlier, C, F., Ellwanger, J, H., Moura, D, J., Possuelo, L, G., Valim, A, R, D., Guecheva, T, N., Henriques, J, A, P. (2013). Evaluation of DNA damage in COPD patients and its correlation with polymorphisms in repair genes. *BMC Medical Genetics*, 14 (93), 1471-2350
- 189.** Kadıo lu, E. (2008). Barret Özofagus Hastalığına Genetik Duyarlılıkta Oksidatif DNA Hasarı, DNA Onarım Kapasitesi ve İlgili Bazı Gen Polimorfizmlerinin Rolünün Ara tırılması. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- 190.** Chung, H, H., Kim, M-K., Kim, J, W., Park, N-H., Song, Y-S., Kang, S, B., Lee, H-P. (2006). *XRCCI* R399Q Polymorphism is Associated with Response to Platinum-Based Neoadjuvant Chemotherapy in Bulky Cervical Cancer. *Gynecologic Oncology*, 103, 1031-1037.
- 191.** Silva, N, S., Rita, M., A, P, Azevedo., Gouveia, R., Manita, I., Pina, J, E., Rueff, J., Gaspar, J. (2007). Menopausal age and *XRCCI* Gene Polymorphisms: Role in Breast Cancer Risk. *Cancer Detection and Prevention*, 31, 303-309.
- 192.** Vural, P., De irmencio lu, S., Abbaso lu, S, D., Saral, N, Y., Akgül, C., Uysal, M. (2009). Genetic Polymorphisms in DNA Repair Gene *APE1*, *XRCCI* and *XPD* and The Risk of Pre-eclampsia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 146, 160–164.
- 193.** Nersesyan, A. Chobanyan, N. (2010). Micronuclei and Other Nuclear Anomalies Levels in Exfoliated Buccal Cells and DNA Damage in Leukocytes of Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Buon*, 15 (2), 337-339
- 194.** Fenech, M., Perepetskaya, G., Mikhalevich, L.(1997). A More Comprehensive Application of The Micronucleus Technique or Biomonitoring of Genetic Damage Rates in Human Populations - Experiences from the Chernobyl Catastrophe. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 30 (2), 112-118.
- 195.** Ruyck, K, D., Szaumkessel, M., Rudder, I, D., Dehoorne, A., Varl, A., Claes, K., Velghe, A., Meerbeeck, J, V., Thierens, H. (2007). Polymorphisms in Base-

Excision Repair and Nucleotide-Excision Repair Genes in Relation to Lung Cancer Risk. *Mutation Research*, 631, 101-110

**196.** Li, H., Ha, T, C., Tai, B, C. (2009). *XRCC1* Gene Polymorphisms and Breast Cancer Risk in Different Poulations: A Meta-Analysis. *The Breast*, 18, 183-191

**197.** Dhillon, V, S., Thomas, P., Iarmarcovai, G., Volders, M, K., Bonassi, S., Fenech, M. (2011). Genetic Polymorphisms of Genes Involved in DNA Repair and Metabolism Influence Micronucleus Frequency in Human Studies. *Mutagenesis*, 26, 33-42.

**198.** Gangwar, R., Manchanda, P, K., Mittal, R, D. (2009). Implications of *XRCC1*, *XPD* and *APE1* Gene Polimorphism in North Indian Ppulation: aComparative Approach in Different Ethnic Groups Worldwide. *Genetica*, 136,163-169

**199.** Yoshimitsu, N., Keitaro, M., Hidemi, I., Kaoru, H., Kazuo, T., Toru, N., Akihiro, N., Kazuo, K., Akiko, T., Nobuyuki, H. (2005). Association of *XRCC1 Arg399Gln* and *OGG1 Ser326Cys* Polymorphisms with The Risk of Cervical Cancer in Japanese Subjects. *Gynecologic Oncology*, 99, 43-49.

**200.** Kim, S, U., Park, S, K., Yoo, K, Y., Yoon, K, S., Choi, J, Y., Seo, J, S., Park, w, y., Kim, J, H., Noh, D, Y., Ahn, S, H., Choe, K, J., Strickland, P, T., Hirvonen, A., Kang, D. (2002). *XRCC1* Genetic Polymorphism and Breast Cancer Risk. *Pharmacogenetics*, 12, 335-338.

**201.** Gu, D., Wang, M., Wang, M., Zhang, Z., Chen, J (2009). The DNA Repair Gene *APE1* T1349G Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta Analysis of 27 Case-Control Studies. *Mutagenesis*, 24 (6), 507-512.

**202.** Zhou, B., Shan, H., Su, Y., Xia, K., Shao, X., Mao, W., Shao, Q. (2011). The Association of *APE1* -656T G and 1349 G and Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-Analysis Based on 37 Case-Control Studies. *BMC Cancer*, 11, 521.

**203.** Shekari, M., Sobti, R, C., Tamandani, D, M, K., Malekzadeh, K., Kaur, P., Suri, V. (2008). Association of Genetic Polymorphism of the DNA Base-Excision Repair Gene (*APE-1 Asp148 Glu*) and HPV Type (16/18) with the Risk of Cervix Cancer in North Indian Population. *Cancer Bimakers*, 4, 36-71.

- 204.** Dhillon, V, S., Thomas, P., Iarmacovai, G., Volders, M, K., Bonassi, S., Fenech, M. (2011). Genetic Polymorphisms of Genes Involved in DNA Repair and Metabolism Influence Micronucleus Frequencies in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Mutagenesis*, 26 (1), 33-42.
- 205.** Dönmez-Altuntas, H., Sahin, F., Bayram, F., Bitgen, N., Mert, M., Guclu, K., Hamurcu, Z., Aribas, S., Gundogan, K., Diri, H. (2014). Evaluation of Chromosomal Damage, Cytostasis, Cytotoxicity, Oxidative DNA Damage and Their Association with Body-Mass Index in Obese Subjects. *Mutation Research-Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 771, 30-36.
- 206.** Sreeja, L., Syamala, S, V., Syamala, Vani., Hariharan, S., Raveendran, P, B., Vijayalekshmi, R, V., Madhavan , J. (2008). Prognostic importance of DNA Repair Gene Polymorphisms of *XRCC1 Arg399Gln* and *XPB Lys751Gln* in Lung Cancer Patients from India. *J Cancer Res Clin Oncol*, 134, 645-652.
- 207.** Metsola, K., Kataja, V., Sillanpaa, P., Siivola, P., Heikinheimo, L., Eskelinen, M., Kosma, V, M., Uusitupa, M., Hirvonen, A. (2005). *XRCC1* and *XPB* Genetic Polymorphisms, Smoking and Breast Cancer Risk in a Finnish Case-Control Study. *Breast Cancer Research*, 987-997
- 208.** Manuguerra, M., Saletta, F., Karagas, M, R., Berwick, M., Veglia, F., Vineis, P., Matullo, G. (2006). *XRCC3* and *XPB/ERCC2* Single Nucleotide Polymorphisms and the Risk of Cancer. *American Journal of Epidemiology*, 164 (4).
- 209.** Lunn, R, M., Helzlsouer, K, J., Parshad, R., Umbach, D, M., Harris, E, L., Sanford, K, K., Bell, D, A. (2000). *XPB* Polymorphisms: Effects on DNA Repair Proficiency. *Carcinogenesis*, 21, 551-555.
- 210.** Duell, E, J., Wiencke, J, K., Cheng, T, J., Varkonyi, A., Zuo, Z., F., Ashok, T, D., Mark, E, J., Wain, J, C., Christiani, D, C., Kelsey, K, T. (2000). Polymorphisms in The DNA Repair Genes *XRCC1* and *ERCC2*, and Biomarkers of DNA Damage in Human Blood Mononuclear Cells. *Carcinogenesis*, 21, 965-971.

**211.** Ramachandran, S., Ramadas, K., Hariharan, R., Kumar, R, R., Pillai, R, M. (2006). Single Nucleotide Polymorphisms of DNA Repair Genes *XRCC1 XPD* and Its Molecular Mapping in Indian Oral Cancer. *Oral Oncology*, 42, 350-362.

**EKLER**

Ek: ET K KURUL ONAYI

MALATYA  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Sayı: 14584264/12<sup>9</sup>  
Konu:2010/85 no.lu çalışma

23/10/2014

Sayın;  
Prof. Dr. Elif YEŞİLADA  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D.

2010/85 Protokol no.lu "Polikistik Over Sendromlu (PCOS) olgularda APE1, XRCC1 ve XPD DNA tamir genlerindeki genetik polimorfizm" isimli çalışmanın başlığının "Polikistik Over Sendromlu olgularda XRCC1, APE1 ve XPD DNA tamir genlerindeki polimorfizmlerin araştırılması" şeklinde değiştirilmesi Etik Kurul tarafından incelenmiş ve uygun bulunmuştur.

  
Prof. Dr. Rifat KARLIDAĞ  
Etik Kurul Başkanı

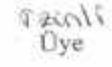
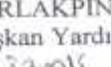
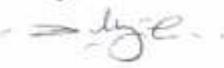
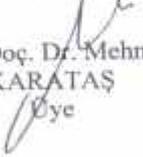
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İNSAN ETİK KURUL KARARI**



Toplantı Tarihi : 03/08/2010  
Toplantı Yeri : TÖTM -MALATYA  
Araştırmanın Protokol No.su : 2010/85  
Sorumlu Araştırmacı Ünvanı/Adı/Soyadı : Prof. Dr. Elif YEŞİLADA

“Polikistik Over Sendromlu (PCOS) olgularda APE1, XRCC1 ve XPD DNA tamir genlerindeki genetik polimorfizm” konulu araştırma incelenmiştir.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacıya ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakıncanın bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Prof.Dr. Metin GENÇ Başkan 	Prof. Dr. Tamer BAYSAL Üye 	Doç.Dr.Hakan PARLAKPINAR Başkan Yardımcısı 
Doç.Dr.M. Tayyar KALCIOĞLU Üye Katılmadı	Doç.Dr. Ahmet KARADAG Üye 	Yrd.Doç.Dr.Arzu KARAKURT Üye 
Yrd.Doç.Dr.Ahmet ÇİĞLİ Üye 	Yrd. Doç. Dr. Emine ŞAMDANCI Üye 	Yrd. Doç. Dr. Mehmet KARATAŞ Üye 

## ÖZGEÇM

Lisans: nönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: nönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Doktora: nönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı (Devam ediyor)

## Üyesi Oldu u Bilimsel ve Mesleki Kurulu lar

1.Tıbbi Genetik Derne i

2.Biyologlar Derne i

### A. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Gülbay G., Ye ilada E., Aydo du ., Özgen Ü., Otlu G., Malatya Bölgesinde Beta-Talasemi Mutasyonları. nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 16(4):209-212, 2009.

2. Savacı S, Yüksel ., Ye ilada E., Kaygusuzo lu E., Gülbay G., nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda Do um Öncesi Tanı Çalı malarının ki Yıllık De erlendirmesi. nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 15(1): 19-24, 2008.

3. Yüksel ., Savacı S., Ye ilada E., Gülbay G, Otlu G, Kaygusuzo lu E. 2004-2006 Dönemi Pediatrik Hastaların Periferik Kan Sitogenetik Sonuçlarının De erlendirilmesi. nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 13(4):253-256, 2006.

4. Ye ilada E., Savacı S., Yüksel ., Gülbay G., Otlu G., Kaygusuzo lu E., Ailesel Akdeniz Ate i (FMF) Dü ünülen Olgularda MEFV Gen Mutasyonları. nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 12(4): 235-238, 2005.

### B. Uluslararası Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1.Yesilada E, Taskapan H, Gülbay G. Prevalence of known mutations and a novel missense mutation (M694K) in the MEFV gene in a population from the Eastern Anatolia Region of Turkey. Gene. 2012 Dec 15;511(2):371-4. doi: 10.1016/j.gene.2012.09.073. Epub 2012 Sep29.

2.Yilmaz E, Celik O, Celik E, Turkcuoglu I, imsek Y, Karaer A, Otlu B, Gülbay G, yesilada E. XPD and XRCC1 gene polymorphism in patients with normal and

abnormalcervical cytology by pap smear. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2012 Nov;16(12):1713-8.

3.Yuksel ,Yesilada E, Gülbay G, Kurtoglu E, Savacı S.S. Protective Effect of Myricetin Against E2-Induced Genotoxic Damage in Human Lymphocytes by PSP Volume 21 – No 4a. 2012 Fresenius Environmental Bulletin

### **C. Bilimsel Toplantılarda Sunulan Uluslararası Bildiriler**

1. Savacı S., Yuksel S., Yesilada E., Yakinci C., Kaygusuzoglu E, Gülbay G., Otlu G., One Case of Mosaic Trisomy 8. 6th European Cytogenetics Conferanse. 7-10 July, 2007, stanbul, Turkey

### **D. Ulusal Bildiriler**

1. Gülbay G, Ye ilada E, Çelik Ö, Yolo lu S. Polikistik Over Sendromlu Olgularda XRCC1 (Arg194Trp, Arg399Gln), APE (Asp148Glu) ve ERCC2 (Lys751Gln) Polimorfizmlerinin Ara tırılması. 10. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, BURSA, 2012

2. Savacı S, Gülbay G., Yesilada E, Yüksel S., Güne A., Kafkaslı A. Azospermik bireylerde infertilitenin sitogenetik ve moleküler genetik yöntem ile ara tırılması. 10. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, BURSA, 2012

3. Ye ilada E., Gülbay G., Ta kapan H. MEFV Geninde Yeni Bir Missense Mutasyon. XII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, ANTALYA, 2011

4. Yüksel , Ye ilada E, Gülbay G, Kurto lu E, Üren N, Savacı S. Estradiol-17 ile ndüklenmi Genotoksiteye Kar ı Myrisetin Koruyucu Etkilerinin Ara tırılması, XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Bodrum-MU LA, 2009.

5. Savacı S, Yüksel S, Ye ilada E, Gülbay G, Kaygusuzo lu E., nönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı Do um Öncesi Tanı Ünitesinde ki Yılın Sitognetik De erlendimesi. X. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 6-9 Eylül 2007, Belek, ANTALYA.

6. Savacı S, Yüksel S, Yesilada E, , Gülbay G, Kaygusuzoglu E., nfertilite Nedeni Ara tırılan Erkek Olgularda Klinefelter Sendromu. X. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 6-9 Eylül 2007, Belek, ANTALYA.

7. Yuksel S, Savacı S, Ye ilada E., Gülbay G., Kaygusuzo lu E., Tekrarlayan Gebelik Kayıpları olan çiftlerde Sitogenetik Sonuçlar. X. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 6-9 Eylül 2007, Belek, ANTALYA.

8. Gülbay G., Ye ilada E., Aydo du ., Otlu G., Yüksel S., Savacı S., Malatya Yöresinde -Globin Geni Mutasyonlarının Moleküler Analizi, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi 17-20 Mayıs 2006, KAYSER .
9. Yüksel ., Savacı S., Ye ilada E., Gülbay G., Otlu G., Kaygusuzo lu E., 2004-2006 Dönemi nönü üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Pediatrik Hastalarının Periferik Kan Sitogenetik Sonuçlarının De erlendirilmesi, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi 17-20 Mayıs 2006, KAYSER
10. Savacı S., Yüksel ., Ye ilada E., Yakıncı C., Karaka M., Gülbay G., Otlu G., Kaygusuzo lu E., Trizomi 8 Mozaikli i Olan Bir olgu, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi 17-20 Mayıs 2006, KAYSER .