

T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MULTİDİSİPLİNER MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

**CYP24A1 GEN POLİMORFİZMİNİN PRİMER
İNFERTİL HASTALAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MELİS DOĞANTAN, Genetik ve Biomühendis

İstanbul-2015

T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MULTİDİSİPLİNER MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

CYP24A1 GEN POLİMORFİZMİNİN PRİMER İNFERTİL HASTALAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MELİS DOĞANTAN, Genetik ve Biomühendis

DANIŞMAN
Doç. Dr. RUKSET ATTAR

İstanbul-2015

TEZ ONAYI FORMU

Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program : Moleküler Tıp Yüksek Lisans Programı
Tez Başlığı : Cyp24a1 Gen Polimorfizminin Primer İnfertil Hastalar Üzerindeki Etkisi
Tez Sahibi : Melis DOĞANTAN
Sınav Tarihi : 16.12.2015

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Turgay İSBİR

Yeditepe Üniversitesi
Tıbbi Biyoloji ve Moleküler Tıp
Anabilim Dalı Başkanı
Doç Dr Rukset ATTAR

Tez danışmanı:

Yeditepe Üniversitesi Hastanesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD
Prof. Dr. Arzu ERGEN

Üye:

İstanbul Üniversitesi DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 16.../12../2015. tarih ve .31.-1.sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bayram YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

MELİS DOĞANTAN

İTHAF

Hayattaki en değerli varlıklarım canım annem Esen Doğantan ve canım babam Prof.Dr Zafer Savaş Doğantan'a , sevgili nenem Sabahat Doğantan'a ,çok kıymetli Hocam Prof. Dr. Turgay İsbir'e ve tez danışmanım Doç.Dr Rukset Attar Hocam'a İthaf Ediyorum.



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen ve bana her konuda destek olan, İstanbul Üniversitesi ve Yeditepe Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilim Dalı Kurucusu Kıymetli Hocam Prof. Dr. Turgay İSBİR'e

Tez çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli hasta ve kontrol gruplarının sağlanmasında büyük yardımları dokunan tez danışmanım Yeditepe Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Rukset ATTAR'a

Çalışmama katılmayı kabul eden tüm gönüllü primer infertil kadınlara,

Tez çalışmalarımındaki yardımlarından dolayı Seda Güleç Yılmaz'a ,

Tez çalışmam boyunca yanımda olan değerli yol arkadaşım Esra Hallak'a,

Son olarak da yaşamım boyunca beni hep destekleyen,her zaman iyiki kızınız olarak dünyaya gelmişim dedirten en mükemmel anne Esen Doğantan'a ve en mükemmel baba Prof.Dr Zafer Savaş Doğantan'a ve beni hep motive eden ,her daim destekçim, ,abim Kemal Doğantan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 İnfertilite Tanımı	3
2.2 İnfertilite Çeşitleri	4
2.3 Genetik Açından İnfertilite	4
2.4 Kromozomal Hastalıklar	4
2.4.1 Translokasyonlar ve İnversiyonlar	4
2.4.2 Kromozom Sayısında Anormallik	4
2.5 İnfertilite İle İlgili Genler	5
2.6 D Vitamini	7
2.6.1 Vitamin D Mekanizması	8
2.7 Sitokrom (Cyp) P450 Enzimleri	9
2.7.1 CYP24A1	10
2.8 İnfertiliteye Neden Olan Risk Faktörleri	11
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	20
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı	20
3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler	20
3.3. Kullanılan Cihazlar	20
3.4. Yöntemler	20
3.4.1. Kandan Genomik DNA Elde Edilme Protokolü	20
3.4.2. DNA Düzeylerinin Belirlenmesi	21
3.4.3. Gerçek Zamanlı PZR Yöntemi ile Genotipleme	21
3.5. İstatistiksel Analiz	22
4. BULGULAR	23
4.1 Çalışma Gruplarına Ait Demografik Veriler	23
4.2 Gerçek Zamanlı PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi	23
4.3 Gerçek Zamanlı PZR Verilerinin İstatistiksel Açından Değerlendirilmesi	26
4.4 Hasta Klinik Verilerinin Allel Frekanslarıyla Değerlendirilmesi	28
4.4.1 Doğal Tip Allelin Klinik Verilerle Karşılaştırılması	28
4.4.2 Mutant Allelin Klinik Verilerle Karşılaştırılması	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	33
6. KAYNAKLAR	38
7. EKLER	47
7.1. Ham Veriler	47
7.2. Formlar	51
7.2.1. Biyolojik Materyal Transfer Formu	51
7.2.2. Gönüllü Olur Form	54
7.3. Etik Kurul Karar Formu	58
8. ÖZGEÇMİŞ	59

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Eş Zamanlı PZR ait içerik.....	22
Tablo 3-2: Eş Zamanlı PZR koşulları.....	23
Tablo 4-1: Hasta ve Kontrol Grubuna ait Demografik Bilgiler.....	24
Tablo 4-2: Çalışma gruplarında CYP24A1 Geni İçin Genotip ve Allel Dağılımları.....	29
Tablo 4-3: Çalışma grupları arasında CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137)polimorfizmine ait G alleldeki FSH değerleri	30
Tablo 4-4: Çalışma grupları arasında CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137)polimorfizmine ait G alleldeki Oosit değerleri.....	30
Tablo 4-5: Çalışma grupları arasında CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137)polimorfizmine ait G alleldeki M_Oosit değerleri	31
Tablo 4-6: CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre FSH değerleri	32
Tablo 4-7: CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre Oosit değerleri.....	32
Tablo 4-8: CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre M_Oosit değerleri.....	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Kolekalsiferol (vitamin D3) ve Ergokalsiferol (vitamin D2)Yapısı.....	7
Şekil 2-2: CYP24A1 Gen Bölgesi.....	11
Şekil 4-1: Primer infertil kadın hasta grubu ve kontrol grubunda Gerçek Zamanlı PZR ile yapılan CYP24A1 Geni Diskriminasyon Grafiği.....	25
Şekil 4-2: Genotip Işıma Grafiği.....	26
Şekil 4-3: Ham Veri Grafiği	27
Şekil 4-4: Hasta ve Kontrol Grubundaki Genotip sayılarının karşılaştırılması	27
Şekil 4-5: Grupların kendi içerisinde Genotip sayılarının karşılaştırılması	28
Şekil 4-6: G Allelin gruplar arasında karşılaştırılması	29
Şekil 4-7: C Allelin Gruplar Arasında Karşılaştırılması	31

SEMBOLLER/ KISALTMALAR LİSTESİ

CYP24A1: Sitokrom P450 2A1

IVF:In Vitro Fertilizasyon

DNA:Deoksiribo nükleik asit

VDR:Vitamin D reseptörü

VDBP:Vitamin-D bağlayıcı protein

POI:Primer Over Yetmezliği

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik asit

AMH:Anti-Müllerian Hormon

GnRH:Gonadotropin salgılatıcı hormon

CYP27B1:Sitokrom P450 2B1

PTH:Parathormon

CF.Kistik Fibrozis

FGF23:Fibroblast Büyüme Faktörü

1,25(OH)₂ D₃:Kalsitriol

CYP:Sitokrom

FSH:Folikül Stimule Edici Hormon

HcG:İnsan Koryonik Gonadotropini

DDT:Diklordifenoltrikloroethan

DES:Dietilstilbestirol

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ÖZET

Doğantan M.Sitokrom P450 enzim ailesine ait CYP24A1 gen polimorfizmi ve primer infertil hastalarda olan ilişkisinin araştırılması.Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı. İstanbul, 2015

İnfertilite, American Society for Reproductive Medicine Practice Committee tarafından yapılan tanıma göre, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen en az bir yıl içerisinde gebelik elde edilememesi durumudur.Dünya Sağlık Örgütü'nün tahminlerine göre infertilite, tüm dünyada 50-80 milyon kadını etkilemektedir.Bu nedenle üremeye yardımcı tedavi yöntemleri arasında önemli bir yer edinen tüp bebek yöntemi,gebe kalmaya önemli bir alternatif oluşturmaktadır.

İnfertilite yani kısırılık her iki cinstende kaynaklanacağı gibi, primer ve sekonder olmak üzere iki şekli vardır. Primer infertil yani birincil kısırılık en az 1 yıl doğum kontrol yöntemleri kullanmadan yeterli sıklıkta cinsel ilişkiye girmesine rağmen gebe kalamaması durumudur.Vitamin D'nin doğurganlıkla ilgisi olduğu, eksikliğinin de gebelikte bazı problemlere yol açtığını gösteren çalışmalar vardır .Vitamin D'nin mekanizmasında rol olan genlerden biri mitokondrial sitokrom P450 familyasından Cyp24A1 dir.Cyp24A1 vitamin D yi parçalar bu nedenle vitamin D eksikliğine bağlı hastalıkları tedavi etme sürecinde inhibitör olarak kullanmayı hedefleyen çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan bir çalışmada; Vitamin D yi aktive eden cyp27B1 enzimiyle VDR (vitamin D reseptörü) çıkarılmış ve bunun sonucunda ovaryen büyüklüğünün azaldığı ,folikül oluşumunu etkilediği, dolayısıyla kadınlarda fertilitiyi etkilediği gösterilmiştir.Bir başka çalışmadada; farklı miktarlarda 25(OH)D seviyelerine sahip tüp bebek tedavisi gören hastalarda vitamin D ile ilgisinin olduğu düşünülerek çalışmalar yapılmış ,vitamin D seviyesinin klinik olarak gebe kalma ihtimalini, implantasyonu zorlaştırdığı bulunmuştur.Bu nedenle vitamin D mekanizmasını doğrudan etkileyen CYP24A1 geninin kısırılık üzerinde etkisi olabileceği düşünülerek ,primer infertil hastalar üzerinde ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda tüp bebek tedavisine başvurmuş 40 primer infertil kadından alınmış örneklerin DNA'larında Hakiki zamanlı PZR yöntemi ile CYP24A1 (rs2248137) geninde polimorfizme bakılmıştır.

ABSTRACT

Doğantan M. Investigation of relationship between Primer Infertile patients and CYP24A1 gene which belongs cytochrome P450 enzyme family. Yeditepe University Institute of Health Science, Molecular Medicine Department. Istanbul, 2015

According to American Society for Reproductive Medicine Practice Committee, infertility is defined as the inability to conceive after one year of regular unprotected intercourse; approximately one in six couples wishing to start a family fall into this category.

Cytochrome P450 (CYP) 24A1 catalyzes the side-chain oxidation of the hormonal form of vitamin D. CYP24A1 degrades vitamin D, it is a target for inhibitor development for treatment of diseases linked to vitamin D insufficiency, such as bone disorders, kidney disease, cancer and reproduction. Vitamin D is also an emerging factor influencing female fertility and IVF outcome.

The aim of this study was to investigate to relationship between primer infertile patients and polymorphisms of CYP24A1 gene which encodes to enzyme that has role in activation in vitamin D process. At this study, DNAs, isolated from 40 primer infertile patients were investigated in CYP24A1 (rs2248137) genes polymorphism through the real-time PCR based method.

Vitamin D deficiency has been proven to affect fertility in mammals, but data in human is less convincing. Many researches on in vitro fertilization (IVF) is becoming an attractive model to draw information on this topic, are sparse and conflicting.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite , hem kültürel hemde biyolojik kaynaklı olduğu düşünölen tıbbı açıdanda kabul edilmiş bir çeşit hastalıktır.Dünya Sağlık Örgütü'nün tahminlerine göre infertilite,tüm dünyada %8-12 arasında,Türkiye'deise evli çiftlerin %10-20'si arasındadır. Bu oran oldukça yüksek olduğundan, özellikle son elli yıllık süre içerisinde infertilite ilgili önemli adımlar atılmıştır.Günümüzde üremeye yardımcı tedavi yöntemleri arasında önemli bir yer edinen tüp bebek yöntemi (erkek hastadan alınan tek sperm ile kadın hastadan elde edilen tek yumurtanın laboratuvar ortamında döllenerek kadın hastaya enjekte edilmesi), üreme sorunu yaşayan birçok kadın için cinsel yolla birleşerek gebe kalmaya önemli bir alternatif oluşturmaktadır. İnfertilite yani kısırılık her iki cinstende kaynaklanacağı gibi, primer ve sekonder olmak üzere iki şekli vardır. Primer infertil yani birincil kısırılık en az 1 yıl doğum kontrol yöntemleri kullanmadan yeterli sıklıkta cinsel ilişkiye girmesine rağmen gebe kalması durumudur [1].

Vitamin D'nin insan vücudunda kemik gelişimi kalsiyum metabolizması gibi birçok önemli rolü vardır.Bu nedenle vücuttaki vitamin D konsantrasyonuda çok önemlidir.Memelilerde ,Vitamin D konsantrasyonu az olduğunda doğurğanlığı etkilediği,gebelikte de bazı problemlere yol açtığını gösteren çalışmalar vardır. Bu nedenle ,vitamin D'nin insanlardaki infertiliteyi etkilemesi ihtimali tüp bebek tedavisini geliştirmek açısından önemli bir yere sahiptir.

Vitamin D'nin mekanizmasında rol olan genlerden biri mitokondrial sitokrom P450 familyasından Cyp24A1'dir.CYP450 aktivitesinde varyasyona yol açan bir çok etken bulunmaktadır; bunlar genetik polimorfizmler, çevresel faktörler, hastalık durumu veya fizyolojik durumdur.

P50 familyasından olanCYP24A1, 1,25-dihidroksivitamin D3'ün, yan zincirlerini hidroksilasyona uğratması sonucu ,degradasyonunun başlamasını katalizler.Yani Cyp24A1 vitamin D'yi parçalar bu nedenle vitamin D eksikliğine bağlı hastalıkları tedavi etme sürecinde inhibitör olarak kullanmayı hedefleyen çalışmalar yapılmaktadır.

Yapılan bir çalışmada; Vitamin D yi aktive eden cyp27B1 enzimiyle VDR (vitamin D reseptörü) çıkarılmış ve bunun sonucunda ovaryen büyüklüğünün azaldığı ,folikül oluşumunu etkilediği, dolayısıyla kadınlarda fertilitayı etkilediği gösterilmiştir [3]. Bir başka çalışmada; farklı miktarlarda 25(OH)D seviyelerine sahip tüp bebek tedavisi gören hastalarda vitamin D ile ilgisinin olduğu düşünülerek çalışmalar yapılmış ,vitamin D seviyesinin klinik olarak gebe kalma ihtimalini, implantasyonu zorlaştırdığı bulunmuştur [4].

Yapılan bir başka çalışmada ; vitamin D mekanizmasında önemli rol oynayan Cyp24A1 geninin mutasyonunun böbrek hastaları üzerindeki etkisi araştırmak istemişlerdir.Cyp24A1 geninin mutasyonu Vitamin D'nin parçalanmasını engellemesi ,vitamin D miktarının artması fazla kalsiyumun yani hiperkalsemi üzerinde etkisi olacağı düşünülmüştür. Cyp24A1 geninin mutasyonunun , buna bağlı olarak gerçekleşen inaktivasyonun kalsiyum dengesinde önemli bir rol oynayacağı sonucuna varılmıştır.[91]

Bu projenin amacı; vitamin D mekanizmasını doğrudan etkileyen cyp24A1 geninin primer infertil hastalardaki ilişkisinin araştırılmasıdır.Bu çalışma Türk populasyonunda primer infertil kadın hastalarda CYP24A1 gen polimorfizmlerinin araştırıldığı ilk çalışma niteliğindedir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 İNFERTİLİTE TANIMI

İnfertilite, American Society for Reproductive Medicine Practice Committee tarafından yapılan tanıma göre, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen en az bir yıl içerisinde gebelik elde edilememesi durumudur.Dünya Sağlık Örgütü'nün tahminlerine göre infertilite, tüm dünyada 50-80 milyon kadını etkilemektedir. Buna göre dünyada infertilite oranının %8-12 arasında olduğu söylenebilir. Türkiye'de ise bu oran evli çiftlerin %10-20'si arasındadır [1].

Kültürel ve kültürlerarası yapılan araştırmalar ,hastalıkların oluşmasındaki biyolojik nedenlerinin yanı sıra kültürel nedenlerinde olduğunu göstermektedir [2].

İnfertilite de, hem kültürel hemde biyolojik kaynaklı olduğu düşünülen tıbbi açıdanda kabul edilmiş bir çeşit hastalıktır. Son elli yıllık süre içerisinde infertilite ilgili önemli adımlar atılmıştır.Günümüzde üremeye yardımcı tedavi yöntemleri arasında önemli bir yer edinen tüp bebek yöntemi (erkek hastadan alınan tek sperm ile kadın hastadan elde edilen tek yumurtanın laboratuvar ortamında döllenerek kadın hastaya enjekte edilmesi), üreme sorunu yaşayan birçok kadın için cinsel yolla birleşerek gebe kalmaya önemli bir alternatif oluşturmaktadır. Ancak bu yöntem, sınırlı sayıda infertil çiftin çocuk sahibi olabilmesine olanak sağlamıştır.Tıbbi veriler, infertilitenin kaynağı açısından yüzde 30 erkek, yüzde 20 ovulatuvar, yüzde 20 tübal/peritoneal, yüzde 5 uterin/servical ve yüzde 25 oranında açıklanamayan faktörün etkili olduğunu göstermektedir [3].

Açıklanamayan infertilite nedenin kültürel nedenler olabildiği düşünülmektedir.Yapılan bir araştırma sonucuna göre ;kadınların yarısından fazlasının (%55) gördüğü infertilite tedavisinin nedeni, açıklanamayan infertilitedir. Bunu, erkek faktör (36,7) kaynaklı infertilite izlemektedir. Erkek kaynaklı infertilitede özellikle sperm sayısının azlığı ve sperm kalitesinin düşüklüğü en önemli etkidir. Çocuk sahibi olamama nedeninin doğrudan kadınla ilişkilendirilmesi, doğurmanın, kadın olmasıyla paraleldir. Dolayısıyla kadın, erkekten daha yoğun baskıyla karşı karşıya gelmektedir.Sosyal baskıyı yoğun hisseden kadınları, tedaviden sonra gebe kalmaları durumunda sağlıklı gebelik ve annelik süreci beklemektedir [4].

2.2 İNFERTİLİTE ÇEŞİTLERİ

İnfertilitenin primer ve sekonder olmak üzere iki şekli vardır. Bunlardan biri hiç gebelik oluşmaması durumu olan primer infertilitedir. Sekonder infertilite ise, gebe kalmanın gerçekleşmesi ancak gebeliğin doğumdan önce sonlanmasıdır [3].

2.3 GENETİK AÇIDAN İNFERTİLİTE

POI(Primer Ovaryen Yetmezliği) kadınlardaki infertilitenin başlıca sebeplerinden biridir.POI yumurtalık rezervinin olması gereken değerden daha az ,yetersiz olma durumudur.Bu durumun dış kaynaklara bağlı sebepleri olabilir bunlar viral enfeksiyonlar ,bağışıklık sisteminin yetersizliği,metabolik disfonksiyon,çevresel yada bir hastalıkla gelişen ikincil rahatsızlık gibi durumlardır.Bu dış kaynakların yanı sıra genetik sebepleri de olabilir.Translokasyonlar ,inversiyonlar ,cinsiyet kromozomlarındaki anormallik (Turner sendromu ,X kromozomun oluşan yapısal bozukluklar vb),otozomal ve X kromozondaki mutasyon gibi durumlar ise genetik sebeplerdir [5].

2.4 KROMOZAL HASTALIKLAR

2.4.1 TRANSLOKASYONLAR VE İNVERSİYONLAR

Kromozomlardaki bazı kısımların karşılıklı olarak yer değiştirmesi fertilitiyi azaltarak ,düşük ,ölü doğum gibi durumlara sebep olmaktadır.Otozomal kromozomlar arasındaki translokasyonlar ,mayoz bölünmesini etkileyerek ,genetik olarak homolog olmayan gametlerin oluşmasına sebep olmaktadır.Buda X kromozomunun inaktif olmasına neden olarak,ölümle sonuçlanabilir.Erkeklerde X kromozomunda oluşan translokasyon spermatozomların oluşumuna müdahale ederek azospermiye sebep olabilir. Y kromozomunda oluşan translokasyon spermatogenezde buda kısırlığa neden olabilir.[6]

2.4.2 KROMOZOM SAYISINDA ANORMALLİK

Klinefelter sendromu 1/1000 oranında görülen ,mayoz 1 sırasında ayrılama sonucunda (47,XXY) oluşan bir durumdur.Ekstra gelen X kromozomu %50 ihtimalle mayoz 1 de XY kromozomunun ayrılamaması ,%40 ihtimalle anneden mayoz 1 ve 2 de gelen XX

de oluşan bir durumdan kaynaklı olabilir.Bu durumun anne yada babanın yaşının büyük olmasının nedenlerden biri olduğu düşünülmektedir.[7]

47,XYY , 1/1000 oranında erkeklerde görülen ,mayoz 2 sırasında Y kromozomunun ayrılabilmesiyle oluşan XYY durumudur.Bu durum, gonadlardaki hormonal dengenin olumsuz yönde değişmesine neden olur.[8]

Turner Sendromu ise, karyotipleme sonucunda 1 X kromozomu eksik olup kromozom sayısı 46 değil (45,X) oluşması durumudur.Bir X kromozomunun eksik olmasının kaynağı %75 annedir.Bu durum gonadların gelişimini olumsuz etkilediğinden hipoplazi oluşur.

47,XXX ,1/1000 oranında kadınlarda görülen, ekstra gelen X kromozom sonucunda kromozom sayısının 47 olması durumudur.Bu durumdaki kişiler normal kilo ,normal uzunlukta normal zekada kişilerdir ve doğurabilme yetileri vardır.Fakat bu kişiler erken kabul edilen otuzlu yaşlarda menapoza girmektedirler.[9]

Down Sendromu diğer adıyla trisomi 21,karyotiplemede 21.kromozomun üçlü görünmesi durumu olup,görülme sıklığı 1/700dür.Down sendromu erkeklerin tümü spermatozomların oluşumu olumsuz etkilendiğinden kısırdırlar.Fakat kadınlarda nadirende olsa kısır olmayabilirler.[10]

2.5 İNFERTİLİTE İLE İLGİLİ GENLER

CFTR gen bozukluğundan kaynaklanan Kistik fibrozis (CF) ,beyaz ırklarda 1/25 oranında görülen,1/2400 oranında taşıyıcısı olan çekinik otozomal bir hastalıktır.Kistik fibrozis transmembran regülör geni (CFTR) in mutasyona uğramasıyla oluşur. [11]

CFTR geni mutasyona uğramış kısır erkeklerde azospermia görülmektedir.[12]

Bu gen, uretranın prostat bölümüne açılan iyon kanallarını tetiklemektedir.CFTR proteini ,spermilerin olgunlaşması ve taşınmasını için gerekli olan optimum çevreyi sağlamada önemli bir rol oynamaktadır. [13]

Bu genin spermlemlerle olan ilgisi erkeklerde üremeye ilişkili olduğunun göstergesidir.

Kallman sendromu ,nadir görülen ,X kromozomuna bağlı otozomal dominant genetik bir rahatsızlık olup ,KALIG-1 geninin mutasyona uğraması sonucu oluşur.Bu mutasyon,

,gonadotropini serbest bırakan hormonun salgılanmasına, hipotalamusa ulaşmasına engel olmaktadır.[14]

Noonan sendromu ise,Turner sendromu gibi otozomal dominant bir rahatsızlık olup ,1/2500 dur.PTPN11 (Protein tirozin fosfataz reseptör olmayan tip 11) in mutasyona uğraması sonucu testislerin fonksiyon kaybına sebep olduğu düşünülmektedir.[15]

DDS(Denys–Drash sendromu) ,ürogenital bozukluk problemi olup ,erkeklerde görülme sıklığı kadınlardan daha fazladır.WT1 transkripsiyon faktörü olarak çalışan bir zinc – finger proteinidir.Bu geninin mutasyonu sonucu, XY erkek gelişimi kadın gelişimine benzer.[16]

WTN4 geni sistein proteini yönünden zengin glikoproteinlerini kodlar ,transkripsiyonal aktivasyonunda görev alır.Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada ,dişi farelerde bu genin delesyonunun erkek karakteristik özellikleri göstermeye başlamıştır.Bu genin ekspresyonunun çok fazla gerçekleşmesi de cinsiyeti değiştireceği yönündedir.[17,18]

SOX9 geninin mutasyonu ,kromozomal olarak erkek fakat fenotip olarak kadın kişilerde görülür.Sry yarafından aktive edilen SOX9 geninin ekspresyonu Sertoli hücrelerinde gerçekleşir.Fareler üzerinde yapılan bir çalışmadan dişi farede sox9 geni dişiliğin azalması yönünde sonuçlanmıştır.[19]

Erkeklerle özgü olan DMRT1 geni ,mayoz ve mitoz döngüsünde yer alır.DMRT1 geninin ekspresyonu ise spermatogonyada gerçekleşir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada,bu genin DNA bağlanan domain bölgesindeki mutasyonu ,Sertoli hücrelerinin morfolojisinin değişmesine,kontROLSÜZ çoğalmasına bu nedenle testis gelişiminin tamamlanamamasına neden olduğu gözlemlenmiştir. [20,21]

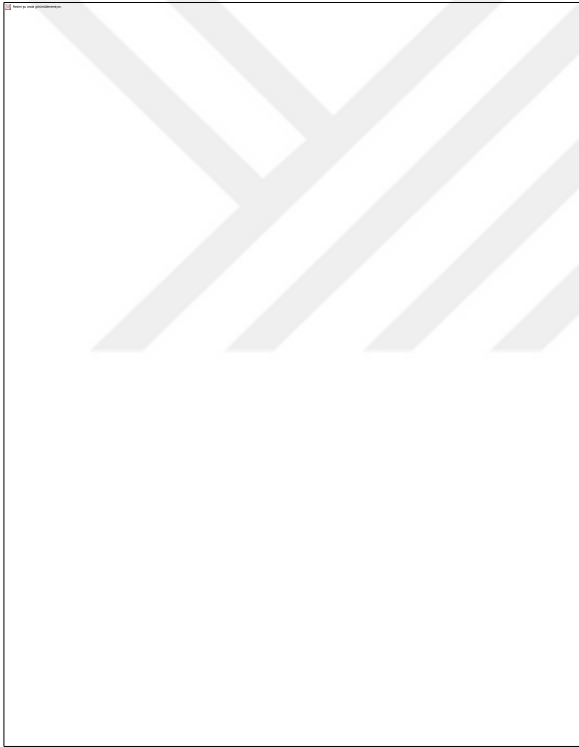
GATA4 ,zinc-finger proteini olup ,her iki cinsiyette gonadlarda ekspresyonu gerçekleşir.Bu gen , testislerin oluşum sürecinden sonra erkeklerdeki AMH (Anti-Müllerian Hormonu) düzenler.Erkeklerde yetişken olma sürecine kadar Sertoli ve Leydig hücrelerinde ekspresyonu devam eder.GATA4 gen ekspresyonu testesteron ve

FSH üretimine bağı olarak artar. Testislerin GnRH ile etkileşmesi sonucunda GATA4 ünde mRNA sentezi artmaktadır.[22]

2.6 D VİTAMİNİ

D vitamininin, hayvansal kaynaklı Kolekalsiferol (vitamin D3) ve bitkisel kaynaklı Ergokalsiferol (vitamin D2) olmak üzere iki kaynağı vardır [23]

D2 vitamini karbon 22 (C22) ile karbon 24 (C24) arasında çift bağı sahiptir ve karbon 24'te (C24) metil grubu içermektedir. Bu özellikleriyle D3 vitaminden ayrılmaktadır ve D2 vitamininin, D3 'e göre biyolojik etkinliği 3-10 kat daha azdır (Şekil 1) [24,25]



Şekil 2-1: Kolekalsiferol (vitamin D3) ve Ergokalsiferol (vitamin D2) Yapısı [26].

Ultraviyole (UV) ışını etkisiyle, bitkisel bir sterol olan ergosterol'den vitamin D2 (ergokalsiferol), 7- dehidrokolesterol (provitamin D3)'den ise vitamin D3 (kolekalsiferol) sentezlenmektedir [24]

İnsanlarda vitamin D sentezi çoğunlukla endojen kaynaklı olarak cilt yoluyla gerçekleşirken %20 oranında beslenme kaynaklı olarak alınabilmektedir.[25,26]

Endojen kaynaklı vitamin D (kolekalsiferol yada D3 sentezi) güneş ışınlarının ultraviolet B (dalga boyu 290nm ve 315nm) boyunda ciltte epidermal keratinosit ve dermal fibroblastlara ulaşarak 7-dehydrocholesterol un pre-vit D ye dönüşmesiyle elde edilir.[28]

Beslenme kaynaklı alınan vitamin D (cholecalciferol D3) ise ; yağlı deniz ürünlerinden (somon ,sardalya ,uskumru vb) ,yumurtadan ,ciğerden alınabilir.Ergocalciferol yada D2 maya ve mantarların hücre zarının ultraviolet ışınlarına maruz kalması sonucu üretilir.[24,29]

2.6.1 VİTAMİN D MEKANİZMASI

Vitamin D ,steroid hormon familyasından olup ,metabolitleri ve hücrel etkileri intranuclear vitamin D reseptörü (VDR) aracılığıyla sağlanır.[30]

VDR ,bağırsaklarda ,paratiroid hormonlarda ,bağışıklık sistemi hücrelerinde ve üreme sisteminde sentezlenir.VDR Vitamin D reseptörü , 1,25(OH)2D ye 0.1-1Nm affinite ile bağlanırken ,inaktif 25(OH)D ye 100mM lik affiniteyle bağlanır.[31]

Ultraviolet ışınlarının cilde ulaşması sonucu Vitamin D sentez mekanizması başlamaktadır.

İlk olarak,provitamin D3 , epidermiste 290-315 nm dalga boyundaki UV-B ışının etkisiyle previtamin D3 'e dönüşür. Previtamin D, daha sonra vitamin D'ye izomerize olarak hücre dışı boşluğa ve dermal kapiller damarlara geçerek dolaşımda vitamin-D bağlayıcı proteine (VDBP) bağlanır ve bu yolak sayesinde karaciğere taşınır.

Karaciğerde 25-alfa hidroksilaz, CYP27 enzimi aracılığıyla 25-hidroksilasyona uğrayarak, Kalsidiol (25-OH-D)'e dönüşür. 25-OH-D fizyolojik konsantrasyonlarda biyolojik aktiviteye sahip olmamasına rağmen vücuttaki D vitamini deposunu en iyi yansıtan parametredir. 25- OH-D, dolaşıma geçerek böbreğe taşınır ve burada 1- alfa hidroksilaz: CYP27B1 enzimi aracılığıyla 1- α hidroksilasyona uğrayarak aktif metabolit olan Kalsitriol (1,25(OH)2 D3)'e dönüşür [27]

Renal dokudaki 1-alfa hidroksilaz aktivitesi parathormon (PTH) tarafından kontrol edilmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda 1- alfa hidroksilaz enziminin böbrek dışında barsak, epidermis, makrofajlar, prostat, meme, pankreas ve paratiroid bezinde de bulunduğu; dolayısıyla böbrek dışı dokularda da 25-OH-D düzeylerinin yeterli düzeylerde olmasının aktif D vitamini üretimi için gerekli olduğu saptanmıştır.[24]

1,25(OH)₂ D₃ aktif metabolit olmasına rağmen yarı ömrü çok kısa olduğundan (4-6 saat) vücuttaki D vitamini miktarını saptamak için iyi bir parametre değildir. Serum ve dokularda kalsiyum ve fosfor seviyesinin artışı ve fibroblast growth factor 23 (FGF23) CYP27B1 ekspresyonunu baskılayarak 1-hidroksilaz aktivitesini inhibe ederken, paratiroid hormon ve düşük kalsiyum/fosfor düzeyleri ise 1-hidroksilaz aktivitesini artırarak 1,25(OH)₂ D₃ üretimini arttırmaktadır. [24,32]

Böbrekte 24-hidroksilaz: CYP24A1 aracılığıyla 24 hidroksilasyon ile 24,25 (OH)₂ D₃'e dönüşmesi ile 1,25(OH)₂ D₃'ün inaktivasyonu gerçekleşir. Böylece hiperkalsemi, hiperfosfatemi ve kalsitriol CYP24A1 ekspresyonunu artırırken, hipokalsemi ve PTH azaltmaktadır.[24]

2.7 SİTOKROM (CYP) P450 ENZİMLERİ

İlaçların ve diğer kimyasalların metabolizmasından sorumlu faz I enzimleri olan Sitokrom P450 (CYP)'ler "heme" içeren proteinlerdir ve birincil olarak karaciğerde bulunurlar. "450" rakamı "heme" içeren karaciğer pigmentlerinin, karbonmonoksit bağlandıktan sonra absorbe ettiği gruba ait dalga boyunun nanometre olarak en yüksek değerini ifade eder.[33]

İnsanlarda bilinen 57 adet aktif CYP geni ile 58 psödogen mevcuttur ve bu genlerin büyük çoğunluğu polimorfiktir. 434'den fazla bilinen CYP450 alleli mevcuttur.[34,35]

İlaçların ve ksenobiyotiklerin metabolizmasında, steroid hormonların biyosentezinde, doymamış yağ asitlerinin hücre içi habercilere oksidasyonunda ve yağda çözünen vitaminlerin metabolizmasında, bazı reaksiyonların katalizlenmesinde kritik rol oynamaktadırlar. [36]

P450 enzimleri oksijenaz enzim sınıfına aittirler ve bu sınıf dahilinde monooksijenaz aktivitesi göstermektedirler.[37]

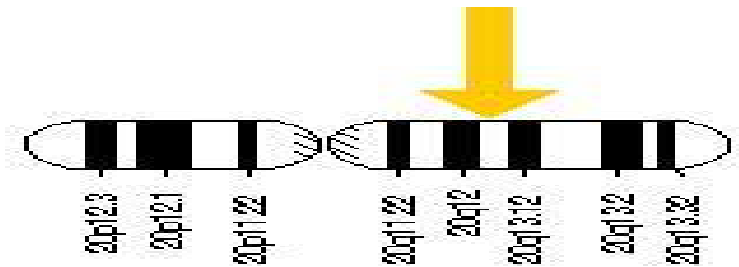
Her dokuda P450 enzimlerinin dağılımını ve gen ifadelerini oluşturan düzenekler kendilerine özgüdür ve genetik olarak belirlenirler. CYP gen ifadelerini, yağ asitleri ve steroidler gibi endojen maddelerin yanı sıra dışardan alınan maddeler de etkileyebilir. Açlık ve diyabet gibi patofizyolojik durumlar da yine gen ifadelerini değiştirebilirler. P450 enzimlerinin düzey ve aktivitesini ise; substratlar, mRNA düzeyi vb. gibi birçok etken belirlemektedir.[38]

CYP450 aktivitesinde varyasyona yol açan bir çok etken bulunmaktadır; bunlar genetik polimorfizmler, çevresel faktörler, hastalık durumu veya fizyolojik durumdur. Bu durum bireyler arasında ilaçların metabolize edilmeleri bakımından ciddi farklar yaratmaktadır.[39]

Günümüze kadar insanda saptanmış en az 12 tane P450 gen ailesi, 50 tane gen vardır. Bu genürünleri olan enzimler ise aminoasit sıralamasındaki benzerliklere göre sınıflandırılırlar. CYP2D örneğinde olduğu gibi alt gruplar büyük harflerle gösterilmektedir. Bu gruplarda her bir enzim ayrı sayılarla gösterilir. Bir enzim birden fazla ilacı metabolize edebilir veya bir ilaç birden fazla enzimle metabolize olabilmektedir.[40]

2.7.1 CYP24A1

CYP24A1 geni 20. kromozomun q13.2-q13.3 lokusunda yer almaktadır (Şekil 2). CYP24A1, 1,25-dihidroksivitamin D3'ün, yan zincirlerini hidroksilasyona uğratması sonucu ,degradasyonunun başlamasını katalizler.[41]



Şekil 2-2: CYP24A1 Gen Bölgesi [42]

2.8 İNFERTİLİTEYE NEDEN OLAN RİSK FAKTÖRLERİ

Yaşam tarzını oluşturan faktörlerin sağlıkla dolayısıyla üreme sistemiyle ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Özellikle endüstrisi gelişmiş batı toplumlarında bu faktörlerin artmasıyla toplumda kısırlık oranında artırmaktadır. Bunlar ,yaş ,kilo,diyet,egzersiz ,sigara ,kafein ve alkoldür.Bunun yanında kontrol edemediğimiz dış etkenler vardır.Bunlar ;endokrin sistemini etkileyen kimyasallar,ağır metaller ,organik çözücüler ,tarım ilaçlarıdır.

Yaşla ilgili olarak yapılan araştırmalara göre, kadınların doğurganlık için en verimli evresi 35 yaşına kadardır.35 yaşından sonra yumurtaların sayısı ve kalitesi azaldığından doğurganlık potansiyelide azalmaktadır.Bu yaş sınırlamaları kişiden kişiye değişiklik gösterebilir.Genetik anormallikler ,kürtaj gibi durumlarda başlıca sebeplerindendir.[43]

Obezite çağımızın popüler sağlık sorunlarından biri olup diyabet ,kanser ,kardiyovasküler gibi birçok hastalığa da neden olduğu düşünülmektedir.Obezite yada tersi olan düşük kilo problemi hormonların düzensiz çalışmasına dolayısıyla ovulasyonla ilgili problemlere yol açmaktadır.Vücut kütle indeksi BMI (kg/m²) >25 den büyük olduğunda obezite riski <20 den küçük olduğunda düşük kilo problemi riski olduğu düşünülebilir.Yüksek vücut kütle indeksine sahip infertil kişilerde yapılan IVF tedavisinde olumsuz etkilenmektedir.[44]

Sağlıklı beslenildiğinde ve bazal metabolizma hızımıza uygun miktarda kalori alımı gerçekleştirildiğinde optimum fizyolojik sağlık düzeyi sağlanmış olur.Sağlıklı beslenmeyle bağışıklık sistemi güçlenerek birçok hastalığa vücut direnç kazanmakta üreme için optimum düzey sağlanmaktadır.Kadının hamilelik öncesi beslenme tarzıyla hamilelik sırasındaki beslenme tarzı arasında ilişki de yapılan çalışmalar arasındadır.Sağlıklı beslenme yaşam tarzı haline geldiğinde vücut optimum seviyede fonksiyonlarını yerine getirebilecektir.Bilimadamları, hamilelik öncesi yapılan sağlıklı beslenme diyetinin anne karnındaki bebeğin gelişimini olumlu yönde etkileyeceği yönündedir.[45]

Düzenli egzersiz de sağlıklı beslenme gibi kişiyi diyabet ,kanser ,yüksek tansiyon ,osteoporoz gibi birçok hastalıktan korur.Atletlerle ortalama düzeyde fitness yapan kadınların üremesiyle ilgili çalışma yapılmış ,egzersizin ovular infertilite riskini azalttığı bulunmuştur.

Hafta boyunca yapılan her bir saatlik egzersiz infertilite riskini %5 azalttığı ve bu oranın vücut kütle indeksinden bağımsız olduğu düşünülmektedir.[46]

Bir başka obeziteyle ilgili yapılan araştırmada ; 6 ay boyunca haftada 2 düzenli egzersiz yapan kısır kadınlar üzerinde gözlemlenmiş, kilo vermeye başlayan kısır kadınların fizyolojik olarak değişimleri ovulasyonu olumlu etkileyerek hamile kalma oranını artırmıştır.

Egzersizler insülin direncini azaltır buda ovarin fonksiyonuna katkı sağlayarak hamile kalınmasına yardımcı olur.[47]

Kafein ; kahve ,çay ve bazı içeceklerden aldığımız bir uyarıcı madde olup,bağımlılık yapmaktadır.Tam olarak kanıtlanmış bir bilgi olmasada ,kafeinin ovulasyonu ve korpus luteal umun fonksiyonunu etkileyerek kadınlarda üremeye ilişkisi olduğu düşünülmektedir.[48]

Kafein aynı zamanda erken folikül oluşumunu sağlayan E2 seviyesinin artışına neden olmaktadır.[49]

Alkol ,bir çeşit bilinen fetal büyümeyi bozan ,malformasyonlara yol açan bir teratojendir.Alkol tüketiminin ne kadar olması gerektiği ile ilgili net bir veri elde edilemesede ,çok fazla miktarda tüketiminin anne karnındaki bebek için yeterince tehlikeli olduğu ,infertiliteye yol açtığı düşünülmektedir.Fakat az tüketildiğindeki etkisi ise henüz bilinmemektedir.Alkol, estrogen hormonunun salgılanmasını artırır ,FSH hormonunun salgılanmasını azaltarak folikülogenezin yani folikül oluşumunu engellemektedir.Bu durum yumurtanın olgunlaşması ,blastosistin gelişimi ,ovülasyonun gerçekleşmesi gibi bütün bu durumlar üzerinde direk etkilidir.[50]

Orta seviye olarak kabul edilen haftada 7-8 kadeh alkol tüketimi ,dogurğanlığı azalttığı ,düşük yapma riskini artırmaktadır.[51]

Kimyasal maddelere maruz kalınması üreme düzeyinin kalitesini olumsuz etkileyerek ,kısırlık ,doğurganlık kapasitesinin azalması ,düşük yapma,anne karnında bebeğin ölümü ,yeni doğan bebek ölümü gibi durumlara neden olmaktadır.

Yapılan araştırmalarda tahmini verilere göre optimum üreme yaşlarındaki kişilerin %75 i ,hamilelik sırasında çalışan kadınların %63 ü,çalışan kadınların %17 si çalıştıkları yerde bilinen teratojenlere maruz kalmaktadır.Bu teratojenler ,çevremizde olan 51 sentetik kimyasal maddenin olduğu düşünülmektedir.[52]

Kimyasal maddenin cinsi,yoğunluğu ve maruz kalma süresi ve bunun yanısıra kişinin bağışıklık sistemi üreme organının ne kadar zarar göreceğini belirler.Bu kimyasal maddelerden endokrin sistemi üzerinde etkili olanlar,reseptörlerin bağlanma noktalarına tutunarak endokrin bezinin (tiroid ,adrenalin ,ovar vb)aktivitesini minimum düzeye indirmeye yada bloklamaya çalışırlar.Bu bezlerin aktivitesi değiştiğinde anne karnındaki bebeğin nerolojik gelişimi eksik olacaktır.Endokrin sistemi üzerinde etkili olan kimyasalların yanısıra bağışıklık sistemi üzerindedeki etkili olan kimyasallar vardır.Bu tür kimyasallar da makrofajlar aracılığıyla sitokin salgılanmasını ve T hücrelerinin aktifleşmesini engellerler.Bağışıklık sistemi harap eden bu kimyasallar, sitokinler aracılığıyla haberleşen bağışıklık sistemi hücrelerinin iletişimine engel olurlar.Endokrin ve bağışıklık sistemi hücrelerinin harap olması üreme potansiyeli doğrusunu azaltacaktır.Kimyasala maruz kalmış anne sütünden beslenen bebeklerde lenfoid bezlerinde körelme ,buda zeka geriliğine neden olmaktadır.Kimyasala maruz kalan hamile kadınlardada düşük yapma oranı fazladır.[53]

Kimyasal maddeler, kadınlardaki üremeyi doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki şekilde etkiler.Doğrudan etki hormon fonksiyonlarının bozulmasıyla, dolaylı etkide bağışıklık sistemini yada endokrin sistemini etkileyen kimyasalların etkisiyle gerçekleşir.Doğrudan etki, kimyasal maddenin molekül yapısı üreme organıyla etkileşime uygun bir yapıda iken gerçekleşebilir.Kimyasallar ,normal hücre döngüsü (farklılaşma ,mitoz,mayoz ,programlı hücre ölümü ,hücre göçü ,hücre içi iletişim ,DNA tamir mekanizması) olaylarını değiştirirler. Bu olaylardaki değişiklikler, organların fonksiyon kaybına ,anormal büyümesi gibi durumlara neden olur.[54]

Hücrenin bölünüp ,çoğalabilmesi için gerekli olan enerjiyi sağlayan mitokondri de, kimyasala maruz kaldığında işlevini yerine tam olarak getirememekte,buda hücrenin

ölümüne neden olmaktadır. Yine benzer şekilde kimyasallar DNA tamir mekanizmasını etkileyerek, hücrelerin anormal büyümesine, tümör oluşumuna neden olmaktadır.

Dolaylı etki ise, kimyasalın metabolik dönüşümüyle toksik etki göstermesiyle olur. Örneğin, bazı fitoöstrojenler etki gösterdiği bölgeye (karaciğer, ince bağırsak vb) ulaşınca kadar toksik olarak düşünülmez.[55]

Dolaylı etki, kimyasalın endojen hormonla etkileşimiyle de gerçekleşir. Hormonlar, gelişim, davranış, yumurta oluşumu, cinsiyet özellikleri, gametogenesis gibi durumlarda önemli rol oynarlar. Bu yüzden bazı kimyasallar, hormonun etkisini bloke edebildiğinden üreme fonksiyonundaki bozukluklar için neden olarak gösterilebilmektedir.[56]

Bazı kimyasallar, steroid hormonlar gibi yağda çözünerek, hücre zarından rahatlıkla geçebilirler. Sonrasında steroid reseptörleriyle etkileşerek çekirdeğe ulaşır, gen aktivasyonu indükleyebilir yada baskılayabilirler. Örneğin DDT (diklordifenoltrikloroethan) ve DES (diethylstilbestrol) gibi kimyasallar östrojen reseptörüne yapısal olarak benzemesede kolaylıkla bağlanıp, biyolojik olayları indükleyebilirler.

Yapılan laboratuvar çalışmalarında da, kimyasalın konsantrasyonunun 100000 katı kadar olduğunda östrojen hormonunun etkisini gösterebildiği bulunmuştur. Yüzyıllardır, besin zincirinden aldığımız doğal östrojenlerin (meyve, sebze, fındık vb) biyolojik akümülyasyonu sonucu kimyasallara karşı kolaylıkla direnç gösterilebilmektedir. Çevreden gelen dolaylı toksik durumlarda ise, serum bağlanma proteini, hormon sentezi ve hormon metabolizması aracılığıyla inaktif hale getirilir [57].

Bazı kimyasallar endokrin sistemini etkilerler ve bunlar egzogen özelliktedir. , hormonlara benzerler. Bu kimyasalların yapı olarak hormonlara benzediğinden hormonların aktivitesini kolaylıkla bloke edebilir yada hormonların yetersiz çalışmasına neden olabilirler. Günümüzde insanlar bu tarz kimyasallara işyerlerinde, doğada, evde vb birçok yerde maruz kalmaktadır. Yapılan bazı araştırmalarda da, östrojenic yada androjenik özellikli tarım ilaçlarının üremeyi olumsuz etkilediği, anormal cinsiyet gelişimi yada hermafroditizme neden olduğu yönündedir. Östrojenik tarım ilaçlara maruz kalındığında meme kanseri riskinin arttığı, erken menapoza yol açabilmektedir. Yapılan araştırmaların sonuçları az örnekle çalışılması gibi durumlardan

dolayı kesin olarak kabul edilememektedir. Endokrin sistemini bozan kimyasallara verilebilecek başlıca örneklerden biri DDT'dir. Üreme sistemi için toksik madde olarak kabul edilen DDT 25 yıl kadar yasaklanmış, buna rağmen belirli miktarda maruz kalınmıştır [58].

DDT kontaminasyonu; Florida, Apopka gölündeki erkek timsahların genitalinde üreme bozukluklarına olmuştur. DDT kontaminasyonu ile ilgili yapılan bir başka çalışmada DDT ye maruz kalmış balıkları yiyen kartallarda da üremenin azaldığını gösterilmiştir [59].

DDT ile ilgili insanlar üzerinde yapılan bir araştırmada ;hamilelik sırasında maruz kalındığında doğan bebeklerin normalin altında kiloya sahip olması ve küçük kafatasına sahip olmaları gibi durumlar gözlemlenmiştir.[60]

Endokrin sisteminin etkileyen kimyasallardan biri de fitolatlardır. Kemirgen hayvanlarda düşük oluşumuna ,doğuştan gelen özüre ,östrojen döngüsünün uzamasına , ovulasyonun baskılanmasına yada gecikmesine ,foliküllerin küçülmesine neden olmaktadır [61].

Endokrin sistemini etkileyen bir başka kimyasal da bir çeşit sentetik östrojen olan dietilstilbestrol dur. DES ,vajina bölgesinde kanserli hücre oluşumuna neden olduğu düşünüldükten 1971 yılında yasaklanmıştır [62].

Endokrin sistemini etkileyen kimyasallardan biri de fitoöstrojenlerdir. Bunlar doğada; bitkilerde ,soyada ,tahıllarda ,baklagillerde bulunurlar. Sıçanlarda yüksek miktarda fitoöstrojene maruz kalındığında ,rahmi olumsuz etkileyerek bebeğin tutunmasını ,oositlerin olgunlaşmasını engellemektedir [63].

Fitoöstrojenlerin kadınları olumlu ve olumsuz etkilediği yönünde farklı görüşler vardır. Fitoöstrojenlerle ilgili görüşlerden biri; rahim kanseri, göğüs kanseri ,erken menapoz vb durumlarından koruduğu buna karşıt olarak ,adet döngüsünü değiştirdiği ,göğüslerin büyümesini engellediği düşünülmektedir. Fitoöstrojenlerin üreme üzerindeki etkisi,örnek eksikliğinden ,bilgi yetersizliğinden dolayı tam olarak bilinmemektedir [64].

Ağır metallere kurşun ,civa ,kadmium ve manganeze maruz kalmak insan üreme sistemini,laboratuar hayvanlarını ve vahşi doğayı olumsuz etkilemektedir. Kurşun; sulara ,yemeklerde ,toprakta ,havada olan ve bu yüzden canlıların sıklıkla maruz kaldığı bir ağır metaldir. Kemirgen hayvanlarda da ,kurşun FSH hormonunun salgılanmasını engeller ,gonadotropin reseptörünün ovarde bağlanacağı noktayı etkiler ,stereoid metabolizmasını değiştirirler. Kadınlardada ,benzer etkilerle düşük riskini artırmaya ,anne karnında ölüm gibi durumlara neden olmaktadır [65].

Civa, doğada organik ,elemental ve inorganik olmak üzere üç farklı formda bulunur.Organik civa ;boyalarda ,elemental civa; diş dolgularında, termometrelerde,pillerde inorganik civada;elektrik malzemelerinde, antiseptiklerde,bazır cilt bakım kremlerinde kullanılır.Civanın her üç formuda insan sağlığını olumsuz etkilemektedir [66].

Organik civa ,kadınlarda düşük yapma riskini artırmakta yada özürlü bebeklerin dünyaya gelmesinin sebeplerindendir.Elemental civa da ,düşük riskini artırmakta ,adet düzensizliğine yol açmaktadır.

Ağır metallerden kadmiyum,seramiklerde, ,boyamada,lehimleme de kullanılmaktadır.İnsanlar sigara içerken de,kirli denizlerde ağır metallere etkilemiş balıkları yerken de maruz kalabilmektedir.Kadmiyumun insanlar üzerindeki etkisi tam olarak bilinmesede ,kemirgen hayvanlarda akciğer gelişimini engellediği,solunum problemleri yarattığı ,sinir sistemini etkilediği bilinmektedir.Kadmiyum ,hcG üretimini azaltarak ,placentayla bebeğe oksijen ve besin gitmesini engellemektedir [67].

Manganez ,insanların günlük hayatlarında sıklıkla tükettiği tahıllarda ,çaylarda , yiyeceklerin yanısıra yakıt ürünlerinde de bulunmaktadır.Düşük seviyede manganez gelişim gerekli olsada yüksek miktara maruz kalındığında üreme sistemini olumsuz etkilemektedir[68].

Hamile farelerde, beyin gelişimi tamamlanmayan bebek farelerin oluşumuna ,sıçanlardaysa yumurtalıktaki folikül sayısının azalmasına ,kalıcı olarak corpora lutea ya sebep olmaktadır [69].

Çözücü maddeler, elektroniklerden ,bakım ürünlerine ,kuru temizlemeden laboratuara kadar çok geniş alanlarda kullanılmaktadır.Bunlar kolaylıklılı içme sularını kontamine etmektedirler [70].

Perkloroetilen,tolüen, ksilen ve stiren gibi çözücü maddelerin insan ve hayvan üreme sistemi üzerinde olumsuz etkileri olduğu düşünülmektedir.

Perkloroetilen, anne karnındaki bebeğin gelişimini etkilemekte,düşük ihtimalini artırma yada yeni doğan bebeğin yaşam şansını düşürme gibi ciddi problemlere yol açmaktadır [71]. Tolüen , laboratuvar hayvanları üzerinde yapılmış bir çalışmada kemik gelişimini olumsuz etkilemektedir [72].

Ksilen ,perkloroetilen gibi etkilerinin yanısıra progesteron ve östrojen salgılanmasının azalmasına ,üreme döngüsünü bloke edebilmektedir.

Stiren ,döllenme dönemi süresini uzatarak embriyonik seviyedeki ölümlere sebep olabilir[73].

Etilen oksit, 4-vinilsikloheksan ,2,3,7,8-tetraklorodibenzo-*p*-dioksin, and poliklorine Bifenol gibi kimyasalların insan üzerindeki etkisi tam olarak bilinmesede yapılan bazı araştırmalar, kadınlarda üreme sistemini olumsuz etkilerinin olduğu yönündedir.

Etilen oksit ,medikal alanlarda sterilizasyon amaçlı kullanılan bir madde olmasına rağmen kemirici hayvanların gebelik süresinin değişmesine ,düşük oluşumuna neden olmaktadır [74].

4-Vinilsikloheksan ve 4-vinilsikloheksan diepoksit gibi kimyasallar yapay kauçuk (lastik) sanayide ,böcek ilaçlarında kullanılmaktadır. 4-vinilsikloheksan ,farelerde oosit deformasyonuna ,tümör oluşumuna neden olmaktadır.4-vinilsikloheksan diepoksit ise sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada protein sentezini değiştirerek,apoptosize yani programlı hücre ölümüne neden olan genlerin anlatımını artırmaktadırlar [75].

4-Vinilsikloheksan ve 4-vinilsikloheksan diepoksit'in kadınlar üzerindeki etkisi buna maruz kalan kadınlar az olduğundan ,epidemiyojik çalışmanın zorluğundan dolayı tam olarak bilinmemektedir.

2,3,7,8-Tetraklorodibenzo-*p*-dioksin ,klorin içeren atıkları yok etmede,kağıt üretiminde ,böcek ilaçlarında kullanılmaktadır.Biolojik parçalanması çok uzun sürede olduğundan organların çalışmasına dahi müdahale edebilecek etki süreleri vardır.Sıçan rahmi ise bu kimyasala maruz bırakıldığında,vajinal ve genital bölgede anormal durumlara neden olmuş ,yumurtalığın %25 küçüldüğü gözlemlenmiştir.

Maymularada, hormon seviyelerini değiştirerek ,endometriyosize yol açmaktadır [76].

Kadınlarda ise ,düşük yapma,sitogenetik anormallikler ,ölü doğum gibi durumlar üzerinde etkisinin olmadığı düşünülmektedir.Fakat İtalya'da yaşanan Seveso Endüstriyel Felaketinde bu kimyasala maruz kalmış kadınlar üzerinde yapılan araştırma üreme sistemini olumsuz etkilediği yönündedir.

Poliklorine bifenil ,yapıştırıcılarda ,kapasitörlerde ,elektrik transformatörlerinde kullanılmaktadır.Bu madde ,önemli bir toksik madde olduğu kabul edilerek ,1970 li yıllarda Amerikada yasaklanmıştır.Kontamine olmuş kirli sulara maruz kalan balıkları yediğimizde ,günlük tüketim ürünlerinde (peynir ,yağ) ve yağlı etlerde (domuz ,sığır) da bulunmaktadır.Laboratuar hayvanları üzerinde yapılan araştırmaya göre de

,polychlorinated biphenyls ,progesteron seviyesinin azalmasına ,düşük yapma riskini artırmaya neden olmaktadır [77].

Son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada ,Michigan Gölünde polychlorinated biphenyls e maruz kalmış somonları yiyen annelerin çocukları üzerinde yapılmıştır.212 çocuk üzerinde yapılan araştırmada ,anne sütünde polychlorinated biphenyls konsantrasyonu genel populusyona göre daha fazla olduğudur.11 yaşına gelen çocuklarda polychlorinated biphenyls konsantrasyonunun azaldığı ,bununda anne sütünden kesildikten sonra azaldığı yönündedir.Bu kimyasala maruz kalmış çocukların sözel ve sayısal zeka testlerinde daha düşük puanlar aldığı gösterilmiştir. Poliklorine bifenil toksiditesi tam olarak bilinmesede ,beyin gelişimi sırasında,nöronların bölünmesine etki ederek tiroid hormonlarının serum konsantrasyonlarını azaltmaktadır [78].

Böcek,bitki ve mantarları öldürmede kullanılan tarım ilaçlarının kadınların üremesi üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.Sıçanlar üzerindeki bir araştırmada ,methoksiklor un implantasyonu bloke ettiği,fertiliteyi azaltma ,kepone nunda ,ovulasyonu olumsuz etkilediği ,gebelerin idrarında görülen estradiol maddesinin miktarlarında farklılığa sebep olmaktadır [79].

İnsanlarda ise organochlorine böcek ilaçları göğüs ve yağ dokularına etki ederler.Bu nedenle bu kimyasalların göğüs kanserine ,gebelik düşük yapmaya ,erken doğum gibi durumlara neden olacağı düşünülmektedir [80].

Yapılan araştırmaların sonuçları, ekolojik veriler ,direkt olmayan sonuçlar ve az örnekler çalışılabilmesi gibi nedenlerden dolayı kesinlik içermemektedir.Parathion, malahion ,diazanon gibi organophosphate böcek ilaçları,yumurtalığın gelişimini olumsuz etkilemekte, kandaki LH ve progesterone seviyesini azaltarak oosit gelişimini fakirleştirmektedir [81].

Sigara,43 ü karsinojen madde ,300 ü polisiklik aromatikhidrokarbon olduğu bilinen yaklaşık 4000 civarında kimyasal madde içeren bir üründür.Sigara dumanında 1984 yılında Hindistanda 2000 kişinin ölümüne sebep olan metyhl isocyanate içerir.Aynı zamanda 1990 yılında Perrier sularının içerisinde 10 mg olduğu bulunan benzen içermektedir.

İnfertilite ile ilgili yapılan araştırmaların sonucuna göre sigaranın dolaylı olarak doğurganlığı etkilediği düşünülmektedir.Sigara da üreme sistemini etkilediği düşünülen

,aseton ,amonyak ,arsenik ,bütan ,karbon monoksit ,siyanür ,DDT ,formaldehit ,kurşun ,methanol ,polonium 210 (radyoaktif madde) içerir. Nikotinin laboratuvar ortamında kortizol ,vasopressin ve oksitosin değerlerini etkilediği dolayısıyla prolaktin salımında engellediği gösterilmiştir[82].

Sigara içen hamile kadınlarda anne karnındaki bebeğin geç gelişimi,yenidoğan bebek ölümleri, erken doğum gibi durumlar sigara içmeyen hamile kadınlara oranla daha fazladır. Epidemiyolojik bilgiler yetersiz olsada sigaranın kadınlarda doğurganlığı azalttığı,adet düzensizliği yarattığı, erken yaşta menapoz gibi durumlara neden olduğu düşünülmektedir[83].

Sigara ,kadınlarda doğurganlığı etkilediği gibi erkeklerde de sperm sayısının azalmasına ,sperm morfolojisinin değişmesine ,cinsel iktidarsızlığa neden olmaktadır. Yapılan bazı çalışmalara göre ,sigara IVF gibi dışarıdan üremeye yardımcı teknolojileri olumsuz etkilemektedir.Aktif içicilerin pasif veya içmeyenlere oranla %50 daha az implantasyon oranına sahip olmaktadır.Sigara aynı zamanda yumurtalık rezervini azaltmakta gebe kalma yaşını dahada düşürmektedir.35-39 yaşları arasındaki içicilerde ,içmeyenlere oranla daha az rezervlerinin olduğu bulunmuştur[84].

Sigara içen kadınlarda FSH seviyesinin yükselmesi ovar rezervinin azaldığını gösteren bir durum olarak düşünülmektedir.38-49 yaşları arasındaki 290 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada ,bazal FSH seviyesi aktif içicilerde pasif içicilere oranla %66 daha fazla ,pasif içicilerin ise içmeyenlere oranla %39 daha fazla olduğu gösterilmiştir [85].

Son zamanlarda yapılmış bir başka çalışmada ,sigara içen kadınlardaki zona pellucida nın yani yumurta hücresi zarının üzerinde bulunan saydam yapılı tabakanın kalınlaşmasına buda sperm ulaşımının zorlaştırdığına sebep olduğu bulunmuştur [86].

Sigarada bulunan maddelerden biri olan kadmiyum ,kromozom anormalliğiyle oluşan oosit ve embriyoların oluşumuna ,buda metafaz II safhasında daha az sayıda oosit olmasına neden olmaktadır [87].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Çalışmaya dahil edilen örnekler, bir hasta grubu ve bir kontrol grubu olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Çalışmamızda hasta grubu Yeditepe Üniversitesi Hastanesi'nden alınmış 40 primer infertil tanısı konmuş kadın hastadan oluşmaktadır. İkinci grup ise, 40 sağlıklı kadın olmak üzere toplam 80 örnektir.

Seçilen vakalardan 10 ml'lik kan örnekleri EDTA'lı tüplerde toplanmıştır. EDTA'lı tüplerdeki periferik kan lökositlerinden elde edilen DNA örneklerinde Eş Zamanlı PZR ile CYP24A1 (rs:2248137) geninin genotiplerine bakılmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

DNA izolasyon kiti (iPrep Purelink gDNA Blood Kit, Katalog Numarası: IS-10005), Applied Biosystems MicroAmp 96 kuyucuklu optik plak, Applied Biosystems MicroAmp Optik Plate Seal, Applied Biosystems TaqMan CYP24A1 (rs2248137) Real-Time Genotyping Assay, Applied Biosystems TaqMan Genotyping Master Mix.

3.3. Kullanılan Cihazlar

DNA İzolasyon Robotu iPREP Invitrogen, Thermo Fischer Scientific Nano2000 NanoDrop spektrofotometre, Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR sistemi, +4 Buzdolabı (Haier), -20 soğutucu (Haier), Vortex (V-1 plus Biosan), Pipet Takımı (Denville Scientific).

3.4. Yöntemler

3.4.1. Kandan Genomik DNA Elde Edilme Protokolü

DNA izolasyonu için EDTA'lı tüplere alınan yaklaşık 350 ml'lik periferik kan ve iPrep DNA izolasyon robotu kullanılarak aşağıda açıklanan prensiplere dayanarak DNA eldesi sağlanmıştır. Elde edilen DNA +4 derece buzdolabında saklanmıştır. Ortamdaki tamponun pH'ı üzerinden değiştirilebilir yüzey yüküne bağlı manyetik boncuk tabanlı bir teknoloji olan ChargeSwitch teknolojisine göre çalışan izolasyon cihazı kullanılmıştır. Düşük pH durumunda CST boncukları negatif yüklü nükleik asit

iskeletine bağlanan bir pozitif yüke sahiptir. Bu nedenle protein ve diğer kontaminantlar bu boncuklara bağlanamaz ve boncuklar sıvı yıkama tamponu ile yıkanır. Nükleik asitleri temizlemek için; boncuk yüzeyinin yükü, pH'ı düşük tuzu yıkama tamponu (elution) kullanarak pH 8,5'e yükseltilerek nötralize edilir. İzole edilmiş nükleik asit hemen yıkama tamponuna geçer ve uygulamalarda kullanılmak üzere hazır hale gelmiş olur. Bu kapalı sistem içerisinde 45 dakikada DNA izolasyonu gerçekleşmiş ve bu işlem sonunda yaklaşık 150 ul DNA elde edilmiştir.

Magnetik boncukların en etkin ve verimli şekilde DNA'ya bağlanmaları için kartuşlar bir süre çalkalanır. Hastalardan EDTA'lı tüplere toplanan periferik kandan 350 ul çekilerek 1.5'lik eppendorflara aktarılır ve iPrep izolasyon kartuşunun örnek bölümüne yerleştirilir. Sulandırılmış DNA'nın konması için yine 1.5 ul'lik eppendorf elution bölümüne yerleştirilir. İzolasyon sırasında pipetlemeyi yapmak için gerekli pipet uçları özel bölmesine yerleştirilir. En son elde edilen sulandırılmış DNA -20 yada +4 'e kaldırılmıştır.

3.4.2. DNA Düzeylerinin Belirlenmesi

Elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonlarının belirlenmesi için Thermo Fischer Scientific Nano2000 NanoDrop spektrofotometre kullanılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarına ait DNA örnekleri cihaza 1,5 ul olacak şekilde yüklenerek ölçüm alındı. Her 10 örnekte bir 1,5ul blank alınarak ölçümler kaydedildi.

3.4.3. Gerçek Zamanlı PZR Yöntemi ile Genotipleme

Genotipleme gerçek zamanlı PZR ile allelik diskriminasyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. CYP24A1 genotiplemesi için Applied Biosystems Rs:2248137 primer prob seti kullanılmıştır.

Tablo 3-1: Eş Zamanlı PZR ait içerik

Kullanılan Malzemeler	Miktar (ul)
Taqman Genotyping Master Mix	5 ul
Primer Assay	0,5 ul
dH ₂ O	3,5 ul
DNA (~50ng)	1 ul
Toplam	10 ul

Tablo 3-2: Eş Zamanlı PZR koşulları

	50 Döngü			
	Öndenatürasyon	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama
Zaman	1 dakika	10 dakika	15 saniye	1,5 dakika
Sıcaklık	60 ° C	95 ° C	92 ° C	60 ° C

3.5. İstatistiksel Analiz

Genotipleme sonucunda elde edilen veriler istatistiksel analiz için SPSS 21.0 programı ile değerlendirildi. Genotip ve allelerin gruplar arası görülme sıklıklarının değerlendirilmesinde Ki Kare, Fisher's Exact test kullanılmıştır ve anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1 Çalışma Gruplarına Ait Demografik Veriler

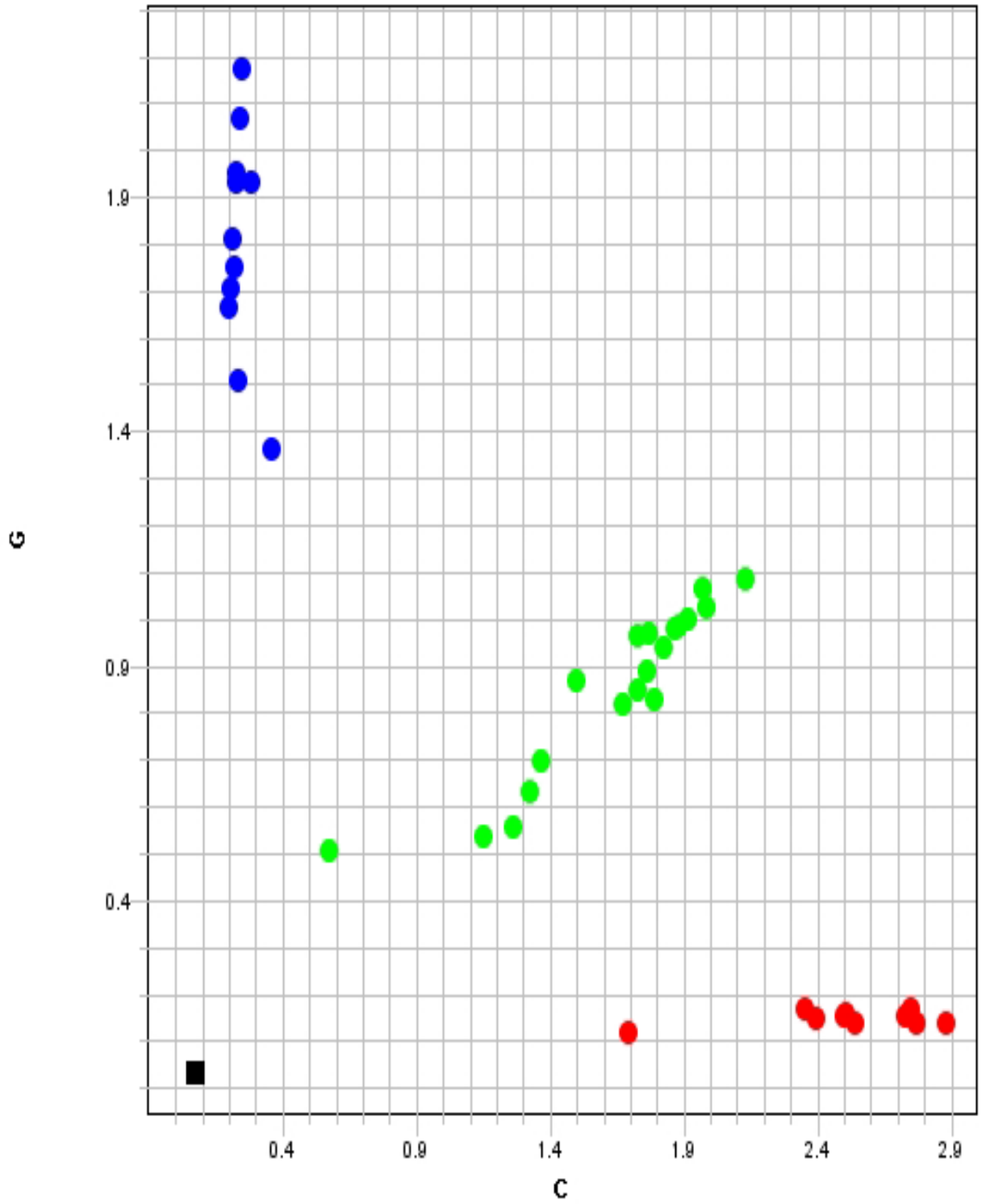
Çalışmaya Yeditepe Ünivesitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan toplanan primer infertil tanısı konmuş 40 kadın hastalar ve yine aynı klinikten tercih edilen 40 doğurgan sağlıklı kadın kontrol grubu olmak üzere toplamda 80 gönüllü kadın dahil edilmiştir.Çalışmanın yapıldığı Primer İnfertil Hastalara İlişkin demografik veriler hasta ve kontrol gruplarında istatistiksel olarak verilmiştir.(Tablo4.1)

Tablo 4-1: Hasta ve Kontrol Grubuna ait Demografik Bilgiler

Parametreler	Hasta (n=40)	Kontrol (n=40)
Yaş(yıl)	32,84±4,12	50,25±20,93
FSH	6,35±1,93	-
Oocyte	12,97±7,34	-
M_Oocyte	10,84±6,10	-

4.2 Gerçek Zamanlı PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Allelik diskriminasyon ,problarda bulunan boyaların yaptığı floresans ışımaların 7500 Fast –Real Time PCR cihazının yazılımı tarafından otomatik olarak okunup yorumlanması şeklinde yapılmıştır.Ancak diskrimine edilemeyen bazı örnekler ,ışıma eğrileri incelenip yorumlanarak ‘manuel’ olarak diskrimine edildi (Şekil 4-1).

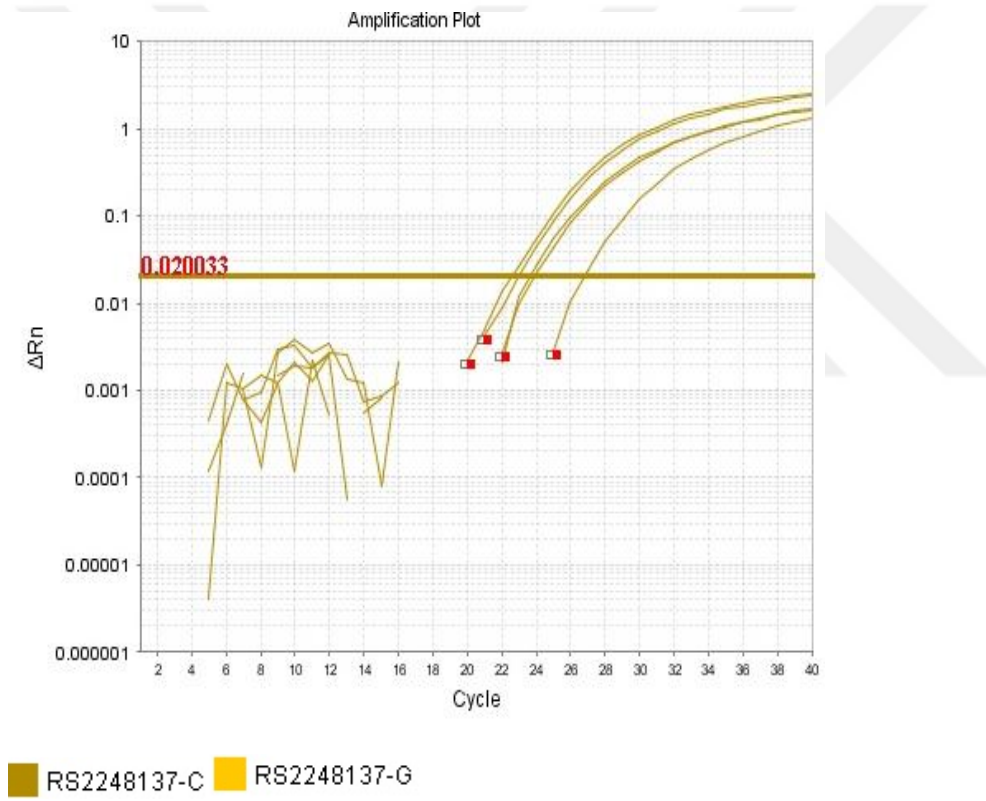


Legend

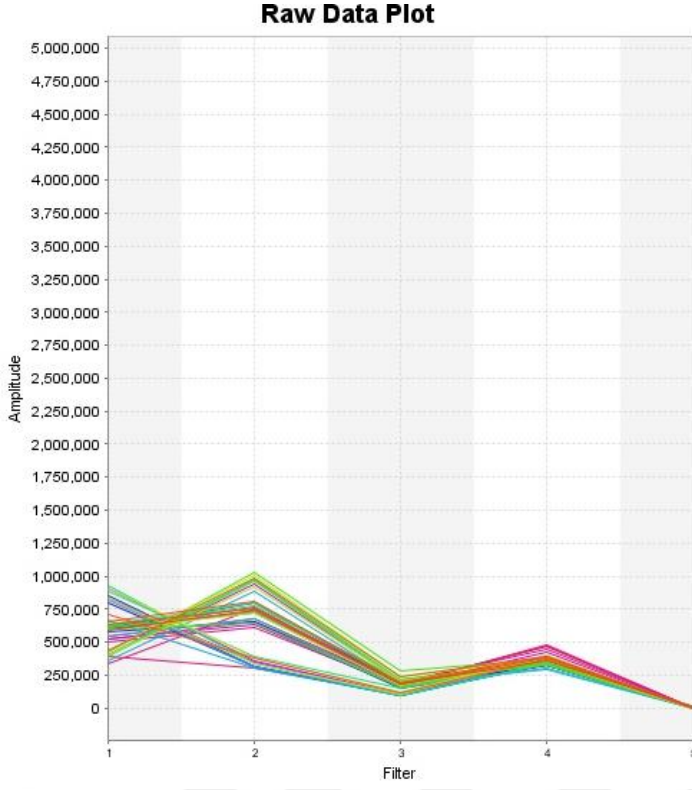
- Homozygous 1/1
- Heterozygous 1/2
- Homozygous 2/2
- ✕ Undetermined

Şekil 4-1: Primer infertil kadın hasta grubu ve kontrol grubunda Gerçek Zamanlı PZR ile yapılan CYP24A1 Geni Diskriminasyon Grafiği (Kırmızı: Homozigot yabancı tip, Yeşil: Heterozigot mutant, Mavi: Homozigot mutant)

Alleller, gerek cihazın yazılımı tarafından gerekse manuel olarak belirlenirken örneklerin döngü başına yaptığı ışımaya miktarına bağlı çizilen grafikler ve bu grafiklerin farklılıkları göz önünde bulundurularak belirlenmiştir.(Şekil 4-2, Şekil 4-3).



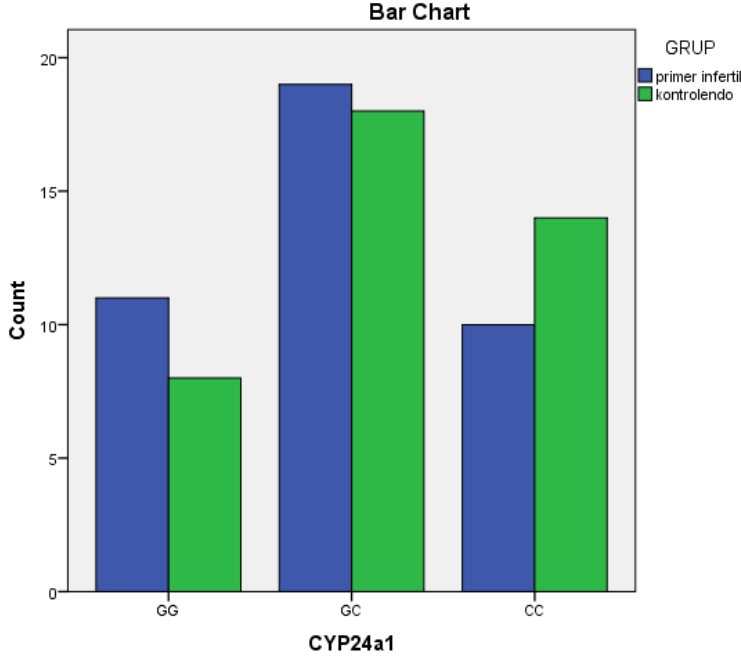
Şekil 4-2: Genotip Işıma Grafiği



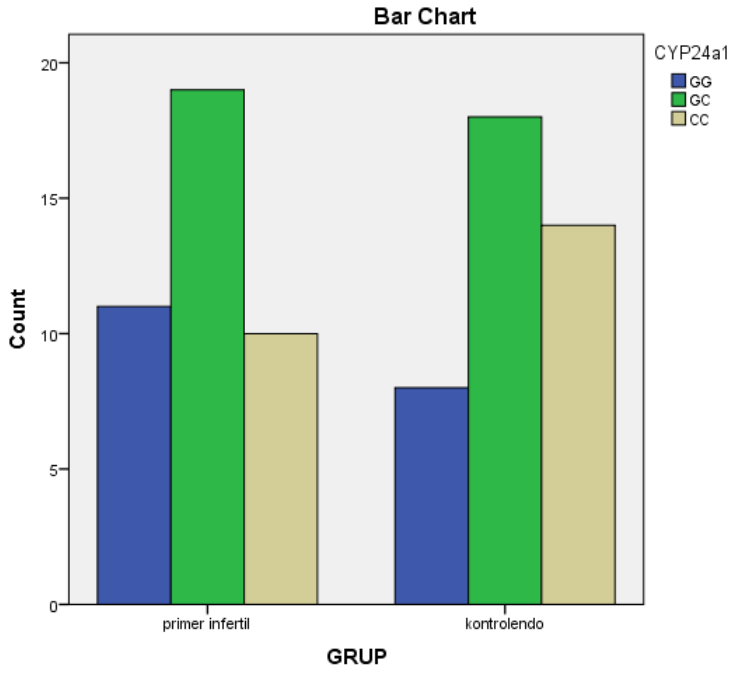
Şekil 4-3:Ham Veri Grafiği

4.3Eş Zamanlı Pzr Verilerinin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi

40 Primer İnfertil Kadın ve 40 Sağlıklı Kontrol ile yapılan bu çalışmada Cyp24A1 gen varyasyonu ile Primer İnfertil Hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4-4: Hasta ve Kontrol Grubundaki genotip sayılarının karşılaştırılması



Şekil 4-5: Grupların kendi içerisinde genotip sayılarının karşılaştırılması

Hasta ve Kontrol gruplarının Cyp24A1 geni için genotip ve allel dağılımları aşağıdaki tabloda verilmiştir.(Tablo 4.2)

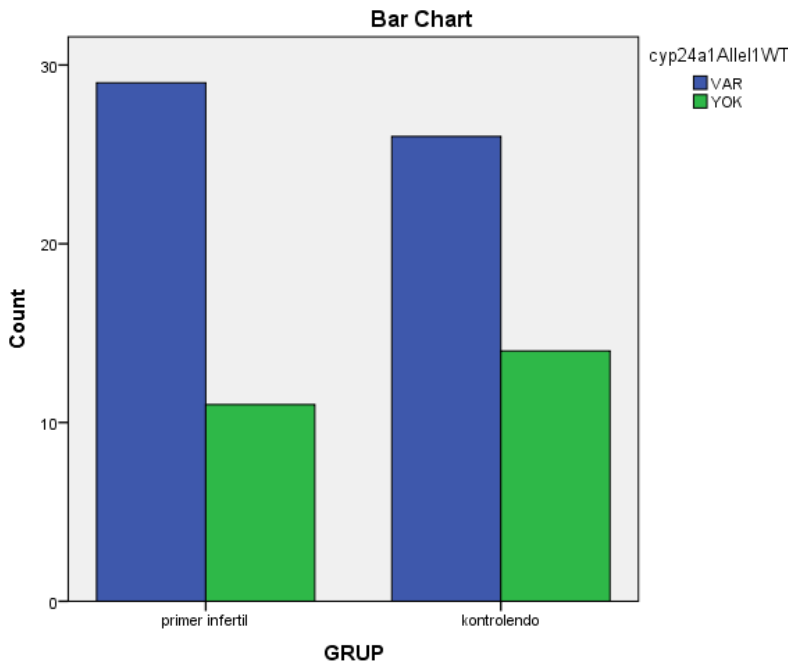
Tablo 4-2: Çalışma gruplarında CYP24A1 Geni İçin Genotip ve Allel Dağılımları

Cyp24A1 polimorfizmi	Hasta (n=40)	Kontrol (n=40)	P değeri	Ki-kare
Genotipler				
GG	11(%27,5)	8(%20)		
GC	19(%47,5)	18(%45)	P=0,558	$\chi^2 = 1,167$
CC	10(%25)	14(%35)		
Alleller				
G	41(%27,5)	34(%35)	P=0,500	$\chi^2 = 0,069$
C	39(72,5)	46(%65)	P=0,315	$\chi^2 = 0,524$

n: birey sayısı, Gruplar arası farklılık ki-kare testi (x2) ile incelenmiştir. p değeri pearson chisquare test ve fisher's exact test'e göre alınmıştır.

4.4 Hasta Klinik Verilerinin Allel Frekanslarıyla Değerlendirilmesi

4.4.1 G Allelin(doğal tip) Klinik Verilerle Karşılaştırılması



Şekil 4-6: G Allelin gruplar arasında karşılaştırılması

Çalışma gruplarında CYP24A1 Geni IVS1-105 (rs2248137) polimorfizmine ait G alleldeki (doğal tip) FSH değerleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4-3)

Tablo 4-3: Çalışma grupları arasında CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait G allele göre FSH değerleri

Cyp24A1 Polimorfizmi	FSH n=birey sayısı	%	Ortalama Birim (mIU/ml)
Alleller			
G	n=7	%28	6,67±2,65
C	n=18	%72	6,22±1,65

Çalışma gruplarında CYP24A1 Geni (rs2248137) polimorfizmine ait G alleldeki Oosit değerleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4-4)

Tablo 4-4: Çalışma grupları arasında CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait G alleldeki Oosit değerleri

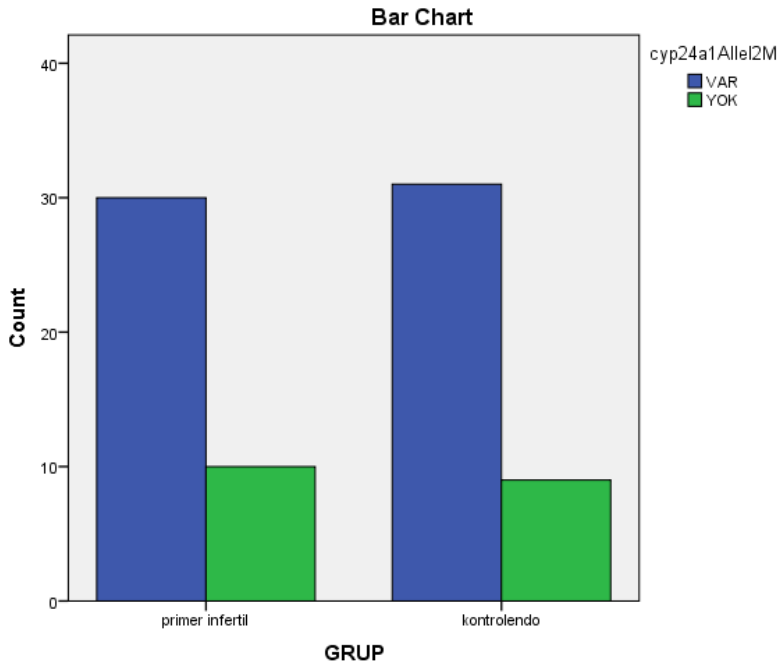
Cyp24A1 Polimorfizmi	Oosit	Ortalama Birim	%
Alleller			
G	n=7	12,14±2,54	%28
C	n=18	13,29±8,57	%72

Çalışma gruplarında CYP24A1 Geni (rs2248137) polimorfizmine ait G alleldeki M_Oosit değerleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$)

Tablo 4-5: Çalışma grupları arasında CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait G alleldeki M_Oosit değerleri

Cyp24A1 Polimorfizmi	M_Oosit	Ortalama Birim	%
Alleller			
G	n=7	9,42±2,43	%28
C	n=18	11,38±7,02	%72

4.4.2 C Allelin Klinik Verilerle Karşılaştırılması



Şekil 4-7: C Allelin Gruplar Arasında Karşılaştırılması

CYP24A1 Geni (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre FSH değerleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4-6)

Tablo 4-6: CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre FSH değerleri

Cyp24A1 Polimorfizmi	FSH Ortalama Birim (mIU/ml)	P değeri
GG	6,67±2,65	0,611
GC	5,58±1,19	0,110
CC	7,01±1,88	0,246

CYP24A1 Geni (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre Oosit değerleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4-7)

Tablo 4-7: CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre Oosit değerleri

Cyp24A1 Polimorfizmi	Oosit Ortalama Birim (mIU/ml)	P değeri
GG	12,14±2,54	0,732
GC	15,33±9,65	0,195
CC	10,75±6,75	0,309

CYP24A1 Geni (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre M_Oosit değerleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. ($p>0,05$) (Tablo 4-8)

Tablo 4-8: CYP24A1 Geni IVS1-105 G>C (rs2248137) polimorfizmine ait hastaların genotip dağılımlarına göre M_Oosit değerleri

Cyp24A1 Polimorfizmi	M_Oosit Ortalama Birim (mlU/ml)	P değeri
GG	9,42±2,43	0,048
GC	13,00±7,88	0,152
CC	9,37±5,6	0,422

5.TARTIŞMA VE SONUÇLAR

İnfertilite, American Society for Reproductive Medicine Practice Committee tarafından yapılan tanıma göre, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen en az bir yıl içerisinde gebelik elde edilememesi durumudur.[1]

Dünya Sağlık Örgütü'nün tahminlerine göre infertilite, tüm dünyada 50-80 milyon kadını etkilemektedir. Buna göre dünyada infertilite oranının %8-12 arasında olduğu söylenebilir. Türkiye'de ise bu oran evli çiftlerin %10-20'si arasındadır.[2] Türk toplumunda bu oranın , dünya geneline göre daha fazla olması ayrı bir tartışma ve araştırma konusu olabileceği gibi genel olarak bakıldığında bu oran azımsanmayacak kadar yüksektir. Risk faktörleri göz önüne alındığında kaynak olduğu dış etkenlerin önüne geçilemediği düşünülürse bu oranının daha da artmasını çok muhtemel olduğunu düşünülebilir.

İnfertilite de, hem kültürel hemde biyolojik kaynaklı olduğu düşünülen tıbbi açıdanda kabul edilmiş bir çeşit hastalık olması nedeniyle özellikle son elli yıl içerisinde bu konuda önemli adımlar atılmıştır. Bunlardan en çok yer edinen , uygulanan tedavi yöntemi ise tüp bebek yöntemi(erkek hastadan alınan tek sperm ile kadın hastadan elde edilen tek yumurtanın laboratuvar ortamında döllenerek kadın hastaya enjekte edilmesi) dir. Üreme sorunu yaşayan birçok kadın için cinsel yolla birleşerek gebe kalmaya önemli bir alternatif oluşturmaktadır. Ancak bu yöntem, sınırlı sayıda infertil çiftin çocuk sahibi olabilmesine olanak sağlamıştır.

Tıbbi veriler, infertilitenin kaynağı açısından yüzde 30 erkek, yüzde 20 ovulatuvar, yüzde 20 tübal/peritoneal, yüzde 5 uterin/servikal ve yüzde 25 oranında açıklanamayan faktörün etkili olduğunu göstermektedir.[3]Yapılan bir araştırma sonucuna göre;kadınların yarısından fazlasının (%55) gördüğü infertilite tedavisinin nedeni, açıklanamayan infertilitedir.

İnfertilite diğer bir deyişle kısırlık her iki cinstende kaynaklanacağı gibi, primer ve sekonder olmak üzere iki şekli vardır. Primer infertil yani birincil kısırlık en az 1 yıl doğum kontrol yöntemleri kullanmadan yeterli sıklıkta cinsel ilişkiye girmesine rağmen gebe kalamaması durumudur.[1]Sekonder infertilite ise, gebe kalmanın gerçekleşmesi ancak gebeliğin doğumdan önce sonlanmasıdır.[3].

Vitamin D'nin insan vücudunda kemik gelişimi kalsiyum metabolizması gibi birçok önemli rolü vardır. Bu nedenle vücuttaki vitamin D konsantrasyonunda çok önemlidir. Memelilerde, Vitamin D konsantrasyonu az olduğunda doğurganlığı etkilediği kanıtlanmış olsada insanlar üzerinde tartışma konusu olmaya, araştırılmaya devam edilmektedir. İnsanlarda, vitamin D'nin infertiliteyi etkilemesi ihtimali özellikle tüp bebek tedavisini geliştirmek açısından önemli bir yere sahiptir.

Vitamin D'nin mekanizmasında rol olan genlerden biri mitokondrial sitokrom P450 familyasından Cyp24A1 dir. CYP24A1, 1,25-dihidroksivitamin D3'ün, yan zincirlerini hidroksilasyona uğratması sonucu, degradasyonunun başlamasını katalizler. Yani Cyp24A1 vitamin D'yi parçalar bu nedenle vitamin D eksikliğine bağlı hastalıkları tedavi etme sürecinde inhibitör olarak kullanmayı hedefleyen çalışmalar yapılmaktadır.

Bu projenin amacı; vitamin D mekanizmasını doğrudan etkileyen cyp24A1 geninin primer infertil hastalardaki ilişkisinin araştırılmasıdır. Bu nedenle tüp bebek tedavisine gelen kadın hastaların serum 25-hidroksi vitamin D konsantrasyonlarına göz önünde bulunduran gebe kalabilme potansiyeliyle ilgili pek çok çalışma yapılmıştır.

Bunlardan biri olan Alessio Paffoni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; serum 25-hidroksi vitamin D [25(OH)D] seviyesinin (<20 ng/mL) olanlar eksik, (>20 ng/mL) üzerinde olanlar normal değerde olduğu kabul edilerek çalışma iki grup altında incelenmiştir. Bu çalışmanın sonunda eksik olan grubun, normal gruba göre klinik olarak gebe kalma ihtimalinin daha az olduğu, implantasyonu zorlaştırdığı gözlemlenmiştir. [88]

N.Q Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; Vitamin D yi aktive eden cyp27B1 enzimiyle VDR (vitamin D reseptörü) çıkarılmış ve bunun sonucunda ovaryen büyüklüğünün azaldığı, folikül oluşumunu etkilediği, dolayısıyla kadınlarda fertilitateyi etkilediği gösterilmiştir. [89]

Alexandra J Karmeck ve arkadaşları da, daha öncesinde dietin IVF üzerinde etkilediği sonucuna varılmış bir başka çalışmaya dayanarak vitamin D takvisini görmek için bir başka çalışma yapmışlardır. Önceki çalışmalarda Akdeniz diyeti, gebe kalma yüzdesini %40 artırmıştır. Bir başka IVF tedavisine gelen hastalar üzerinde yapılan çalışmada çoklu doymamış yağ asidi Omega 3 takviyesi embryo gelişimini hızlandırdığı yönündedir. Bu nedenle Alexandra ve arkadaşları 6 hafta süresince; bir gruba Vitamin D

ile zenginleştirilmiş ayçiçeği ve omega-3 yağ asidi verip diğer gruba sadece normal ayçekirdeği yağı vererek embriyo üzerinde etkisini görmek istemişlerdir.[90]

Colussi G ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ; vitamin D mekanizmasında önemli rol oynayan Cyp24a1 geninin mutasyonunun böbrek hastaları üzerindeki etkisi araştırmak istemişlerdir.Cyp24a1 geninin mutasyonu Vitamin D'nin parçalanmasını engellemesi ,vitamin D miktarının artması fazla kalsiyumun yani hiperkalsemi üzerinde etkisi olacağı düşünülmüştür.Bu nedenle 27 kronik böbrek rahatsızlığı ,39 kontrol grubu olacak şekilde cyp24a1 geninin mutasyonu yani inaktivasyonun kalsiyum dengesinde önemli bir rol oynayacağı sonucuna varılmıştır.[91]

Blomberg Jansen M ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da;erkek üreme sisteminde vitamin D reseptörü ve vitamin D'yi metabolize eden enzimlerin etkili olduğunu gösteren bazı çalışmalar üzerine bir başka çalışma yapmışlardır.Vitamin D reseptörünün testislerde eksprese edildiğinden, fareler üzerinde Vitamin D reseptörünün knock out edilmesiyle fertilitiyi ,sperm sayısını azalttığı bilgisine dayanarak , alınan sperm örnekleriyle mRNA analizi yapmışlardır.Bunun sonucunda cyp24a1 inaktivasyonu Vitamin D reseptörünün aktive eden genlerin aktivasyonunun erkeklerin üreme sisteminde önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır.[92]

Pearce K ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ;over rezervinin korunmasında önemli rol oynayan Anti Müllerial hormonun ,mevsim değişikliğine bağlı değişen vitamin D sentezininin etkisi olup olmadığını araştırmışlardır.İnfertilite problemi Polikistik Over Sendromuna sahip olan 58 kadın ve 282 fertil olmak üzere toplam 340 kadın üzerinde yapılan çalışmada,serum AMH ve serum vitamin D seviyelerine bakmışlardır.Bu araştırmanın sonunda serum AMH seviyesinde bir değişim gözlenmeyip ,serum vitamin D seviyesinin fertilitate üzerinde bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.[93]

Polyzos NP ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ;tüp bebek tedavisine gelen hastalarının gebe kalabilme potansiyelinde vitamin d eksikliğinin bir etkisi olup olmadığını araştırmak istemişlerdir.Serum örnekleri ,embriyo transferinden 7 gün önce toplanıp embriyo transferinden 5 gün sonraki aşama olan blastosist aşamasında vitamin D konsantrasyonuyla kıyaslayarak vitamin D eksikliği olan hastalarda gebe kalma ihtimalinin daha az olduğu sonucuna varılmıştır.[94]

Kim JJ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ; vitamin D eksikliğinin Polikistik Over Sendromu üzerinde etkisi olduğu düşünülerek Koreli 38 PCOS ve 109 menapoza girmemiş olan kontrol kadın grubundan oluşan bir çalışma yapmışlardır.Fakat serum 25

hidroksi vitamin D konsantrasyonlarının hasta ve kontrol grupları arasında bir fark bulunamamıştır. Vitamin D eksikliğinin Polikistik Over Sendromuyla ilgili olduğu düşünülmese de rağmen bir çalışmada anlamlı sonuç bulunamamıştır.[95]

Sayegh L ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ; vitamin D'nin endometriozis ile ilişkisi olduğunu düşünerek , 1946 ve 2013 tarihleri arasında yapılmış bütün çalışmaların literatür taramasını yapmak istemişlerdir. Vitamin D reseptörü , Vitamin D'yi metabolize eden enzimler endometriyum döngüsünde yer aldığı, vitamin D eksikliğinde endometriozise neden olduğu sonucuna varılmıştır.[96]

Cauley JA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ; serum 25 hidroksi vitamin D seviyesinin menapoz dönemindeki seviye üzerinde etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Yaşın ilerlemesine bağlı olarak azalan kas ve kemik erimesi ve buna bağlı mineral kaybı olmaktadır. Bu süreç kadınlarda menapoz döneminden sonra daha hızlı artmaya başladığından , serum 25 hidroksi vitamin D konsantrasyonu fazla olanlarda bunun daha az olup olmadığına bakılmıştır. Sonuçlara bakıldığında bir anlamlı bir sonuç bulunamamıştır.[97]

Zhang ZL ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ; kalsiyum ve 1 alfa hidroksilaz enzim ekspresyonlarının 24 hidroksilaz geni üzerinde etkisini araştırmışlardır. Bunun için 10 aylık olan fareler üzerinde yapılan çalışma Vitamin D reseptörü ve 25 hidroksi vitamin D 1 alfa hidroksilaz enzimi delesyonu yapılarak çalışma 2 grup altında yapılmıştır. Bir gruba kalsiyum diyeti diğer gruba laktoz diyeti uygulanarak RNA izolasyonu yapılmış, gerçek zamanlı PCR da ekspresyonu incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda 24 hidroksilaz geninin serum kalsiyumla bir ilişkisi olup, 1 alfa hidroksilaz geniyle bir ilişki bulunamamıştır.[98]

Bizim çalışmamızda da primer infertil hasta grubunda CYP24A1 geni IVSI-105 G>C polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları incelendiğinde Genotip dağılımı GG genotipi %27,5(n=11) , GC genotipi %47,5 (n=19) ve CC genotipi %25 (n=10) bulunurken, Kontrol grubunda GG genotipi %20(n=8) , GC genotipi %45 (n=18) ve CC genotipi %35 (n=14) olarak bulunmuştur. (Bknz. Bulgular Tablo 4.2.) GC genotipi taşıyan hastalarda diğer hastalara göre belirteç düzeylerinin hepsi yüksek seviyede bulunmuştur. Ancak istatistiksel bir anlamlılık saptanamamıştır.

Sonuç olarak; Çalışmamızda ele alınan CYP24A1 geninin primer infertil kadın ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Ancak, CYP24A1 geninde GC genotipi taşıyan hastalarda diğer hastalara göre belirteç düzeylerinin hepsi yüksek bulunmuştur.

Daha kesin bilgiler edinebilmek için çalışma gruplarındaki örnek sayılarının artırılarak çalışmanın devam ettirilebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışma Türk popülasyonunda primer infertil kadın hastalarda CYP24A1 gen polimorfizmlerinin araştırıldığı ilk çalışma niteliğindedir.



6.KAYNAKLAR

1. Taşçı E, Bolsoy N, Kavlak O, Yücesoy F. (2008) İnfertil kadınlarda evlilik uyumu, *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi* 2:105-110.
2. Kottak CP. (2002) Antropoloji – İnsan Çeşitliliğine Bir Bakış. Ankara: Ütopya Yay:550
3. Bayer SR, Alper MM, Penzias AS. (2008) Boston IVF İnfertilite El Kitabı. (2.Baskı) (Çev. Işık Ahmet Zeki, Vicdan Kubilay) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi:28
4. Oya Topdemir Koçyiğit (2012) İnsanbil Derg 1(1):27-38
5. Fortuño C1, Labarta E, Genetics of primary ovarian insufficiency: *J Assist Reprod Genet.* 2014 Dec;31(12):1573-85.
6. Madan K (1983) Balanced structural changes involving the human X: effect on sexual phenotype *Human Genetics* 63 216–221s
7. Hargreave T (2000) Genetic basis of male infertility *British Medical Bulletin* 3 650–671
8. Attanasio A, Blank B, Rager K and Gupta D (1982) Effect of human chorionic gonadotropin on the plasma levels of testosterone, estradiol, sex hormone binding globuline and free testosterone in Klinefelter syndrome *Endokrinologie* 80 129–134
9. May KM, Jacobs PA, Lee M, Ratcliffe S, Robinson A, Nielsen J and Hassold TJ (1990) The parental origin of the extra X chromosome in 47,XXX females *American Journal of Human Genetics* 46 754–761
10. Patrizio P and Broomfield D (1999) *Male Fertility and Infertility* pp 164–173 Eds T Glover and C Barratt. Cambridge University Press, Cambridge
11. Hargreave T (2000) Genetic basis of male infertility *British Medical Bulletin* 3 650–671
12. Sheynkin YR (2000) *Genetics of Male Infertility*
13. Pallares-Ruiz N, Carles S, Des Georges M, Guittard C, Arnal F, Humeau C and Claustres M (1999) Complete mutational screening of the cystic

fibrosis transmembrane conductance regulator gene: cystic fibrosis mutations are not involved in healthy men with reduced sperm quality *Human Reproduction* 14 3035–3040

14. Nudell DM and Turek PJ (2000) Genetic causes of male infertility: current concepts *Current Urology Reports* 1 273–281

15. Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R et al. (2001) Mutations in PTPN11, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome *Nature Genetics* 29 465–468

16. Swain A and Lovell-Badge R (1999) Mammalian sex determination: a molecular drama *Genes and Development* 13 755–767

17. Jordan BK, Mohammed M, Ching ST, Delot E, Chen XN, Dewing P, Swain A, Rao PN, Elejalde BR and Vilain E (2001) Up-regulation of WNT-4 signaling and dosage-sensitive sex reversal in humans *American Journal of Human Genetics* 68 1102–1109

18. Vilain E (2002) Anomalies of human sexual development: clinical aspects and genetic analysis *Novartis Foundation Symposium* 244 43–53

19. Clarkson MJ and Harley VR (2002) Sex with the SOX on: SRY and SOX9 in testis development *Trends in Endocrinology and Metabolism* 13 106–111

20. Raymond CS, Murphy MW, O'Sullivan MG, Bardwell VJ and Zarkower D (2000) *Dmrt1*, a gene related to worm and fly sexual regulators, is required for mammalian testis differentiation *Genes and Development* 14 2587–2595

21. Zarkower D (2001) Establishing sexual dimorphism: conservation amidst diversity? *Nature Reviews, Genetics* 2 175–185

22. Swain A and Narvez V (1998) Gonadal differentiation, sex determination and normal Sry expression in mice require interaction between transcription partners GATA4 and FOG2 *Development* 129 4627–4634

23. Holick MF, Garabedian M. Vitamin D photobiology, metabolism, mechanism of action and clinical application. In: Favus MJ (ed). *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism* (6th ed). Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research, 106-114, 2006.

24. Vieth R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr* 69: 842– 856, 1999.

25. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 89: 5387-5391, 2004.
26. Aronov PA, Hall LM, Dettmer K, Stephensen CB, Hammock BD. *Anal. Bioanal. Chem.* 391:1917, 2008.
27. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 80 (Suppl): 1678-1688, 2004
28. Ashwell M, Stone EM, Stolte H, Cashman KD, Macdonald H, Lanham-New S, Hiom S, Webb A, Fraser D. UK Food Standards Agency Workshop Report: an investigation of the relative contributions of diet and sunlight to vitamin D status. *Br J Nutr* 2010;104:603–611
29. Moore C, Murphy MM, Keast DR, Holick MF. Vitamin D intake in the United States. *J Am Diet Assoc* 2004;104:980–983.
30. Christakos S, Dhawan P, Benn B, Porta A, Hediger M, Oh GT, Jeung EB, Zhong Y, Ajibade D, Dhawan K, Joshi S. Vitamin D: molecular mechanism of action. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1116:340–348.
31. Wecksler WR, Norman AW. A kinetic and equilibrium binding study of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 with its cytosol receptor from chick intestinal mucosa. *J Biol Chem* 1980a;255:3571–3574.
32. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 116: 2062-2072, 2006.
33. Markey SP. Pathways of drug metabolism. In: Atkinson AJ Jr, Daniels CE, Dedrick RL, Grudzinskas CV, Markey SP, eds. *Principles of Clinical Pharmacology*. San Diego, CA: Academic Press;123-142, 2001.
34. Amal Al Omari and Daryl J. Murry. Pharmacogenetics of the Cytochrome P450 Enzyme System: Review of Current Knowledge and Clinical Significance. *Journal of Pharmacy Practice*; 20: 206, 2007.
35. Rodriguez-antona C, Ingelman-Sundburg M. Cytochrome P450 and cancer. *Oncogene*; 25: 1679-1691, 2006.

36. Hasler JA, Esabrook R, Murray M, Pikuleva I, Waterman M, Capdevila J ve ark. Human Cytochromes P450. *Mol Aspects Med*, 20, 1-137, 1999.
37. Ryan K.J. Biological aromatization of steroids. *J. Biol. Chem.*, 234, 268-272, 1959.
38. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet*, 356: 1667-1671, 2000.
39. Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci*; 20: 342-349, 1999.
40. Bozkurt A, Basci NE, Isimer A ve ark. Polymorphic debrisoquine metabolism in a Turkish population. *Clin Pharmacol Ther*, 55: 399-401, 1994.
41. Horvath E, et al.: Marked increase of CYP24A1 mRNA level in hepatocellular carcinoma cell lines following vitamin D administration. *Anticancer Res.*, PMID 23155244. 2012 Nov
42. <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/CYP24A1>
43. Nasser A and Grifo JA (1998) Genetics, age, and infertility. *Maturitas* 30,189–192.
44. Rich-Edwards JW, Spiegelman D, Garland M, Hertzmark E, Hunter DJ, Colditz GA, Willett WC, Wand H and Manson JE (2002) Physical activity, body mass index, and ovulatory disorder infertility. *Epidemiology* 13,184–190.
45. Moore VM and Davies MJ (2005) Diet during pregnancy, neonatal outcomes and later health. *Reprod Fertil Dev* 17,341–348.
46. Clark AM, Ledger W, Galletly C, Tomlinson L, Blaney F, Wang X and Norman RJ (1995) Weight loss results in significant improvement in pregnancy and ovulation rates in anovulatory obese women. *Hum Reprod* 10,2705–2712.
47. Norman RJ and Clark AM (1998) Obesity and reproductive disorders: a review. *Reprod Fertil Dev* 10,55–63

48. Klonoff-Chohen H, Bleha J and Lam-Kruglick P (2002) A prospective study of the effects of female and male caffeine consumption on the reproductive endpoints of IVF and gamete intra-Fallopian transfer. *Hum Reprod* 17,1746–1754.
49. Lucero J, Harlow BL, Barbieri RL, Sluss P and Cramer DW (2001) Early follicular phase hormone levels in relation to patterns of alcohol, tobacco, and coffee use. *Fertil Steril* 76,723–729
50. Gill J (2000) The effects of moderate alcohol consumption on female hormone levels and reproductive function. *Alcohol Alcohol* 35,417–423.
51. Windham GC, Fenster L and Swan SH (1992) Moderate maternal and paternal alcohol consumption and the risk of spontaneous abortion. *Epidemiology* 3,364–370.
52. National Academy of Sciences Steering Committee on Identification of Toxic and Potentially Toxic Chemicals for Consideration by the Toxicology Program, Board on Toxicology and Environmental Health Hazards, Commission on Life Sciences, National Research Council Toxicity Testing: Strategies to Determine Needs and Priorities, Washington D.C., 1984.
53. Birnbaum LS. Developmental effects of dioxins. *Environ Health Perspect* 1995;103:89–94.
54. Mattison DR. The mechanisms of action of reproductive toxins. *Am J Ind Med* 1983;4:65–79.
55. Seawright AA. Directly toxic effects of plant chemicals which may occur in human and animal foods. *Nat Toxins* 1995;3:227–32.
56. McLachlan JA, Arnold SF. Environmental estrogens. *Am Sci* 1996;84:452–61.
57. Safe SH. Environmental and dietary estrogens and human health: is there a problem? *Environ Health Perspect* 1995;103:346–51.
58. Colburn T, Davidson A, Green SN, Hoogr RA, Jackson CI, Liroff RA. Great Lakes, great legacy. Washington, D.C.: The Conservatory Foundation, 1990

59. Faber R, Hickey J. Eggshell thinning, polychlorinated hydrocarbons and mercury in inland aquatic bird eggs, 1969 and 1970. *Pestic Monit J* 1973;7:27–36.
60. Fein GG, Jacobson JL, Jacobson SW, Schwartz PM, Fowler JK. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: effects on birth size and gestational age. *J Pediatr* 1984;105:315–20
61. Davis BJ, Maronpot RR, Heindel JJ. Di-(2-ethylhexyl) phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;128:216–23.
62. Giusti RM, Iwamoto K, Hatch EE. Diethylstilbestrol revisited: a review of the long-term health effects. *Ann Intern Med* 1995;122: 778–88.
63. Whitten PL, Lewis C, Russel E, Naftolin F. Phytoestrogen influences on the development of behavior and gonadotropin function. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995;208:82– 6.
64. Baird DD, Umbach DM, Lansdell L, Hughes CL, Setchell KD, Weinberg CR, et al. Dietary intervention study to assess estrogenicity of dietary soy among postmenopausal women. *J Clin Endocrin Metab* 1995;80:1685–90.
65. Saric M. Reproduction and exposure to lead. *Ann Acad Med Singapore* 1984;13:383– 8.
66. Gold EB, Sever LE. Childhood cancers associated with parental occupational exposures. *Occup Med: State of the Art Rev* 1994;9: 495–539
67. Levin A, Miller RK. Fetal toxicity of cadmium in the rat: decreased utero-placental blood flow. *Toxicol Appl Pharmacol* 1981;58:297– 306.
68. Tsuchiya H, Shima S, Kurita H, Ito T, Kato Y, Tachikawa S. Effects of maternal exposure to six heavy metals on fetal development. *Bull Environ Contam Toxicol* 1987;38:580–87.
69. Laskey JW, Rehnberg GL, Hein JF, Carter SD. Effects of chronic manganese (Mn³⁰⁴) exposure on selected reproductive parameters in rats. *J Toxicol Environ Health* 1982;8:677– 87.

70. Aschengrau A, Ozonoff K, Paulu C, Coogan P, Vezina R, Heeren T, et al. Cancer risk and tetrachloroethene-contaminated drinking water in Massachusetts. *Arch Environ Health* 1993;48:284–92.
71. Ahlborg G. Pregnancy outcome among women working in laundries and dry cleaning shops using tetrachlorethylene. *Am J Ind Med* 1990;17:567–75.
72. Donald JM, Hooper K, Hopenhayn-Rich C. Reproductive and developmental toxicity of Toluene: a review. *Environ Health Perspect* 1991;94:237–44.
73. Ungvary G, Tatrai E. Studies on the embryotoxic effects of ortho-meta- and para-xylene. *Toxicology* 1980;18:61–74.
74. Generoso WM, Cain KT, Krishna M, Shen CW, Gryder RM. Heritable translocation and dominant lethal mutation induction with ethylene oxide in mice. *Mutat Res* 1980;129:89–102.
75. Springer LN, Flaws JA, Sipes IG, Hoyer PB. Follicular mechanisms associated with 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced ovotoxicity in rats. *Reprod Toxicology* 1996;10:137–43.
76. Barsotti DA, Abrahamson LJ, Allen JR. Hormonal alterations in female Rhesus monkeys fed a diet containing 2,3,7,8-TCDD. *Bull Environ Contam Toxicol* 1979;21:463–9.
77. Li MH, Hansen LG. Enzyme induction and acute endocrine effects in prepubertal female rats receiving environmental PCB/PCDF/PCDD mixtures. *Environ Health Perspect* 1996;104:712–22.
78. Jacobson JL, Jacobson SW. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *N Engl J Med* 1996;335:783–9.
79. Guzelian PS. Comparative toxicology of chlordecone (kepone) in humans and experimental animals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1982;22:89–113.
80. Mobed K, Gold EB, Schenker MB. Occupational health problems among migrant and seasonal farmworkers. *West J Med* 1992;157:367–73.

81. Rattner BA, Michael SD. Organophosphorous insecticide induced decrease in plasma luteinizing hormone concentration in white-footed mice. *Toxicol Lett* 1985;24:65–9
82. Jensen JA, Goodson WH, Hopf HW, Hunt TK. Cigarette smoking decreases tissue oxygen. *Arch Surg* 1991;126:1131–4.
83. Weisberg E. Smoking and reproductive health *Clin Reprod Fertil.* 1985 Sep;3(3):175-86.
84. Sharara FI, Beatse SN, Leonardi MR, Navot D, Scott RT Jr. Cigarette smoking accelerates the development of diminished ovarian reserve as evidenced by the clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril* 1994;62:257–62.
85. Cooper GS, Baird DD, Hulka BS, Weinberg CR, Savitz DA, Hughes CL. Follicle-stimulating hormone concentrations in relation to active and passive smoking. *Obstet Gynecol* 1995;85:407–11.
86. Shiloh H, Lahav-Baratz S, Koifman M, Ishai D, Bidder D, Weiner-Meganzi Z and Dirnfeld M (2004) The impact of cigarette smoking on zona pellucida thickness of oocytes and embryos prior to transfer into the uterine cavity. *Hum Reprod* 19,157–159.
87. Watanabe T, Shimada T, Endo A. Mutagenic effects of cadmium on mammalian oocyte chromosomes. *Mutat Res* 1979;67:349–56.
88. Alessio Paffoni, Stefania Ferrari, Paola Viganò Vitamin D Deficiency and Infertility: Insights From in vitro Fertilization Cycles *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2014-1802
89. N.Q. Liu, M. Hewison ‘ Vitamin D, the placenta and pregnancy ‘ *Archives of Biochemistry and Biophysics* 523(2012) 37-47
90. Alexandra J Kermack, Philip C Calder, Franchesca D Houghton, A randomised controlled trial of a preconceptional dietary intervention in women undergoing IVF treatment *BMC Womens Health.* 2014; 14: 130
91. Colussi G, Ganon L, Penco S, De Ferrari ME, Ravera F, Chronic hypercalcaemia from inactivating mutations of vitamin D 24-hydroxylase (CYP24A1): implications for mineral metabolism changes in chronic renal failure, *Nephrol Dial Transplant.* 2014 Mar;29(3):636-43

92. Blomberg Jensen M, Nielsen JE, Jørgensen A, Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract Hum Reprod. 2010 May;25(5):1303-11
93. Pearce K, Gleeson K, Tremellen K, Serum anti-Mullerian hormone production is not correlated with seasonal fluctuations of vitamin D status in ovulatory or PCOS women, Hum Reprod. 2015 Sep;30(9):2171-7
94. Polyzos NP, Anckaert E, Guzman LVitamin D deficiency and pregnancy rates in women undergoing single embryo, blastocyst stage, transfer (SET) for IVF/ICSI, Hum Reprod. 2014 Sep;29(9):2032-40
95. Kim JJ, Choi YM, Chae SJVitamin D deficiency in women with polycystic ovary syndrome Clin Exp Reprod Med. 2014 Jun;41(2):80-5
96. Sayegh L, Fuleihan Gel-H, Nassar AHVitamin D in endometriosis: a causative or confounding factor? Metabolism. 2014 Jan;63(1):32-41
97. Cauley JA, Greendale GA, Ruppert K, Serum 25 hydroxyvitamin D, bone mineral density and fracture risk across the menopause, J Clin Endocrinol Metab. 2015 May;100(5):2046-54
98. Zhang ZL¹, Li BY, Shi Y, Tong J, The effects of serum calcium and 1 alpha hydroxylase on the expression of 24-hydroxylase gene, Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. 2006 Aug;22(3):339-42

7.EKLER

7.1 Ham Veriler

GRUP * cyp24a1Allel1WT Crosstabulation

			cyp24a1Allel1WT		Total
			VAR	YOK	
GRUP	primer infertil	Count	29	11	40
		% within GRUP	72,5%	27,5%	100,0%
		% within cyp24a1Allel1WT	52,7%	44,0%	50,0%
		% of Total	36,3%	13,8%	50,0%
	kontrolendo	Count	26	14	40
		% within GRUP	65,0%	35,0%	100,0%
		% within cyp24a1Allel1WT	47,3%	56,0%	50,0%
		% of Total	32,5%	17,5%	50,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,524 ^a	1	,469		
Continuity Correction ^b	,233	1	,630		
Likelihood Ratio	,525	1	,469		
Fisher's Exact Test				,630	,315
Linear-by-Linear Association	,517	1	,472		
McNemar Test				. ^c	
N of Valid Cases	80				

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for GRUP (primer infertil / kontrolendo)	1,420	,549	3,673
For cohort cyp24a1Allel1WT = VAR	1,115	,829	1,501
For cohort cyp24a1Allel1WT = YOK	,786	,407	1,516
N of Valid Cases	80		

P=0,315, $\chi^2 = 0,524$, OR= 1,420 %95CI=0,549-3,673

GRUP * cyp24a1Allel2M Crosstabulation

			cyp24a1Allel2M		Total
			VAR	YOK	
GRUP	primer infertil	Count	30	10	40
		% within GRUP	75,0%	25,0%	100,0%
		% within cyp24a1Allel2M	49,2%	52,6%	50,0%
		% of Total	37,5%	12,5%	50,0%
	kontrolendo	Count	31	9	40
		% within GRUP	77,5%	22,5%	100,0%
		% within cyp24a1Allel2M	50,8%	47,4%	50,0%
		% of Total	38,8%	11,3%	50,0%
Total		Count	61	19	80
		% within GRUP	76,3%	23,8%	100,0%
		% within cyp24a1Allel2M	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	76,3%	23,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,069 ^a	1	,793		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,069	1	,793		
Fisher's Exact Test				1,000	,500
Linear-by-Linear Association	,068	1	,794		
McNemar Test				. ^c	
N of Valid Cases	80				

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for GRUP (primer infertil / kontrolendo)	,871	,311	2,442
For cohort cyp24a1Allel2M = VAR	,968	,758	1,236
For cohort cyp24a1Allel2M = YOK	1,111	,506	2,440
N of Valid Cases	80		

Report

FSH

GRUP	Mean	N	Std. Deviation
primer infertil	6,3504	25	1,93718
Total	6,3504	25	1,93718

Report

Oocyte

GRUP	Mean	N	Std. Deviation
primer infertil	12,9740	25	7,34537
Total	12,9740	25	7,34537

Report

M_Oocyte

GRUP	Mean	N	Std. Deviation
primer infertil	10,8400	25	6,10109
Total	10,8400	25	6,10109

Group Statistics

		cyp24a1Allel1WT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
FSH	VAR		18	6,2239	1,65799	,39079
	YOK		7	6,6757	2,65530	1,00361

Group Statistics

		cyp24a1Allel2M	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
FSH	VAR		17	6,0365	1,93518	,46935
	YOK		8	7,0175	1,88642	,66695

Group Statistics

	cyp24a1Allel2M	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Oocyte	VAR	17	14,0206	7,57139	1,83633
	YOK	8	10,7500	6,75595	2,38859

Group Statistics


	cyp24a1Allel1WT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
FSH	VAR	18	6,2239	1,65799	,39079
	YOK	7	6,6757	2,65530	1,00361

Group Statistics

	cyp24a1Allel2M	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
M_Oocyte	VAR	17	11,5294	6,36512	1,54377
	YOK	8	9,3750	5,60453	1,98150

7.2 Formlar

7.2.1 Biyolojik Materyal Transfer Formu

 <p>YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ</p>	<p>KLİNİK ARAŞTIRMALARDA KULLANILACAK BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU</p>
--	---

Araştırmanın Açık Adı: Cyp24A1 gen polimorfizminin primer infertil hastalar üzerindeki ilişkisinin araştırılması

Araştırmanın Özeti: Günümüzde çiftlerin en büyük sorunlarından biri çocuk sahibi olamamak olup, bunun için tüp bebek tedavisine başvurmaktadırlar. İnfertilite yani kısırılık her iki cinstende kaynaklanacağı gibi, primer ve sekonder olmak üzere iki şekli vardır. Primer infertil yani birincil kısırılık en az 1 yıl doğum kontrol yöntemleri kullanmadan yeterli sıklıkta cinsel ilişkiye girmesine rağmen gebe kalamaması durumudur. Vitamin D'nin doğurganlıkla ilgisi olup, eksikliğinin de gebelikte bazı problemlere yol açtığını gösteren çalışmalar vardır. Vitamin D'nin mekanizmasında rol olan genlerden biri mitokondrial sitokrom P450 familyasından Cyp24A1 dir. Cyp24A1 vitamin D yi parçalar bu nedenle vitamin D eksikliğine bağlı hastahkları tedavi etme sürecinde inhibitör olarak kullanmayı hedefleyen çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan bir çalışmada; Vitamin D yi aktive eden cyp27B1 enzimiyle VDR (vitamin D reseptörü) çıkarılmış ve bunun sonucunda ovaryen büyüklüğünün azaldığı, folikül oluşumunu etkilediği, dolayısıyla kadınlarda fertilitiyi etkilediği gösterilmiştir. Bir başka çalışmada; farklı miktarlarda 25(OH)D seviyelerine sahip tüp bebek tedavisi gören hastalarda vitamin D ile ilgisinin olduğu düşünülerek çalışmalar yapılmış, vitamin D seviyesinin klinik olarak gebe kalma ihtimalini, implantasyonu zorlaştırdığı bulunmuştur. Bu projenin amacı; vitamin D mekanizmasını doğrudan etkileyen cyp24A1 geninin primer infertil hastalardaki ilişkisinin araştırılmasıdır.

İş bu anlaşma ile, biyolojik materyali gönderen araştırmacı ve kurum '**Cyp24a1 gen polimorfizminin primer infertil hastalar üzerindeki ilişkisinin araştırılması**' isimli araştırmada kullanılmak üzere gönderilecek **10 ml** miktarda ve **araştırma** amaçla kullanılacak biyolojik materyali **26 Ağustos Yerleşimi Yeditepe Üniversitesi, Kayışdağı /İstanbul** adresindeki **Yeditepe Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilim Dalındaki** merkeze göndermeden önce ALICI kurumdan aşağıdaki koşulları kabul etmesi istenmektedir;

1. Gönderilen biyolojik materyaller yalnızca yukarıda yazılı amaç için, ya da gönderici kurumun yeniden yazılı izni almak koşulu ile ikincil amaç için kullanılabilir.
2. ALICI biyolojik materyali gönderici kurumun yazılı izni olmadan üçüncü şahıslara vermeyecektir. ALICI üçüncü şahıslardan gelebilecek istekleri GÖNDERİCİ'ye bildirecektir.
3. Biyolojik materyaller GÖNDERİCİ tarafından bireyin kimlik bilgileri olmaksızın ALICI'ya gönderilecektir.
4. ALICI biyolojik materyalleri Birleşmiş Milletler İnsan Genomu ve İnsan Hakları Evrensel Beyannamesine uygun olarak kullanacaktır.

5. Biyolojik materyaller ALICI'ya gönderilmeden önce biyolojik materyalin sağlandığı kişilere ait Sağlık Bakanlığı'nın ve Etik Kurul'un onayladığı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun her bir gönüllüden alınmış olması gerekmektedir.
6. Bu anlaşma ile gönderilecek biyolojik materyalin araştırma için kullanılacak olduğu ve biyolojik materyal kullanımının bazı tehlikeli özelliklerinin var olduğu ALICI tarafından kabul edilmektedir. Biyolojik materyali sağlayan kurum bu konuda sorumlu değildir.
7. GÖNDERİCİ ve ALICI yapılacak ortak bir yayınla ya da doğabilecek patent hakkı ve ticari gelişmelerle ilgili haklarını araştırma başlangıcında karşılıklı olarak belirleyecektir.
8. Bu anlaşma aşağıdaki iki maddeden herhangi birinin gerçekleşmesi halinde son bulacaktır.
 - a. Araştırmanın sonlanması durumunda,
 - b. Taraflardan herhangi birinin diğerine gönderdiği yazılı uyarıyı takiben 30 (otuz) gün içinde Anlaşma kurallarına uymama; patent haklarının ihlali veya sağlık tehdidi oluşturan riskler dışında bu anlaşma 8 (b) koşulunda materyali sağlayan tarafın yazılı uyarısı ile bitirilecek olursa ALICI'nın araştırmasının engellenmemesi için ve ALICI'nın isteği üzerine materyali sağlayan araştırmacı 1 (bir) yıla kadar varan bir süre içinde anlaşmanın sonlanacağı bir tarih belirleyebilir.
9. ALICI bu anlaşmanın bitiminde bütün materyalleri geri vermeyi veya ortadan kaldırmayı ve bunu belgelemeyi kabul eder.
10. GÖNDERİCİ biyolojik materyali toplama, hazırlama ve göndermek için bir ücret talep ediyorsa bu ücret burada belirtilecektir.
11. Bu anlaşmanın yürümesinde ALICI ve GÖNDERİCİ kurum amirleri ile destekleyici sorumludur. Anlaşmazlık halinde ihtilafın çözümü için her iki ülke mahkemeleri de yetkilidir.

BİYOLOJİK MATERYALİ GÖNDEREN ARAŞTIRMACI BİLGİSİ

Adı Soyadı ve Unvanı:	Doç.Dr Rukset Attar
Uzmanlık Alanı:	Kadın Doğum
Kurumu:	Üniversite
Adresi:	Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Kozyatağı /İstanbul
Telefon:	0537 840 19 00
Faks:	
E-posta:	rattar@yeditepe.edu.tr

BİYOLOJİK MATERYALİ ALAN ALICI BİLGİSİ

Adı Soyadı ve Unvanı:	Genetik ve Biomühendis Melis Doğanatan
Uzmanlık Alanı:	Genetik ve Biomühendislik
Kurumu:	



KLİNİK ARAŞTIRMALARDA KULLANILACAK BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU


Adresi:	Yeditepe Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilim Dalı Kayışcağı/İstanbul
Telefon:	0 533 773 21 83
Faks:	
E-posta:	mal'sdogantan@hotmail.com

Bu anlaşmada belirtilen koşulları okudum ve anladım. Gönderilen materyalde bu anlaşmada belirtilen koşullara uyacağımı taahhüt ederim.

	Gönderen Araştırmacı	Gönderen Destekleyici Firma Yetkilisi veya Yasal Temsilcisi	Klinik Şefi / Ana Bilim Dalı Başkanı	Kurum Amir / Rektör veya Yetkilendirdiği Makam	Alıcı Kurum Yetkilisi
El Yazısı ile Adı Soyadı Unvanı	Doç. Dr. Ruşen Natar				
Tarih					
İmza					

Not: Bu anlaşmada yer alan alıcı kurum yetkilisinin imzası yerine alıcı kurum tarafından verilecek olan ve içerik olarak bu anlaşmadaki hükümlere benzer hükümleri içeren imzalı "end use certificate" "son kullanım sertifikası" da kabul edilir.

7.2.2 Gönüllü Olur Formu

 <p>YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ</p>	<p>Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu</p>
--	--

<p>Hastanın veya yerine onam verecek kişinin okuma, anlama, konuşma, dil sorunu mevcut mu? Evet <input type="checkbox"/> Hayır <input type="checkbox"/> Cevabınız EVET ise Hasta ilişkileri Sorumlusu ile iletişim kurunuz.</p>	<p>Tercüman gerektyse; Tercümanın adı _____ İmza _____ Tarih _____</p>
--	---

Sayın Hastamız,

- Bu belge bilgilendirilme ve aydınlatılmış onam haklarınızdan yararlanabilmenizi amaçlamaktadır.
- Size gerçekleştirilebilecek klinik araştırmalar amaçlı girişimler konusunda, tüm seçenekler ile bu girişimlerin yarar ve muhtemel zararları konusunda anlayabileceğiniz şekilde **bilgi alma hakkınız ve bir kopyasını isteme hakkınız vardır.**
- Yasal ve tıbbi zorunluluk taşıyan durumlar dışında **bilgilendirmeyi reddedebilirsiniz.** Yazılı bildirmek koşulu ile bilgi almama veya yerinize güvendiğiniz bir kimsenin bilgilendirilmesini talep etme hakkına sahipsiniz.
- klinik araştırmalara katılım konusunda bilgilendirildikten sonra bunu kabul edebilirsiniz. Ya da **karar verebilmek için uygun zaman talep edebilirsiniz.**
- Hayatınız veya hayati organlarınız tehlikede olmadığı sürece onamınızı (yazılı talep etme koşulu ile) **dilediğiniz zaman geri alabilir** ya da önceden kabul etmediğiniz herhangi bir tanı/tedavi amaçlı girişimi **tekrar talep edebilirsiniz.**
- Hastanemizde verilen hizmetleri **Hastane Tanıtım Broşüründen** edinebilirsiniz. Ayrıca Hastanemiz personeli hakkında <http://www.yeditepehastanesi.com.tr/> web sayfamızdan daha detaylı bilgilere ulaşabilirsiniz.
- Burada belirtilenlerden başka sorularınız varsa bunları yanıtlamak görevimizdir.



Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

TANIMLAMA

Araştırmanın Adı / Protokol numarası

Cyp24A1 gen polimorfiziminin primer infertil hastalar üzerindeki etkisinin araştırılması

Araştırma Konusu

Vitamin D'nin doğurganlıkla ilgisi olup, eksikliğinin de gebelikte bazı problemlere yol açtığını gösteren çalışmalar da olduğundan ,bu projede vitamin D mekanizmasını doğrudan etkileyen cyp24A1 geninin primer infertil hastalardaki ilişkisi araştırılacaktır.

Araştırmaya Katılımcı Sayısı

100

Bu araştırmanın

Amacı

Vitamin D'nin mekanizmasında rol olan genlerden biri mitokondrial sitokrom P450 familyasından Cyp24A1 dir.Cyp24A1 vitamin D yi parçalar bu nedenle vitamin D eksikliğine bağlı hastalıkları tedavi etme sürecinde inhibitör olarak kullanmayı hedefleyen çalışmalar yapılmaktadır. Vitamin D'nin doğurganlıkla ilgisi olup, eksikliğinin de gebelikte bazı problemlere yol açtığını gösteren çalışmalar da olduğundan ,bu projede vitamin D mekanizmasını doğrudan etkileyen cyp24A1 geninin primer infertil hastalardaki ilişkisine bakılması hedeflenmektedir.

Süresi

1 yıl

İzlenecek Yöntem / Yöntemler

Kandan Genomik DNA Elde Edilme Protokolü

Gönüllü hastalardan DNA izolasyonu için EDTA'lı tüplere alınan yaklaşık 5ml'lik periferik kan toplanacaktır.Toplanan kanlar iPrep DNA izolasyon robotu kullanılarak DNA eldesi sağlanacaktır. Elde edilen DNA lar çalışma süresince +4 derece buzdolabında saklanacaktır.

DNA Düzeylerinin Belirlenmesi

Elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonlarının ve saflıklarının belirlenmesi için Thermo Fischer Scientific Nano2000 NanoDrop spektrofotometre kullanılacaktır.

Gerçek Zamanlı PZR Yöntemi ile Genotipleme

Genotipleme gerçek zamanlı PZR ile allelik diskriminasyon yöntemi kullanılarak yapılacaktır. CYP24A1 için ise rs:2248137 primer prob seti kullanılacaktır.

İstatiksel Analiz

Genotipleme sonucunda elde edilen veriler istatistiksel analiz için SPSS 21.0 programı ile değerlendirilecektir. Genotip ve allelerin hasta populasyonunda görölme sıklıklarının değerlendirilmesinde Ki-kare veya Fisher's Exact test kullanılacaktır. Risk olarak gözlemlenen parametrelerin etkileri lojistik regresyon analizi ile değerlendirilecektir.

Araştırma Sonunda Beklenen Fayda

Yapılan bazı çalışmalar sonucunda vitamin D nin fertilité üzerinde etkisi olduğu düşünöldüğünden ,Vitamin D mekanizmasından yer alan Cyp24A1 geninin primer infertil hastalar üzerindeki ilişkiyi araştırılacaktır.Bu projedeki amaç,tüp bebek tedavisi gören bu hastalar için yeni çözümler geliştirebilmektir.

Alternatif Tedavi Veya Girişimler

Araştırma Sırasında Karşılaşılabilecek;

<i>Riskleri</i>	<i>Rahatsızlıklar</i>
a)	a)
b)	b)
c)	c)
d)	d)
e)	e)
f)	f)
g)	g)

Risk / rahatsızlık durumlarında yapılması gerekenler

Aşağıdaki özel durumlara ait katılımcı var mı?

	EVET*	HAYIR
Çocuk		X
Mahkum		X
Gebe		X
Mental yetersizlik		X
Sosyoekonomik eğitim olarak yetersiz		X

*Ancak çocuklarda, hamilelik, lohusalık ve emzirme dönemlerinde ve kısıtlılık durumunda; gönüllüler yönünden araştırmadan doğrudan fayda sağlanacağı umuluyor ve araştırma gönüllü sağlığı açısından



Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

öngörülebilir ciddi bir risk taşıyor ise, usulüne uygun bir şekilde alınmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile birlikte ilgili etik kurulun onayı ve Bakanlık izni alınmak suretiyle araştırmaya izin verilebilir.

ONAM (RIZA)

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu durumda hastanenin çalışma düzeni ve hastalara verilen bakımda aksaklık olmayacağı konusunda bilgilendirildim. Bu araştırmaya katılırken zorlama, maddi çıkar ve ast üst ilişkisine dayalı herhangi bir baskı olmaksızın bu çalışmaya katıldığımı beyan ederim. Bu bilimsel çalışmanın devamı esnasındaki süreçle ilgili olarak ayrıca eklenen çalışma protokolü ile bilgilendirildim.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

24 Saat ulaşılabilir iletişim bilgileri

Melis Doğan

0533 773 21 83

Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu asgari olarak yukarıda belirtilen başlıkları içermelidir.

7.3.Etik Kurul Kararı



Sayı : 37068608-6100-15-1043
Konu: Etik kurul Başvurusu hk.

22 / 04 / 2015

İlgili Makama (Sayın Melis Doğantan)

Yeditepe Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilim Dalı Melis Doğantan'ın sorumlu olduğu "Cyp24a1 gen polimorfizminin primer infertil hastalar üzerindeki ilişkinin araştırılması" isimli araştırma projesine ait KAЕК Başvuru Dosyası (T.C. Kayıt sayılı KAЕК Başvuru Dosyası), Yeditepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 22-04 2015 tarihli toplantıda incelenmiştir.

Kurul tarafından yapılan inceleme sonucu, çalışmanın yapılmasında etik ve bilimsel açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir (Karar No: 57/481).

Bilginizi ve gereğini saygılarımla arz ederim.

Prof. Dr. Turgay ÇELİK
Yeditepe Üniversitesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

8. ÖZGEÇMİŞ

Ad:	Melis
Sovad:	Dogantan
Doğum Yeri:	Gaziantep
Doğum Tarihi:	08.04.1988
Görev Yeri:	-
Yabancı Dil:	İngilizce
E-Posta Adresi	melisdogantan@hotmail.com

Tarih	Eğitim
2002-2006	Lise, Iskenderun Demir Çelik Anadolu Lisesi
2006-2011	Lisans, Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biomühendislik Bölümü
Varsa, İyi Klinik Uygulamalar Kapsamında Aldığı Eğitimler.	
	-
Akademik Ünvanları	
	Genetik ve Biomühendis
İş Tecrübesi	
	-
Varsa, Araştırmacı Olarak Katıldığı Klinik Araştırmalar	
	-

HİMM01090900