

T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İNTRASİTOPLAZMİK SPERM ENJEKSİYONU
UYGULAMALARINA GİREN AÇIKLANAMAYAN
KISIRLIK TEŞHİSİ KONAN HASTALARDA,
YUMURTALIK KAPASİTESİNİN VE YUMURTA
KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE YENİ
BİR BELİRTEÇ OLARAK SERUM MİDKİN
PROTEİN DÜZEYLERİNİN ANTI-MÜLLERIAN
HORMON DÜZEYLERİ İLE BİRLİKTE
ARAŞTIRILMASI

Mine ERGÜVEN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülay İrez

İSTANBUL

2019



T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İNTRASİTOPLAZMİK SPERM ENJEKSİYONU
UYGULAMALARINA GİREN AÇIKLANAMAYAN
KISIRLIK TEŞHİSİ KONAN HASTALARDA,
YUMURTALIK KAPASİTESİNİN VE YUMURTA
KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE YENİ
BİR BELİRTEÇ OLARAK SERUM MİDKİN
PROTEİN DÜZEYLERİNİN ANTI-MÜLLERIAN
HORMON DÜZEYLERİ İLE BİRLİKTE
ARAŞTIRILMASI

Mine ERGÜVEN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülay İrez

İSTANBUL

2019

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Program Adı: Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Öğrencinin Adı Soyadı: Mine ERGÜVEN

Danışman: Prof. Dr. Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Mine ERGÜVEN tarafından hazırlanan "İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu Uygulamalarına Giren Açıklanamayan Kısırlık Teşhisi Konan Hastalarda, Yumurtalık Kapasitesinin Ve Yumurta Kalitesinin Değerlendirilmesinde Yeni Bir Belirteç Olarak Serum Midkin Protein Düzeylerinin Anti-Müllerian Hormon Düzeyleri İle Birlikte Araştırılması" adlı tez çalışması jüri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:28/06/2019

(Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı, Soyadı ve Kurumu)

İmza

Prof. Dr Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi

Doç. Dr. Meriç KARACAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Prof. Dr. Zeliha YAZICI

Biruni Üniversitesi

Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca bu tez jüri tarafından onaylanmış ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Leman ŞENTURAN
Sağlık Bilimleri Enstitü 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 çalışmasıyla 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 olmadığını beyan ederim.



Mine ERGÜVEN

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgi, deneyim ve önerileri ile bana yol gösteren, tez çalışmamın laboratuvar aşamalarını gerçekleştirme imkanı tanıyan, sevgisini ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen, beni her konuda destekleyen Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi tez danışmanım Sayın **Prof. Dr. Tülay İrez'e**, tüm hayatım boyunca sevgi, ilgi ve büyük sabrı ile her koşulda yanımda olup beni manevi olarak destekleyen canım annem Sayın **Ayşe Karakaş'a** çok teşekkür ederim.

Tezimi hayatta olmayan, yokluklarını çok derinden hissettiğim, şu anki konumumda olmamı sağlayan dedem Sayın **Hasan Karakaş'a** ve anneannem Sayın **Muzaffer Karakaş'a** ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SİMGE / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET.....	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Yumurtalık Kapasitesi	8
2.2. Fertilite, İnfertilite ve Sterilite.....	9
2.3. Yumurtalık Kapasitesi Belirteçleri ve Testleri	10
2.3.1. Anti-Müllerian hormon.....	11
2.3.1.1. Anti-Müllerian hormonun etki mekanizması	14
2.3.1.2. Duyarlılık ve özgüllük.....	15
2.3.1.3. Kısıtlamalar	17
2.3.1.4. Yaşa özel Anti-Müllerian hormon değerleri	17
2.3.1.5. Anti-Müllerian hormon sonuçlarını etkileyen faktörler.....	18
2.4. Kadın İnfertilitesini Etkileyen Faktörler	20
2.4.1. Prematüre ovaryan yetmezlik.....	20
2.4.2. Polikistik over sendromu	20
2.4.3. Endometriozis	21
2.4.4. Rahim fibroidleri.....	21
2.4.5. Endometriyal polipler.....	22
2.4.6. Açıklanamayan kadın infertilitesi	22
2.5. Midkin	24
2.5.1. Midkin geni.....	24
2.5.2. Midkin proteini	25
2.5.3. Midkin sinyal yolağı	31

2.5.4. Midkinin metabolizmada önemli biyolojik görevleri.....	39
2.5.4.1 Midkinin gelişim ve üremedeki rolü	39
2.5.4.2 Midkinin onarım ve inflamasyondaki rolü.....	43
2.5.4.3 Midkinin çeşitli hastalıklardaki rolü	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Çalışmada Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar.....	47
3.2. Çalışma Türü ve Etik Kurul Onayı.....	50
3.3. Hasta Profili.....	51
3.3.1. Erkek faktöründe dahil etme ve dışlama kriterleri.....	51
3.3.2. Polikistik over sendromunda dahil etme ve dışlama kriterleri	52
3.3.3. Açıklanamayan kadın infertilisinde dahil etme ve dışlama kriterleri	52
3.4. Hasta Örnekleri ve Ana Sonuç Ölçütleri.....	53
3.4.1. Kandan serum eldesi.....	53
3.4.2. Kümülus hücresi ve folikül sıvısı eldesi.....	54
3.5. Metodlar	55
3.5.1. Akım sitometri ile analiz.....	55
3.5.2. Geçirimli elektron mikroskobu ile analiz	56
3.5.3. Elektrokemilüminisans immünotest ile analiz.....	56
3.5.3.1. Anti-Müllerian hormon seviyelerinin değerlendirilmesi	56
3.5.3.2. Folikül uyarıcı hormon seviyelerinin değerlendirilmesi	57
3.5.3.3. Lüteinizan hormon seviyelerinin değerlendirilmesi	57
3.5.3.4. Östradiol seviyelerinin değerlendirilmesi	57
3.5.3.5. Tiroid uyarıcı hormon seviyelerinin değerlendirilmesi.....	58
3.5.3.6. Prolaktin seviyelerinin değerlendirilmesi	58
3.5.3.7. İnsan koryonik gonadotropin beta seviyelerinin değerlendirilmesi	59
3.5.4. Enzim bağlantılı immünosorbent test ile analiz.....	59
3.5.4.1. İnhibin B seviyelerinin değerlendirilmesi	59
3.5.4.2. Midkin seviyelerinin değerlendirilmesi.....	60
3.5.4.2.1. Örneklerin total protein seviyelerinin belirlenmesi.....	60
3.5.4.2.2. Midkin ELİZA.....	60
3.6. Oositin değerlendirilmesi	61
3.7. Fertilizasyon ve embriyo kalitesinin değerlendirilmesi	61
3.8. İstatistiksel Değerlendirme.....	62

4.	BULGULAR	63
4.1.	Çalışmaya Katılan Hasta Bilgileri	63
4.2.	Kümülus Analiz Bulguları.....	65
4.3.	Serum ve Folikül Sıvısı Hormon ve Protein Analiz Bulguları.....	67
4.4.	Ultrastrüktür Analiz Bulguları.....	71
4.4.1.	35 yaş ve altı, gebe deneklerin kümulus hücrelerinin ultrastrüktürel analiz bulguları..	71
4.4.2.	35 yaş üstü, gebe olmayan deneklerin kümulus hücrelerinin ultrastrüktürel analiz bulguları	72
5.	TARTIŞMA	74
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	85
7.	KAYNAKÇA	86
8.	EKLER.....	95
8.1.	İntihal Raporu.....	95
8.2.	Etik Kurul Kararı	98
9.ÖZGEÇMİŞ.....		99
9.1.	Özgeçmiş.....	99
9.2.	Eserler Listesi.....	111

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. AMH'ya etki eden faktörler.....	18
Tablo 2. Çalışmada kullanılan malzemeler.....	47
Tablo 3. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	49
Tablo 4. Çalışmaya katılan hasta bilgileri.....	63
Tablo 5. Kümülus analiz bulguları.....	66
Tablo 6. Serum ve folikül sıvısı hormon ve protein analiz bulguları	67
Tablo 7. AMH ve MK düzeylerinin gebelik pozitiflik ve negatifliğe göre analizi.	69
Tablo 8. AMH ve MK düzeylerinin gebelik negatif bireylerde yaşa göre analizi..	70

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Cinsiyet farklılaşması.	12
Şekil 2. Folikül gelişiminin sistematik modeli.....	13
Şekil 3. Overde AMH'nın etkilerinin sistematik gösterimi	14
Şekil 4. AMH etki mekanizmasının şematik gösterimi	15
Şekil 5. MK ve PTN genlerinin yapısı	24
Şekil 6. MK domenlerinin yapısal organizasyonunun üç boyutlu gösterimi	27
Şekil 7. MK-reseptör komplekslerinin şematik gösterimi	33
Şekil 8. Oositin gelişim kapasitesinin artırılması ile sonuçlanan MK-reseptör aktivitesinin şematik modeli.	41
Şekil 9. Dört kuyucuklu kültür kabında hiyaz işleminin şematik gösterimi.	54
Şekil 10. Kültüre edilmiş kümülus hücreleri	55
Şekil 11. Oosit sınıflandırılmasının şematik gösterimi.....	61
Şekil 12. Fertilizasyon değerlendirilmesinin şematik gösterimi	62
Şekil 13. Akım sitometri analiz sonuçları histogramları.....	65
Şekil 14. Kümülus hücrelerinin geçirimli elektron mikrograf değerlendirmeleri.....	73

SİMGE / KISALTMALAR LİSTESİ

- ac** Apoptotik cisim
- AFS** Antral folikül sayısı
- AKİ** Açıklanamayan kadın infertilitesi
- Akt** Protein kinaz B
- ALK** Anaplastik lenfoma kinaz
- α** Alfa
- AO** Oligomenore veya amenore
- AMH** Anti-Müllerian hormon
- AMHRII** AMH reseptör II
- Anneksin-V-FITC/PI** Anneksin-V-fluoresan isotiyosiyanat/propidyum iodid
- ANOVA** Tek yönlü varyans analizi
- Bcl-2** B-hücresi lenfoma 2
- bFGF** Bazik fibroblast büyüme faktörü
- β** Beta
- BKİ** Beden kitle indeksi
- CC** Cumulus cell
- CCCT** Klomifen sitrat testi
- Cys** Sistein
- DMEM** Dulbecco'nun modifiye edilmiş Eagle medyumu
- DOR** Azalmış over kapasitesi
- E2** Östradiol 2
- EF** Erkek faktör
- EKLİA** Elektrokemilüminisans immünotest
- ELİZA** Enzim bağlantılı immünosorbent test
- ER** Östrojen reseptörleri
- FF** Follicular fluid
- FS** Folikül sıvısı
- FSH** Folikül uyarıcı hormon
- GH** Granuloza hücreleri
- GLY** Glikodelin
- GnRH** Gonadotropin salgılatıcı hormon

GV Germinal vezikül
ha Hücre artığı
HA Hiperandrojenizm
HCG β İnsan koryonik gonadotropin beta
HEPES 4- (2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit tımponu
HIF1 Hipoksi ile indüklenelir faktör 1
HRE Hipoksi ile düzenlenen element
ICSI İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
IGFBP-1 İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 1
IL İnterlökin
İNH B İnhibin B
İR İnsülin rezistansı
IU İnternasyonel ünite
IRMA İmmünoradyometrik test
IVF In vitro fertilizasyon
KATF Kompleman aktivite toksik faktörü
KH Kümüulus hücreleri
LH Luteinizan hormon
LIF Lösemi inhibe edici faktör
LRP Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein
MAPK Mitojenle aktive olan protein kinaz
MCP-1 Monosit kemotaktik protein-1
MDK İnsan MK geni
MI 1. Mayotik metafaz
mi Mitokondri
MİTS Modifiye İnsan Tubal Sıvısı
MII 2. Mayotik metafaz
MK Midkin
MK Midkine
 μ Mikro
 μ l Mikrolitre
ml Mililitre
n Nükleus

NF-κB Nükleer faktör-kappa B
OHSS Yumurtalık hiperstimülasyon sendromu
OPU Yumurta toplama
OKH Oral kontraseptif haplar
ov Otofajik vakuol
PCOS Polycystic ovary syndrome
PEG Polietilen glikol
PGH Primordiyal germ hücreleri
PI3K Fosfoinositol-3-kinaz
PKOS Polikistik over sendromu
POY Prematüre ovaryan yetmezlik
PRL Prolaktin
PTH Pleiotrofin
PTP Protein tirozin fosfataz
RANTES Aktivasyon ile regüle olan eksprese ve sekrete edilen normal T hücresi
RIA Radyoimmün test
ROT Reaktif oksijen türleri
S Serum
SD Standart sapma
SHP Src homoloji bölgesi 2 domeni içeren fosfataz
SNP Tek nükleotid polimorfizmi
Syk Spleen tyrosine kinase
TEM Geçirimli elektron mikroskopu
T Testosteron
TGF-β Transforme edici büyüme faktörü beta
TNFα Tümör nekroz edici faktör alfa
TOS Toplam oksidatif durum
TRAIL TNF ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand
TrkB Tropomiyozin reseptör kinaz B
UFI Unexplained female infertility
VEGF Vaskular endotelyal büyüme faktörü
YÜT Yardımla üreme teknolojisi
yd Yağ damlacığı
ζ Zeta

ÖZET

Çalışmanın amacı, açıklanamayan kadın infertilite (AKİ) olgularında sitokin görevi olan büyüme faktörü midkin (MK) proteininin, tanı ve tedavide yeni bir belirteç olup olamayacağını araştırılmasıdır.

Bu çalışmada, ICSI işlemi için kayıt olmuş erkek faktörü (EF; N:90), AKİ (N:90) ve polikistik over sendromu (PKOS; N:90) tanısı konmuş 20-45 yaş aralığındaki hastaların serum, folikül sıvıları (FS'ları) ve kümulus hücreleri (KH'leri) kullanıldı. Hastaların yaş, BKİ, endometrium kalınlığı, AFS, oosit sayısı, GV ve MI-MII oosit sayısı, fertilize oosit sayısı, fertilizasyon yüzdesi, embriyo sayısı, iyi kalite embriyo sayısı ve gebelik yüzdesi değerlendirildi. Hastaların menstrual sikluslarının 3. gününde kanlarından izole edilen serumlarında FSH, LH, E2, PRL, TSH ve Anti-Müllerian hormon (AMH; EKLİA), İNH B (ELİZA) hormonları ile MK (ELİZA) seviyeleri araştırıldı. Yumurta toplanması esnasında hastaların KH'leri ve FS'ları izole edildi. KH'lerinde, proliferasyon ve canlılık-apoptotik indeks oranları (Akım sitometri) ile ultrastrüktürel analizler, FS'larında ise AMH (EKLİA) ve MK (ELİZA) seviyeleri değerlendirildi. İki grubun ve ikiden fazla grubun karşılaştırılması sırasıyla Student-T-test ve ANOVA testi kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar, ortalama±SD olarak gösterildi. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

En düşük ve en yüksek KH sayısı, sırasıyla AKİ ve PKOS'da bulundu ($p < 0.05$). En yüksek apoptoz oranına sahip olmakla birlikte en düşük canlılık oranı PKOS'da belirlendi ($p < 0.05$). En yüksek canlılık oranını, en düşük apoptoz oranı ile birlikte EF'de değerlendirildi ($p < 0.05$).

Yapılan ultrastrüktür değerlendirmesinde, PKOS'da yaygın otofajik vakuoller ve EF ile AKİ'de ise yaygın lipit damlacıkları olduğunu ortaya koydu. PKOS'da apoptotik görümlü KH'ler yaygın olarak görüldü. PKOS'da en yüksek AMH ve MK seviyeleri (S, FS'ları) bulundu, ancak bunların en düşük seviyeleri AKİ'de tespit edildi ($p < 0.05$). AKİ'de bulunan AMH ve MK seviyeleri, EF'deki seviyeler ile benzer olarak değerlendirildi ($p > 0.05$).

Bu çalışmada, ilk defa MK proteininin AKİ olgularının tanı ve tedavisinde yeni bir belirteç olarak kabul edilemeyeceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Açıklanamayan kadın infertilitesi, midkin, Anti-Müllerian hormon, polikistik over sendromu, kümülus hücresi.

ABSTRACT

The Investigation Of Serum Midkine Protein Levels With Anti-Müllerian Hormone Levels For The Evaluation Of Ovarian Reserve And Oocyte Quality As A New Marker In Patients Diagnosed Unexplained Infertility Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection.

This study aimed to investigate whether growth factor midkine (MK) protein with a cytokine function can be a new marker in the diagnosis and the treatment of unexplained female infertility (UFI) cases.

In this study, serum and follicle fluids (FFs) and cumulus cells (CCs) of the patients aged 20-45 years who were diagnosed with male factor (MF, N:90), UFI (N:90) and polycystic ovary syndrome (PCOS, N:90) undergoing ICSI procedure were used. Age, BMI, endometrial thickness, AFS, oocyte number, GV and MI- MII oocyte number, fertilized oocyte number, fertilization rate, embryo number, good quality embryo number and pregnancy rate were evaluated. FSH, LH, E2, PRL, TSH, and AMH (Anti-Müllerian hormone; ECLIA), INH B (ELISA) hormones with MK (ELISA) levels were investigated at the serums isolated from the blood of patients taken on the 3rd day of their menstrual cycles. During oocyte pick-up, CCs and FFs of the patients were isolated. Proliferation with viability-apoptotic index rates (Flow cytometry) and ultrastructural analyzes at CCs, AMH (ECLIA) and MK (ELISA) levels at FFs was evaluated. The comparison of the two groups and more than two groups were performed using Student-T-test and ANOVA test, respectively. Results were shown as means \pm (SD). $p < 0.05$ was considered statistically significant.

The lowest and highest numbers of CCs were found at UFI and PCOS, respectively ($p < 0.05$). The lowest viability rate with the highest apoptosis rate was determined at PCOS ($p < 0.05$). The lowest apoptosis rate with the highest viability rate was evaluated at MF ($p < 0.05$).

The ultrastructural evaluation revealed that there were widespread autophagic vacuoles at PCOS and lipid droplets at UFI with MF. CCs with apoptotic appearance was frequently detected at PCOS. Highest AMH and MK levels (S, FFs) were found

at PCOS; however, the lowest levels of them were detected at UFI ($p < 0.05$). AMH and MK levels found at UFI were evaluated similarly to MFs' levels ($p > 0.05$).

In this study, it was concluded for the first time that MK protein cannot be accepted as a new marker in the diagnosis and treatment of UFI.

Key words: Unexplained female infertility, midkine, Anti-Müllerian hormone, polycystic ovary syndrome, cumulus cell.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Anti-Müllerian hormon (AMH) 140 kDa ağırlığında, disülfid-bağlı homodimerik glikoprotein yapıda, transforme edici büyüme faktörü beta büyüme ve farklılaşma faktörleri super ailesinin bir üyesi olan gonadal bir hormondur (Dewailly et al., 2014).

Yumurtalıklarda 8 mm boyutuna kadar olan antral foliküllerin (Pre-antral ve küçük antral foliküller) granuloza hücreleri tarafından salınarak primordiyal foliküllerin gelişmesini engeller böylece yumurtalık rezervinin korunmasında görev alır. Yumurtalıklardan salınmasının yanı sıra gonadotropinlerden etkilenmemesi, menstrual döngülerde ve bu döngüler arasında seviyelerinin çok az değişmesi/değişmemesi nedeniyle yumurtalık rezervlerinin değerlendirilmesinde inhibin, östradiol gibi belirteçlerin önüne geçerek klinikte en güvenilir belirteç olarak kabul edilmiş ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Dewailly et al., 2014; Garg et al., 2016). Polikistik over sendromunun (PKOS), zayıf yumurtalık yanıtının görüldüğü yaygın kadın hastalıklarında seviyelerindeki değişikliklerle kesin tanıda yardımcı olduğu da görülmüştür (Garg et al., 2016; Cohen et al., 2014).

Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bireylerarası ve/veya birey içi AMH seviyelerinde saptanan değişiklikler AMH'nın yumurtalık rezervini belirlemede güvenilirliğinin sorgulanmasına neden olmuştur (Broer et al., 2014). Bu çalışmalarda, AMH seviyelerinin 1) Biyolojik varyasyona bağlı (Antral folikül sayısı, özellikle genç kadınlarda menstrual siklusda), 2) Etnik gruba bağlı, 3) Fazla kiloya bağlı, 4) Vitamin D seviyelerine bağlı, 5) AMH reseptörü ve AMH polimorfizmlerinde, 6) Genetik varyantlarda, 7) Sigara kullanımına bağlı, 8) Hamilelikte, 9) Doğum kontrol hapı kullanımına bağlı, 10) Farklı AMH saptama testlerinin kullanımında değiştiğini göstermiştir (Broer et al., 2014). Ayrıca AMH'nın yumurta kalitesini gösterememesi de belirtecin yararlılık derecesinde azalma olarak görülmektedir.

Midkin (MK) organizmada büyüme, yaşam, onarım, göç ve çoğalmada görev alan, embriyogenezde mid-gestasyon evresinde yüksek düzeylerde salınırken sonra azalarak yetişkinde ancak sınırlı bölgelerde düşük seviyelerde saptanabilen, 13 kDa ağırlığında, pleiotrofin/heparine bağlanan büyüme bağlantılı molekül ailesi üyesi

olan, sitokin görevi de tanımlanmış bir büyüme faktörüdür (Jones, 2014; Muramatsu, 2014). MK geninin çıkartılması ya da susturulması ile kanserin, immünite ve kan basıncı ilişkili hastalıkların tedavisinde veya MK'nin kendisinin tedavi aracı olarak kullanılması ile yanık, doku ve organ hasarı gibi doku korunması/yenilenmesi/onarımını gerektiren durumlarda başarılı sonuçlar vermektedir (Jones, 2014; Muramatsu, 2014).

Üreme sağlığında MK ile yapılan kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu yapılan in vitro, in vivo ve klinik çalışmalarda MK'nin büyük foliküllerin teka ve granuloza hücrelerinden salgılandığı, büyüyen foliküllerde granuloza hücrelerinin çoğalmasını ve östradiol salınımını teşvik ettiği, FSH kontrolü dışında granuloza hücrelerinin MK ekspresyonu yaptığı, MK'nin primordiyal germ hücrelerinde mitotik yolakların aktivitesini artırarak onları çoğalmaya teşvik ettiği ve ayrıca onların farklılaşmalarını da engellediği, MK ve pleiotrofin (PTH) genlerindeki bozukluğun olgun folikül sayısını azaltarak östrus evresini azalttığı ve vajinal bozukluğa neden olduğu gösterilmiştir (Shen et al.,2012; Hirota et al., 2007; Minegishi et al.,1996; Muramatsu et al.,2006). MK'nin aynı AMH'da olduğu gibi vitamin D seviyelerinden etkilendiği gösterilmiştir (Serinkan ve ark.,2016). MK'nin bir immunomodülatör olan vitamin D eksikliğinde belirgin olarak arttığı saptanmıştır (Serinkan ve ark., 2016).

Açıklanamayan kadın infertilitesi (AKİ), normal veya düşük yumurtalık kapasitesine, sağlıklı yumurtalıklara sahip olmasına, düzenli adet döngülerine sahip bir kadının teşhis edilebilen belirgin bir bozukluğu olmamasına ve 1 sene boyunca korunmasız ilişkiye girmesine rağmen gebelik başarısının sağlanamaması olarak tanımlanmaktadır. Bu hastalıkta dışlama kriterleri 1. PKOS, 2. Konjenital adrenal hiperplazi, 3. Androjen salgılayan tümörler, 4. Cushing sendromu, 5. Erkek kısırlığı, 6. Tubal patolojiler, 7. Anovülasyon, 8. Hiperprolaktinemi, 9. Hipotalamik adet görememe (amenore), 10. Daha önce geçirilen yumurtalık cerrahisi, 11. Yumurtalık tümörleri, 12. rahmin anatomik bozuklukları, 13. periton içi yapışıklıklar, 14. Endometriozis ve diğer pelvik patolojiler, 15. Tiroid fonksiyon bozukluğu ve şeker hastalığı gibi diğer hormonal bozukluklar, 16. Tekrarlanan gebelik kayıpları ve 17. otoimmün hastalıklar olarak belirlenmiştir (Casadei et al., 2013). Birçok çalışmada AMH hormonunun seviyeleri normal olarak saptanmış, bazı çalışmalarda da düşük olarak saptanmış ancak gebelik başarısı elde edilmiştir (Tafvizi et al., 2016;

Casadei et al., 2013) AMH and AMH reseptör II (AMHR2) gen varyantlarının açıklanamayan infertilite vakalarında normal östrojenik ve normal yumurtlama aşamalarında etkili olduğu da gösterilmiştir (Rigon et al., 2010).

Sağlıklı bireylerde daha önce yukarıda açıklanan biyolojik varyasyon gibi değişkenlere göre görülen AMH seviyelerindeki farklılıklar açıklanamayan infertilite gibi patolojik durumların tanımlanması ve buna göre izlenmesinde belirsizlikler oluşturabilmektedir. Bu nedenlerle sağlıklı bireylerin yanısıra bu hastalığın tanımlanmasında ve izlenmesinde ulusal ve uluslararası kabul edilen, kliniklerde güvenilir olarak kullanılacak doğru yumurtalık rezervi belirteçlerinin ve onların sınır değerleri ile test tekniklerinin belirlenmesi için ek ve/veya yeni belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmanın amacı İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) veya diğer adıyla mikroenjeksiyon uygulamalarına giren açıklanamayan infertilite teşhisi konmuş hastalarda, yumurtalık kapasitesinin ve yumurta kalitesinin değerlendirilmesinde yeni bir belirteç olarak serum midkin protein düzeylerinin kullanılıp kullanılmayacağını, kullanılabilir ise sınır değerlerini ve AMH seviyeleri ile bağlantısı olup olmadığını, eğer AMH ile bağlantısı varsa bu bağlantının kapsamını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Yumurtalık Kapasitesi

Bir kadın yaklaşık 2 milyon primordial folikül ile doğar, ancak menarş'ın başlangıcı ile doğal foliküler atreziye bağlı yaklaşık 400.000 folikül geriye kalır. Bir kadın 30'lu yaşların ortalarına ulaştığında, oositin tükenme hızının artmaya başladığı ve 30'lu yaşların sonlarına ulaştığı zaman foliküllerin sayısının yaklaşık 25.000'e kadar düştüğü ve bunun artmış düşük oranları ile paralellik gösterdiği görülmektedir. "Yumurtalık kapasitesi" terimi geleneksel olarak bir kadının üreme potansiyelini- özellikle kadının sahip olduğu oositlerin sayısı ve niteliğini-tanımlamak için kullanılmaktadır (Tal et al., 2017). Ancak, yaygın olarak kullanılan yumurtalık kapasite belirteçleri oosit miktarı için güçlü göstergeler olmakla birlikte bunlar oositin kalitesi için zayıf göstergeler olarak kabul edilir. Bu nedenle, terimin modern kullanımı oosit kalitesinden ziyade kalan oositlerin miktarı ile ilgilidir, bu yaş için hala en iyi belirleyici olmaya devam etmektedir (Tal et al.,2017). Azalmış over kapasitesi (DOR), yumurtalık uyarımına yanıtı ya da doğurganlığı benzer yaştaki kadınlara kıyasla azalmış regl olan üreme yaşındaki kadınlardaki durumu tanımlamak için kullanılmaktadır. Bu, menopozdan ya da erken over yetmezliğinden farklıdır (Ata ve ark., 2019; Tal et al., 2017).

Yumurtalık kapasitesi yaş, genetik ve çevresel değişkenlerden etkilenen karmaşık klinik bir fenomendir. Bir kadının yumurtalık kapasitesindeki zamanla düşüşün geri dönüşü yoktur ve kadınların primordial folikülleri kaybettiği oran sterilitenin başlangıcı ve menopoz geçişin zamanlaması ilişkili geniş varyasyonlarla birlikte önemli ölçüde değişebilmektedir (Tal et al., 2017; Ata ve ark., 2019). Bir bireyin yumurtalık kapasitesinin düşüş oranını tahmin etmek zor olsa da, klinisyenlerden genellikle doğurganlık tedavisi seçeneklerinin takibine yönelik fertilitate potansiyeli ve/veya tavsiyeleri hakkında bilgi istenir. Geçtiğimiz birkaç yıl içinde, özellikle Yardımla Üreme Teknolojisi (YÜT) bağlamında over cevabı tahminine odaklanan yumurtalık kapasitesi testleri üzerinde çok sayıda kapsamlı inceleme yapılmıştır (Tal et al., 2017).

2.2. Fertilite, İnfertilite ve Sterilite

Fertilite, klinik gebelik oluşturma kapasitesi ve infertilite de kişinin 12 ay boyunca düzenli, korunmasız cinsel ilişki sürecinden sonra ya da kişinin kendisinde ya da eşinde üreme kapasitesindeki bir bozukluğa bağlı olarak klinik gebelik oluşturmaması ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Düzenli cinsel ilişki, gebeliğin oluşumu için önemli bir belirleyicidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün en son tanımına göre infertilite fonksiyon bozukluğu olarak kısıtlılık yaratan bir hastalıktır (Vander Borght and Wyns., 2018).

Subfertilite, infertilite ile birlikte kullanılabilecek bir terimdir (Vander Borght and Wyns., 2018). Aynı zamanda gebelik sağlamada başarısız olan çiftlerde azalmış doğurganlığın herhangi bir tipi veya derecesi olarak tanımlanmıştır (Vander Borght and Wyns., 2018). İnfertilite tanımı kısıtlı bir zaman dilimine dayanırken, sterilite kalıcı bir infertilite halidir (Vander Borght and Wyns., 2018)

İnfertilite primer veya sekonder olarak gruplara ayrılır. Primer infertil dişi, hiçbir zaman klinik gebelik teşhisi konmamış ve infertilite olarak sınıflandırılma kriterlerini karşılayan bir kadındır. Sekonder kadın infertilitesi, klinik gebelik yapamayan, ancak daha önce klinik gebelik tanısı almış bir kadınlar için geçerlidir (Vander Borght and Wyns., 2018).

Dünya çapında 186 milyon insan infertilite sorunu yaşamaktadır. Bu durum daha çok gelişmekte olan ülkelerde gözükmektedir. Fertilitenin en güçlü negatif tanımlayıcı faktörü, artan kadın yaşı iken , yaşam tarzı ve çevresel faktörleri de içeren diğer etkenlerin artırıcı bir rol oynadığı görülmüştür (Vander Borght and Wyns., 2018).

Spontan gebe kalma olasılığını etkileyen üç ana faktör (a) Kadın partnerde gebe kalma zamanı, (b) Kadın yaşı ve (c) Hastalığa bağlı infertilitedir. Zamanla gözlenen semen düşüşü, endokrin bozucu kimyasallar ve akraba olma durumu gibi diğer faktörler de buna dahil olabilmektedir (Vander Borght and Wyns., 2018). Hastalığa bağlı infertilitede bu gruba erkek-kadın için hipogonadotropik hipoonadizm, hiperprolaktemi, sil fonksiyonu bozuklukları, kistik fibroz, enfeksiyon, sistemik hastalıklar (Metabolik sendrom, çölyak hastalığı, otoimmün hastalıklar v.b.), yaşam tarzına bağlı faktörler/hastalıklar (Cinsel ilişkiye girme sıklığı, besinde kısıtlama, fazla egzersiz, stress, fazla kilo, sigara kullanımı, alkol ve uyuşturucu

kullanımı), kadın için premature ovaryan yetersizlik, PKOS, endometriozis, AKİ, rahim fibroidleri, endometriyal polipler ve erkek için ise testiküler yetersizlik (Pre/post-testiküler yetersizlik) girmektedir (Vander Borgh and Wyns., 2018).

2.3. Yumurtalık Kapasitesi Belirteçleri ve Testleri

Yumurtalık kapasitesi testleri, 1980'lerin sonlarında YÜT'ün yoğun ilgi görmeye başlamasıyla birlikte, hem süperovülasyon ilaçlarına karşı cevabı hem de tedavi ile birlikte hamilelik olasılığını öngörmek için kullanılmaya başlamıştır (Tal et al., 2017).

Bu testler, biyokimyasal bazal ve uyarıcı testler ile yumurtalıkların ultrason görüntülemesini kapsamaktaydı. İlk test 3. gün FSH testiye, sonra sırasıyla klomifen sitrat testi (CCCT), gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonisti, inhibin B (İNH B), antral folikül sayısı (AFS) ve AMH testleri uygulamaya alındı (Tal et al.,2017). Bununla birlikte, bu ölçümlerin çoğunun genellikle yumurtalık kapasitesinin dolaylı ölçümleri olmasından (örn. FSH, CCCT, GnRH agonisti) ya da adet döngüsü içinde veya adet döngüleri arasında önemli değişkenlik (örn., FSH) göstermesinden dolayı düşük tanısal değeri olduğu görülmüştür (Tal et al.,2017). Uyarıcı testler (CCCT ve GnRH agonisti), 1 saatten daha fazla hastayı klinikte tutarak zaman kaybı ile sıkıntı yaratmasından ve yüksek maliyetinden dolayı hemen hemen hiç kullanılmamaktadır (Tal et al., 2017). Günümüzde klinik uygulamada en sık kullanılan belirteçlerin testleri, FSH, AFS ve AMH testleridir 10. Bu testlerin klinikte kullanımı aşağıdaki gibidir (Kruszyńska et al., 2017).

1. Döngünün 3. gününde FSH seviyesi ölçümü - tek FSH ölçümü, döngü içi ve döngüler arası değişkenlik göstermesi nedeniyle düşük güvenilirlik ile karakterizedir. FSH düzeylerinin >10 IU/lt olmasının azalmış yumurtalık kapasitesini gösterdiği kabul edilmektedir.
2. Döngünün 3. gününde FSH ve östradiol (E2) seviyelerinin tayini.
3. Erken foliküler fazda çapı 2-10 mm olan AFS ultrasonografik tayini.
4. Yumurtalık hacminin ölçümü.

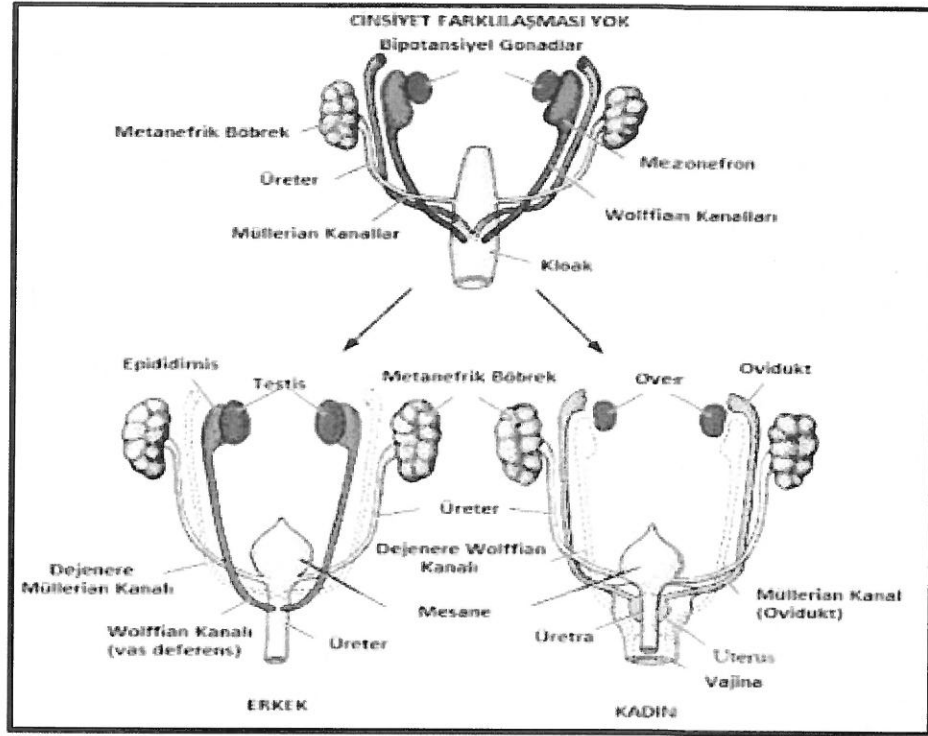
Yumurtalık kapasite testlerinin tarama testi olarak kullanılmasının amacı, gonadotropin uyarımına zayıf yanıt verme olasılığı daha yüksek olan ve YÜT ya da ovülasyon indüksiyonu ile gebelik elde etme ihtimalinin daha düşük olduğu düşük

over rezervi (DOR) için risk altındaki infertilite hastalarını tanımlamaktır (Tal et al., 2017). Aynı zamanda, bu tür bir tedaviyi almadan önce yaşamı tehdit eden iatrojenik bir komplikasyon olan yumurtalık hiperstimülasyon sendromunu (OHSS) geliştirme riski en yüksek olanları belirleyerek ve etkin olarak önleyerek, ovülasyon indüksiyonunu daha güvenli hale getirmeye de katkıda bulunmaktadır (Tal et al., 2017). İdeal yumurtalık kapasite testi uygulanabilir, non-invazif ve hızlı yorumlanabilir olmalıdır. Ayrıca tekrarlanabilir olmasıyla birlikte adet döngüsü içinde ve bu döngüler arasında en az değişkenliği göstermelidir (Tal et al., 2017). Buna ek olarak, bu testlerle yumurtalık kapasitesindeki değişiklikler yeterince erken bir aşamada tespit edebilmeli ve zamanlı yapılan müdahaleler takip edilebilmelidir. Son olarak, validitesi olmalıdır yani iyi bir duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olmalıdır (Tal et al., 2017). Klinik açıdan bakıldığında bu özellikleri sağlayan testler ile yanlış tanı ve tedaviyi önlenerek başarılı sonuçlar elde edilebilmekte hastanın genel ve üreme sağlığına (fertil birey) hızlı olarak kavuşması sağlanabilmektedir (Tal et al., 2017).

Anti-Müllerian hormon, yumurtalık kapasitesi değerlendirmesinde yukarıda belirtilenler arasında en iyisi ve güvenilirli olarak kabul edilir (Tal et al., 2017). Azalmış seviyeleri, kadının düzenli adet döngüsüne sahip olmasına ve FSH ile östrodiol 2 (E2) düzeyleri hala normal olmasına rağmen azalan yumurtalık kapasitesini gösterebilir. AMH seviyeleri ile yaş arasında ve ayrıca AMH seviyeleri ile antral foliküllerin sayısı arasında iyi bir korelasyon bulunmuştur (Tal et al., 2017).

2.3.1. Anti-Müllerian hormon

Anti-Müllerian hormon diğer adıyla Müllerian inhibe edici madde transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) süper familyasına ait bir glikoproteindir, özellikle küçük ve büyük preantral ve küçük antral foliküllerin granüloza hücreleri tarafından dişilerde üretilir (Tal et al., 2017). AMH orijinal olarak 1947'de Müllerian kanallarının gerilemesine neden olan bir madde olarak tanımlanmıştır. Fötal farklılaşma sırasında, testis Sertoli hücreleri, Müllerian kanallarının gerilemesine ve erkek fenotipik gelişimin başlamasına yol açan AMH'yı gebeliğin 7. haftasında üretmeye başlar (**Şekil 1**) (Tal et al., 2017). Öte yandan embriyoenez sırasında AMH ekspresyonunun olmaması Müllerian kanalının rahim, fallop tüpleri ve vajinanın üçte ikisi gibi dişi genital organlarına farklılaşmasına olanak sağlar (**Şekil 1**) (Tal et al., 2017).

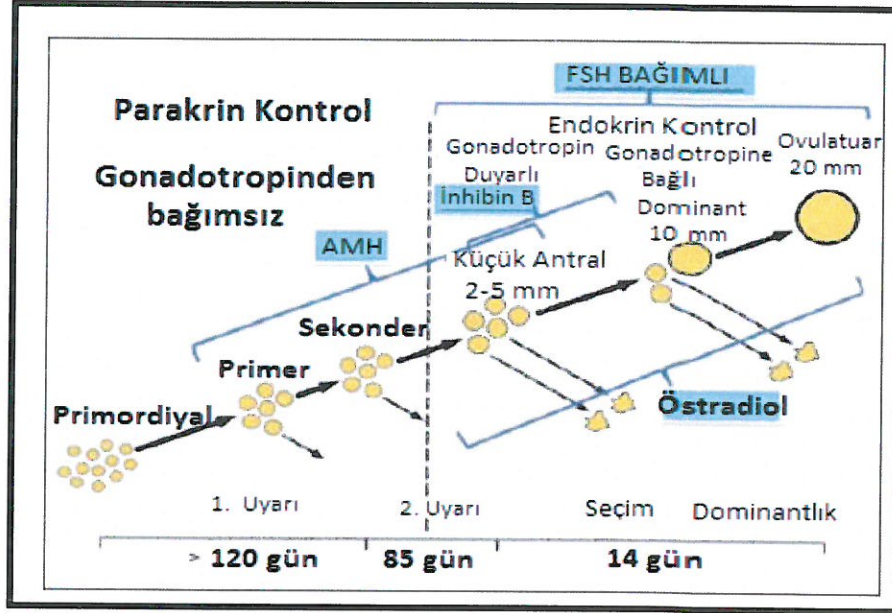


(Tal et al., 2017).

Şekil 1. Cinsiyet farklılaşması.

Anti-Müllerian hormonun 1993 yılında folikül sıvısında mevcut olduğu bildirilmiştir, ancak işlevi tam olarak anlaşılmamıştır. Daha sonra, AMH geni eksik olduğunda hızlandırılmış atrezi gösteren AMH eksikliği olan farelerin çalışmalarını takiben, bir yumurtalık kapasite belirteci olarak klinik kullanımı rapor edilmiştir (Tal et al.,2017; Herawati 2019). AMH eksikliği dişi farelerde doğurganlığı etkilemiyor gibi görünmekteydi. Primordial foliküllerin alımı, AMH eksikliği olan farelerin yumurtalıklarında erken tükenmeye yol açar (Tal et al.,2017). AMH eksikliği dişi farelerde fertilitiyi etkilemiyor gibi görünse de, primordial foliküllerin artması AMH eksik farelerin yumurtalıklarında erken tükenmeye yol açar (Tal et al.,2017; Herawati, 2019). Yumurtalık gebeliğin 36. haftasında AMH üretmeye başlar, genç kadınlarda büyüme çağına artmaya başlar ve 25 yaşında en üst düzeye ulaşır, daha sonra menapozdan birkaç sene önce tespit edilemeyen seviyelere ulaşmaya kadar kademeli olarak azalır (Şekil 2) (Tal et al.,2017; Kruszyńska et al.,2017; Herawati, 2019). AMH, foliküllerin FSH tarafından seçilmesini ve aromataz aktivitesini engelleyerek primer foliküllerin primordial havuzdan alınmasını önlediği için erken folikülojenezin önde gelen negatif parakrin regülatörü olarak görev yapmaktadır (Tal

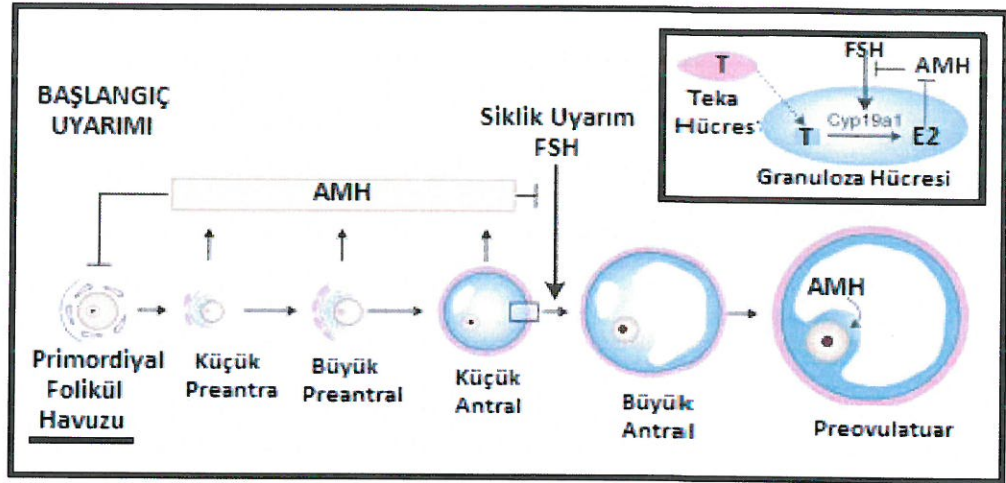
et al.,2017; Herawati, 2019). AMH normal erken folikülöjenez sırasında eksprese edildiğinden 6 mm'ye kadar olan erken foliküller tarafından salınır, fizyolojik seviyelerde bulunan dolaşan gonadotropinlerden nispeten bağımsızdır ve bu durum döngü boyunca herhangi bir zamanda test edilmesine izin verir (Tal et al.,2017; Herawati, 2019).



(Herawati, 2019)

Şekil 2. Folikül gelişiminin sistematik modeli.

Daha önce yapılan birkaç çalışma, AMH'nin normoovulatuvar kadınların adetleri boyunca göreceli olarak stabil olduğunu ileri sürerken, diğer çalışmalar 1 adet döngüsü içinde önemli dalgalanmalar gösterdiğine işaret etmiştir (Tal et al., 2017). Bu konu fazlasıyla tartışılırken kanıtlar, AMH düzeylerinde önemli dalgalanmalar meydana geldiğinde, bunların daha genç kadınlar ve yüksek bazal AMH seviyeleri olan kadınlar ile sınırlı olduğunu gösterirken, düşük yumurtalık kapasitesine sahip hastalarda (genellikle yaşlı kadınlarda) AMH dalgalanmalarının klinik açıdan çok az önemli olduğunu göstermiştir (Tal et al.,2017). Ayrıca, AMH'deki rastlantısal ve siklik olmayan dalgalanmalar, döngünün sabit bir gününde hormon seviyelerini ölçmenin, rastgele değerlendirmeye göre herhangi bir avantaj sağlayamayacağını da göstermektedir (Tal et al., 2017). Bazı yazarlar, AMH'nin döngüsel salınım sırasında FSH'a foliküler yanıtın modifikasyonunda rol oynayan faktörlerden biri olabileceğini öne sürmüşlerdir (Tal et al., 2017).



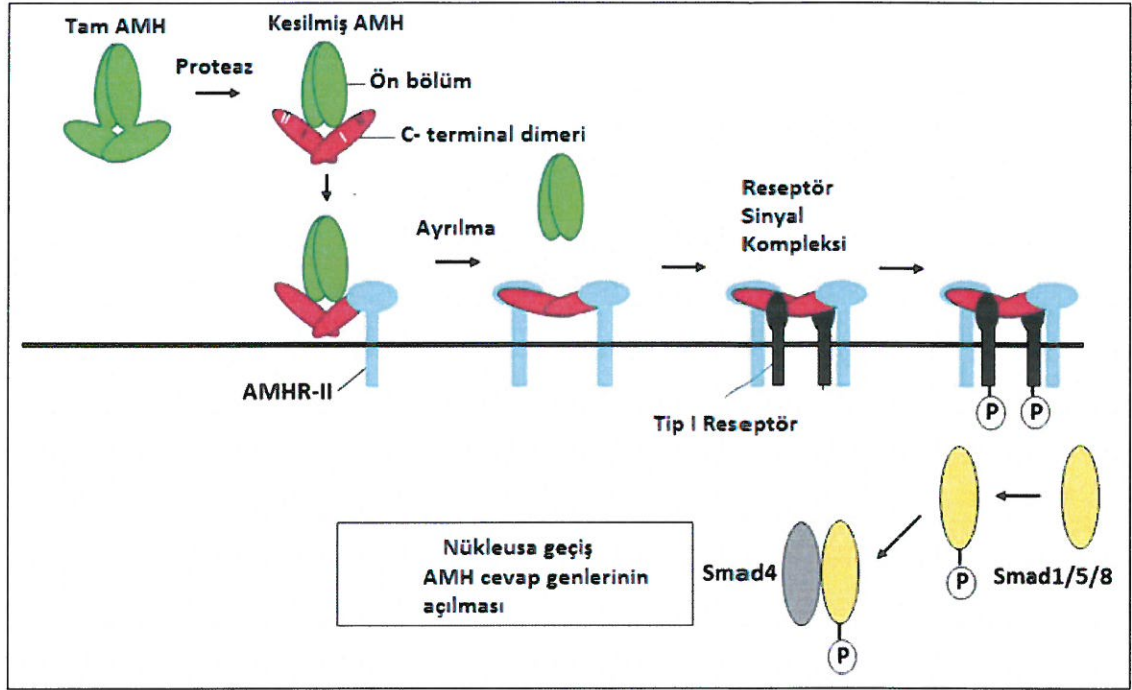
(Tal et al., 2017)

Şekil 3. Overde AMH'nın etkilerinin sistematik gösterimi. T: Testosteron

2.3.1.1. Anti-Müllerian hormonun etki mekanizması

Anti-Müllerian hormon geni, 19. kromozomda p13.3 pozisyonunda bulunur. Kodlanmış preproprotein, biyolojik olarak aktif non-kovalent bir kompleks oluşturmak üzere homodimerize olan ve birleşen N- ve C-terminal bölünme ürünleri üretmek için proteolitik olarak işlenir. İşlenen AMH'nın biyolojik etkilerini, serin/treonin kinaz aktivitesi olan-tip II (özgün reseptör) ve tip I (genel reseptör) adlı iki membrana bağlı reseptör aracılığıyla gösterir (Wang et al., 2017). Bu reseptörler, yumurtalıklarda granuloza hücreleri ve testislerdeki Sertoli ve Leydig hücreleri gibi AMH'nin hedef organlarında eksprese edilirler (Wang et al., 2017; di Clemente et al., 2019). AMH tip II reseptörüne bağlandığında treonin kinaz olarak işlev gören tip I reseptörünün hücre içi domeni fosforile olur ve sitoplazmik SMAD proteinlerini aktif hale getirir (di Clemente et al., 2019). Daha sonra, SMAD proteinleri çok sayıda genin ekspresyonlarını düzenlemek için nükleusa doğru giderek yer değiştirir (Wang et al., 2017; di Clemente et al., 2019). AMH ekspresyonu şekli fare ve insan yumurtalıklarında benzer görünmektedir, bu nedenle, yumurtalıklarda folikül havuzunu AMH eksikliği olan farelerden analiz eden çalışmalar, folikülojenizde AMH'nin rolüne dair bilgi sağlar (Wang et al., 2017). AMH eksikliği olan farelerde primordiyal foliküller daha hızlı bir oranda atılır ve bu da erken yaşta folikül havuzunun erken tükenmesine neden olur (Wang et al., 2017). Bu bulgu AMH'nın, KIT ligandı ve bFGF gibi salınım için gerekli olan uyarıcı büyüme faktörlerini kısıtlayarak foliküllerin başlangıçtaki salınımını ve büyümesini engellediğini

kanıtlamaktadır (Wang et al, 2017). Bu, AMH ile kültüre edilen fare yumurtalıklarının büyüyen folikül sayılarında % 40-% 50'lik bir azalma ile sonuçlanması ile daha güçlü bir şekilde kanıtlanmıştır (Wang et al., 2017). AMH, primordial foliküllerin FSH duyarlılığını azaltır ve granüloza hücre aromatazını engeller, bu da folikülün döngüde salınmamasına ve östrojen biyosentezi yapamaması ile sonuçlanır (Wang et al., 2017).



(di Clemente et al., 2019)

Şekil 4. AMH etki mekanizmasının şematik gösterimi.

Tam uzunluktaki AMH'nin kesilmesi, AMH kovalent olmayan kompleksin AMRHII'ye bağlanmasına izin veren C-terminali domeninde konformasyonel bir değişiklik ile sonuçlanır. Ön bölgenin ayrılmasından sonra, tip I reseptörü kompleksin içine alınır ve tip II reseptör kinaz tarafından fosforile edilir. Aktive edilmiş tip I reseptörü daha sonra Smad 4 ile ilişkili olan Smad 1/5/8'i fosforile eder, çekirdeğe gider ve AMH'ye cevap veren genleri düzenler. C-terminali AMH dimerindeki tip I ve II reseptör bağlama bölgeleri, ya I ya da II ile gösterilir.

2.3.1.2. Duyarlılık ve özgüllük

Tüm yumurtalık kapasite testleri arasında AMH testleri, en erken sonuç veren ve en hassas test olarak kabul edilir (Tal et al., 2017). Primordiyal folikül havuzu ile fazlasıyla ilişkilidir, kronolojik yaşla ters bir korelasyona sahiptir 35, 36, YÜT'de

yumurtalık yanıtını güvenilir bir şekilde tahmin eder ve menopoz başlangıcının zamanlamasını öngörebilir (Tal et al., 2017). Gonadotropinlerle kontrollü ovaryan stimülasyon uygulanan kadınlarda yapılan çalışmaların sistematik olarak tekrar değerlendirilmesinde, düşük AMH cut-off noktalarının (0.1-1.66 ng/mL) zayıf yumurtalık yanıtı cevabının öngörülmesinde % 44-97 arasında değişen duyarlılığa ve % 41-100 arasında değişen özgüllüklere sahip olduğu bulunmuştur (Tal et al., 2017). 28 çalışmayı içeren bir meta-analizde, AMH'nın zayıf yumurtalık yanıtı için iyi bir öngörü, tanısız yeteneğe sahip olduğu eğri altında kalan alan (Area Under the Curve=AUC) değeri 0.78 ile gösterilmiştir (Tal et al., 2017). Buna ek olarak, AMH'nın % 3.9-5.0 ng/mL cut-off değerleri kullanıldığında % 53-90.5 arasında değişen duyarlılık ve % 70-94.9 arasında değişen özgüllüklerle birlikte gonadotropin uyarımı ile yumurtalık hiperstimülasyonunu tahmin etmede çok önemli bir yararı vardır (Tal et al., 2017). Ancak, YÜT'deki stimülasyona karşı verilen yumurtalık yanıtla güçlü korelasyonuna rağmen AMH, <0.1-1.66 ng/mL arasında değişen cut-off değerleri kullanıldığında % 19-66 arasında duyarlılık ve % 55-89 arası özgüllük ile gebe kalamama durumunun zayıf bir göstergesidir (Tal et al., 2017).

Yardımcı Üreme Teknolojisi Derneği veritabanında bulunan önceki çalışmalardan biri, çok düşük AMH (<0.16 ng/mL) seviyelerine sahip olan kadınlar % 54 döngü iptal oranına sahipken, döngü başına genel canlı doğum oranının % 9.5 olduğunu göstermiştir, bu da infertilite tedavisinin yalnızca tespit edilemeyen AMH seviyeleri temeline dayandırılmayacağı görüşünü destekler niteliktedir (Tal et al., 2017). Benzer şekilde, AMH, YÜT'ü takiben hamileliğin ve hamileliğin zayıf bir göstergesidir. Daha önce yapılan 2 meta-analiz sonucu AMH için AUC değerini klinik hamilelik ve canlı doğum için sırasıyla 0.63 ve 0.61 olarak bulmuştur (Tal et al., 2017). Klinik gebelik tanısı için AMH duyarlılık ve özgüllük sınırları sırasıyla 1.0-3.22 ng / mL arasında olan cut-off değerleri ile birlikte % 34.4-86.2 ve % 26-78.5 arasındaydı (Tal et al., 2017). Buna ek olarak AMH değerlerinin geçmişinde 1 veya 2 kayıp bulunan doğurgan kadınların grubunda herhangi bir yardım olmaksızın gebe kalma aşamalarındaki doğurganlıkla bir bağlantısı olmadığı gösterildi (Tal et al., 2017). Bu veriler, AMH'nın oosit miktarının iyi bir bir göstergesi olmakla birlikte oosit kalitesini göstermemektedir (Tal et al., 2017).

2.3.1.3.Kısıtlamalar

Anti-Müllerian hormon testinin ana kısıtlamaları, analiz değişkenliği ve standartlaştırılmış uluslararası tahlil eksikliğiyle ilgilidir. 2010'dan önce 2 farklı test kullanıldı: Avrupa ve ABD testleri farklı antikorlarla bağımsız olarak geliştirildi ve farklı birimler kullanılarak bunlar hakkında çok farklı sonuçlar bildirildi (Tal et al., 2017). Bu sorunun, aynı şirket tarafından hem enzim bağlantılı immünosorbent analizlerinin (ELİZA) üretimi hem de en iyi özellikleri bir araya getiren yeni bir test (Gen II, Beckman Coulter Inc, Brea, CA) geliştirilmesi ile çözüldüğü düşünülmüştür 47. Ancak, Gen II testi ile alakalı çeşitli çalışmalarda laboratuvarların sonuçlarında birbirleri arasında ve test içi/testler arasında örnek stabilitesinde ve depolanması konularında farklılıklar olduğu gösterilmiştir (Tal et al., 2017). Otomatize AMH test platformları, mevcut enzime bağlı immünosorbent analiz tabanlı deneylere göre daha yüksek hassasiyet (4 kat), daha hızlı geri dönüş süresi (6 saate karşı 18 dakika) ve daha yüksek duyarlılık (10 kat) sunmaktadır (Tal et al., 2017; Grynerrup et al., 2019). Bu yeni platformlar Amerika Birleşik Devletleri dışında Avrupa ve Asya'da aktif olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, böyle bir otomatik platform, yumurtalık kapasitesini belirlemek için Gıda ve İlaç Bakanlığı izni almıştır (Tal et al., 2017).

2.3.1.4. Yaşa özel Anti-Müllerian hormon değerleri

Yaşa özgü AMH değerleri çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir ve fertilitite kliniğine başvuran kadınların popülasyonu için bilgilendirici niteliktedir (Tal et al.,2017) Dolayısıyla, referans değerler yaşlara uygun olup, yaştan bağımsız olarak genel bir kadın popülasyonu için belirlenmemiştir. Bu değerler, yumurtalık kapasitesi için bir Z skoruna (yaş eşleştirilmiş bir grupta kıyaslandığında) benzer olabilir. Genel bir kılavuz olarak, 5 yıllık yaş aralıklarında yaşa göre serum AMH değerlerinin alt sınırı yaklaşık olarak 45 yıl için 0.5 ng / mL, 40 yıl için 1 ng / mL, 1.5 ng / mL olması için 35 yıl, 30 yıl için 2.5 ng / mL ve 25 yıl için 3.0 ng / mL olarak belirlenmiştir. En yaygın kullanılan AMH testi olan Gen II'nin son tekrarları bu kılavuzlara kıyasla yaklaşık % 30-40 daha yüksek ortalama değerler bildirdiğinden, bu kılavuzlardaki AMH değerlerinin, koruyucu tahminler olması muhtemeldir. Dolayısıyla, uygulamada eğer 35 yaşında bir kadın 1 ng/mL AMH değerine sahipse, bunun yaşına göre en az 1.5 ng/mL AMH değerine sahip olması beklenir. 1 ng/mL AMH seviyeleri, 40 yaşındaki bir kadından beklenen bir sonuçtur (Tal et al., 2017).

Bir hastanın geçmişinin geri kalanı bağlamında daha düşük gözlemlenen bu değer (Örneğin, sigara içilmesi veya annesinin menopozunun erken başlaması), gelecekte 1 çocuktan oluşan gebe kalma beklentisine bağlı olarak, doğurganlık tedavisine daha hızlı bir yaklaşım getirmeye işaret edebilir (Tal et al., 2017) .

2.3.1.5. Anti-Müllerian hormon sonuçlarını etkileyen faktörler

Bir hastanın AMH test sonuçlarını yorumlarken, klinisyenin yumurtalık kapasitesinin yanlış değerlendirilmesinden kaçınmak için olası tüm etki faktörlerinin etkilerini dikkate alması önemlidir. AMH düzeylerini etkileyen bazı biyolojik, üreme ve çevresel/yaşam stili faktörleri bulunmaktadır (Tablo 1). Örneğin, PKOS artmış AMH seviyeleri ile ilişkiliyken, doğum kontrol hapları veya GnRH agonist uygulamasıyla ilgili yumurtalık baskılanması AMH seviyelerini azaltabilir ancak bu gebeliği önleyici hapların kullanımına devam edilmediğinde AMH seviyeleri genellikle 3-4 ay içinde başlangıç seviyesine döner (Tal et al., 2017). Çevresel/yaşam stili faktörleri arasında sigara kullanımı, düşük D vitamini düzeyleri ve obezite daha düşük AMH düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur, ancak obezitenin etkisine dair çalışmalar birbirleri ile tutarsızlık göstermektedir (Tal et al., 2017).

Tablo 1. AMH'ya etki eden faktörler

AMH, Anti-Müllerian hormon; BRCA-1, Meme kanseri geni-1; FMR1, Frajil X zeka geriliği 1; GnRH, Gonadotropin salgılatıcı-hormon; OKH'ler, Oral kontraseptif haplar; SLE, Sistemik lupus eritematozus; BKİ, Beden Kitle İndeksi.

Potansiyel Faktör	AMH'ya Etkisi
Biyolojik Özellikler	
İrk ve etnik köken	Beyazlarda Zenci, Çin ve Latinler'den daha yüksek
Sistemik Hastalık (Örneğin, Crohn's, SLE)	Azalma
BRCA1 taşıyıcısı	Azalma
FMR1 premütasyonu	Azalma

Üreme Faktörleri	
Yumurtalık baskılama (OKH'ler, GnRH agonistleri)	Azalma
PKOS	Artma
Güncel gebelik	Azalma
Benzerlik	Artma
Yumurtalık cerrahisi geçmişi	Azalma
Endometriozis	Azalma
Granüloza hücre tümörü	Artma
Çevre/Yaşam Stili	
BKİ (obezite)	Tutarsız sonuçlar-Azalma veya değişiklik yok.
Sosyo-ekonomik durum	Etki yok
Geçmişte Sigara içme durumu	Etki yok
Şimdiki Sigara içme durumu	Azalma
Kemoterapi	Azalma
Düşük D vitamini seviyesi	Azalma
Alkol kullanımı	Etki yok
Fiziksel egzersiz	Etki yok

(Tal et al., 2017).

2.4. Kadın İnfertilitesini Etkileyen Faktörler

2.4.1. Prematüre ovaryan yetmezlik

Prematüre ovaryan yetmezlik (POY) kadınların yaklaşık % 1'inde görülür. İki ayrı durumda ölçülen artmış serum FSH'ı varlığında, 40 yaş altı menstrüel siklusların kesilmesi olarak tanımlanır. Buna neden olarak genetik, çevresel ve enfeksiyöz (Örn., Kabakulak enfeksiyonu sonrası) faktörler, otoimmün durumlar, metabolik bozukluklar (Galaktozamin tarafından biyokimyasal hasara bağlı olarak) ve kanser tedavisi veya ameliyatı sonrasında görülen bozukluklar sayılabilir. Bununla birlikte, vakaların büyük bir çoğunluğunda hastalığın kaynağı belirsiz olarak kalır (Vander Borgh et al., 2018).

Muhtemelen POY'nin en yaygın genetik sebebi Turner sendromu'dur. POI'nin bir diğer yaygın genetik sebebi, fragil X mental retardasyon premutasyonudur. Tam mutasyon (> 200 CGG tekrarı) mental retardasyon ve otizme neden olurken, 55 ila 200 triplet tekrarının varlığı prematüre over yetmezliği ile sonuçlanmaktadır (Vander Borgh et al., 2018).

2.4.2. Polikistik over sendromu

Heterojen bir durum olan PKOS, kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluktur ve kadın popülasyonunun % 5-10'unu etkilemektedir (Vander Borgh et al., 2018). Ovülasyon bozukluğunun yanı sıra ve IVF başarı oranları ile kanıtlandığı gibi, PKOS varlığında embriyonik implantasyon potansiyeli azalır (Vander Borgh et al., 2018).

Polikistik over sendromunun, Rotterdam kriterlerine göre klasik olarak tanımlanmasında, aşağıdaki üç kriterin ikisinden oluşan bir sendrom olduğu belirtilmektedir: Nadiren veya hiç olmayan ovülasyon, yumurtalıkların ultrasonografi ile morfolojik bir tanım ve hiperandrojenizm (Vander Borgh et al., 2018).

Polikistik over sendromunlu kadınlarda, hem artan küçük antral foliküllerin sayısına hem de granüloza hücrelerinin içsel özelliklerinin artmasına bağlı olarak anovülasyona neden olabilecek şekilde AMH seviyeleri belirgin olarak artmıştır (Vander Borgh et al., 2018).

Obezite, PKOS ile ilişkili olarak daha şiddetli metabolik ve ovülatuvar disfonksiyon ile ilişkilendirilmiştir ve kilo kaybının ovulasyonu düzeltip

hiperandrojenizmi azalttığı bulunmuştur (Vander Borgh et al., 2018). Buna ek olarak, fenotiplerdeki ırk/etnik çeşitlilik, daha ileri olarak yaşam stili ve kültürel faktörlerin PKOS'un metabolik sonuçlarında rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Vander Borgh et al., 2018).

Düşük sosyoekonomik durumun, metabolik disfonksiyonla karakterize PKOS fenotipleriyle daha yakından ilişkili olduğuna ve obez kadınlar arasında sosyoekonomik durum-PKOS ilişkisinin daha belirgin olduğuna dair bazı kanıtlar bulunmuştur (Vander Borgh et al., 2018).

2.4.3. Endometriozis

Endometriozis, infertilite ile ilişkili patolojik pelvik inflamatuvar bir süreçtir. Endometriozis ile ilişkili infertilitede yer alan mekanizmalar, adezyon ve fibrozise bağlı anatomik bozukluklardan endokrin anormalliklerine ve immünolojik bozukluklara kadar birçok süreci geniş olarak kapsamaktadır (Vander Borgh et al., 2018). In vitro fertilizasyon (IVF) başarı oranları ile kanıtlandığı gibi, embriyonik implantasyon potansiyeli endometriozis varlığında azalmaktadır (Vander Borgh et al., 2018).

Üreme çağındaki kadınlarda endometriozisin gerçek prevalansı belirsizliğini korumaktadır. Popülasyon bazlı çalışmalarda tahmin edilen genel endometriozis prevalansı % 0.8 ile % 6 arasında değişmektedir. Bununla birlikte, subfertil kadınlarda prevalansın % 20'den % 50'ye kadar değiştiği, zaman aralıklarındaki anlamlı varyasyonlarla ve hastaların yaşlarıyla birlikte daha yüksek olduğu görülmektedir. Bazı çalışmalar ancak tüm çalışmalar değil, Asyalı kadınlar arasında daha yüksek endometriozis prevalansı bulmuştur (Vander Borgh et al., 2018).

2.4.4. Rahim fibroidleri

Leiomyomlar kadın üreme sisteminde en sık görülen iyi huylu tümörlerdir. İnfertilite üzerindeki rolü hala tartışmalı olsa da, bugüne kadar elde edilen kanıtlar anatomik lokasyonun üreme sonuçları ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Vander Borgh et al., 2018). Leiomyomların fertilitiyi nasıl etkileyebileceği konusunda, endometriyal kavitenin anatomik distorsiyonu, anormal rahim kontraktilesi, endometriumda azalmış kan akımı ve değişmiş endometriyal reseptivite gibi birçok olası mekanizma bildirilmiştir (Vander Borgh et al., 2018).

Rahim fibroidleri, zenci kadınlarda daha yaygındır ve zenci kadınlarda daha büyük ve daha fazla sayıda miyom bulunabilir (Vander Borgh et al., 2018).

2.4.5. Endometriyal polipler

Azalmış embriyonik implantasyon potansiyeli ve erken gebelik kaybı, endometriyal poliplerin varlığında rapor edilmiştir (Vander Borgh et al., 2018). Bunlar, cerrahi polipektomiye takiben düzeylerinin artığı gösterilen implantasyon belirteçleri olan insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 1 (IGFBP-1), tümör nekroz edici faktör alfa (TNF- α) ve osteopontinin orta salgı konsantrasyonlarının azalması ile ilişkili bulunmuştur (Vander Borgh et al., 2018).

2.4.6. Açıklanamayan kadın infertilitesi

Açıklanamayan kadın infertilitesi, kadın infertilitesinin % 40'ını oluşturmaktadır ve genel infertilitenin % 25-30'unu oluşturmaktadır (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015). Kullanılan seçim kriterlerine bağlı olarak farklı bulgular elde edilebilir (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015). Bu çalışmaların temel kısıtlamaları, retrospektif tasarımlarındaki farklılıklarından kaynaklanmaktadır (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015). Yapılan bir çalışmada 35 yaş altı kadınlardaki AKİ prevalansı % 21 bulunurken 35 yaş üstü kadınlarda bu % 5 artarak % 26 olarak belirlenmiştir (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015).

Açıklanamayan kadın infertilitesi terimi kadın üreme sistemi kabul edilmiş standart prosedürler (Ayrıntılı geçmiş ve klinik inceleme, yumurtalık işlevi değerlendirmesi, yumurtalık kapasitesinin ölçümü, rahim anatomisinde anormalliklerin değerlendirilmesi, tubal açıklığın incelenmesi, peritoneal faktörlerin değerlendirilmesi) uygulanarak incelenip hiçbir anormallik saptanamamasına rağmen azalmış veya kaybolmuş doğurganlık kapasitesi ve canlı doğumun elde edilememesi durumu için kullanılmaktadır. Bu durumda erkekde de herhangi bir patolojik durum görülmemektedir (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015).

Bu tanımda tüm uygun testler uygulandıktan sonra bu sonuca varıldığı vurgulanmaktadır. Tubal açıklık gibi bazı testlerin değerlendirilmesi/yorumlanması uzmana bağlı değişkenlik göstermektedir. Birçok tanısız testin duyarlılığı [Örneğin

sabit infüzyon ultrasound (Hycosy) ve Histerosalpingografi] %100'e ulaşamaz ve AKİ'nin tanısı kişinin performansına ve/veya uzmanın yorumlamasına bağlı olabilir. Bu noktada, uzmanın deneyimi ve düşünceleri oldukça önemlidir. Endometriozis, Adenomyozis, Doğuştan rahim anormallikleri, Myomlar (Fibroidler), Azalmış yumurtalık kapasitesi ve artan kadın yaşı, İmmunolojik faktörler, Tubal Faktörler, Servikal Faktörler, Besin ve yaşam tarzı sebepleri gibi potansiyel infertiliteye neden olan unsurlar AKİ tanısı olarak da değerlendirilebilmektedir (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015). Örneğin endometriozis görünebilir, görünmeyebilir veya mikroskopik olabilir. Bu durumda laporoskopi yapılsa bile hastalığın tanımlanması uygulayıcıya bağlıdır (Nardo 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015). Buna ek olarak, birçok deneyimli cerrahın bile farkedemeyeceği makroskopik olarak görülemeyecek hastalık bulunabilir (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey 2015). Diğer bir örnek tubal faktör için verilebilir. Tubal açıklık, standart test olarak kabul edilse bile tubal işlevi kontrol etmek zordur ve ovülasyon sırasında yumurtalıktan yumurtaların azalmış geri kazanılmasında veya bozuk yumurta/sperm taşınmasında etkili olabilir (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015).

Açıklanamayan kadın infertilitesinin mekanizmasına dair son zamanlarda yapılan çalışmalarda, alfa-v-Beta 3 integrin seviyelerinin, AKİ vakalarında endometriyumda sağlıklı bireylere oranla önemli ölçüde daha düşük olduğu bulunmuş, bu da insan endometriyumunda Alfa-v-Beta 3 integrininin düşük ekspresyonunun bozuk rahim iç kılıfının embriyo tutma kapasitesi (bozuk rahim reseptivitesi) ile ilişkili olabileceği ve bunun kadın nüfusunda infertilitenin tanımlanmamış bir nedeni olarak rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Nardo, 2015; Galliano, 2015; Dickey, 2015).

Bir başka çalışmada, granüloza hücrelerinde daha düşük FOXO3 mRNA ekspresyonunun, IVF-embriyo transferi için kontrollü yumurtalık uyarımı uygulanan açıklanamayan infertilitesi olan hastalarda zayıf oosit gelişimine yol açtığı saptanmıştır (Yamamoto et al.,2017). Başka bir çalışmada, stromal hücrelerde östrojen reseptörlerinin (ER) pozitifliği ve AKİ grubunda, hem epitel hem de stromal hücrelerde progesteron reseptörlerinin pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (Dixit et al.,2018). AKİ'li olan kadınların sağlıklı kadınlara kıyasla daha yüksek TSH seviyelerine sahip olduğu da çalışmalarda gösterilmiştir (Orouji et al., 2018). Maxia et al. (2018) yaptığı çalışmada TNF- α , glikodelin (GLY), toplam

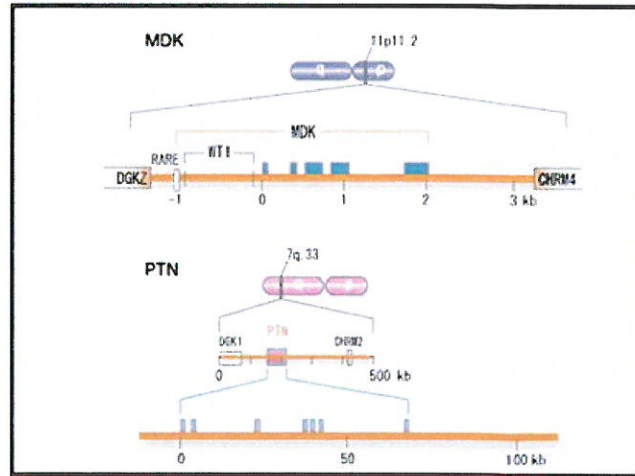
oksidatif durum (TOS) ve Kompleman Aktivite Toksik Faktörü (KATF) immunolojik belirteçlerle yapılan çalışmalarda bu faktörlerle ilgili pozitiflik saptanmasıyla birlikte en yüksek pozitiflik oranı % 47.7 ile KATF'de saptanmıştır (Maxia et al.,2018). Bu vakalarda azalmış yumurtalık yanıtı, yüksek FSH seviyeleri veya düşük AMH seviyeleri görülmüştür (Maxia et al.,2018).

Buna karşın, titizlikle tanımlanmış AKİ'ye sahip olan hastalarda AMH düzeylerinin ve antral folikül sayılarının toplum kontrollerine göre azalmadığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (Yamanato et al., 2017).

2.5. Midkin

2.5.1. Midkin geni

İnsan MK geni (MDK) kromozom 11 üzerinde p11.2'de bulunur (Muramatsu, 2002) ve diaçilgliserol kinaz ζ geni ve muskarinik kolinerjik reseptör 4 geni tarafından kuşatılmıştır (Muramatsu, 2002). MDK, 4 kodlama yapan eksona sahiptir (Şekil 5). Transkripsiyon başlama bölgesindeki farklılıklara ve farklı eklemelere bağlı olarak MK mRNA'sının 7 izoformu bulunmaktadır. İzofomların 5' uçlarında 5 tane farklı kodlama yapmayan dizi bulunmaktadır (Şekil 5). 2 izoform, bir kodlama ekzonunu atlayarak ve kesik MK oluşturularak üretilir. 2. Kodlama ekzonu olmayan mRNA'dan üretilen kesik MK, belirgin olarak tümöre özgüdür ve klinikte tanı aşamasında kullanılabilir (Muramatsu, 2010) (Şekil 5).



(Muramatsu, 2002).

Şekil 5. MK ve PTN genlerinin yapısı.

RARE: Retinoik asit cevap elementi; WT1: WT1 protein bağlantı yeri, <:Ekzon.

Midkin geninin promotör bölgesinde, retinoik asit reseptörü (Muramatsu 2002) ve Wilm's tümör süpresör geninin ürünü için fonksiyonel bağlanma yerleri vardır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Bu bölgeler, sırasıyla retinoik asit ile uyarılmış MK ekspresyonu ve Wilm's tümör hücrelerinde MK'nın üstayarlanımı (artırarak düzenleme, up-regulasyon) için önemli sayılırlar. Promoter bölgesinde ayrıca hipoksi ile düzenlenen element (HRE) bulunmaktadır (Şekil 5). Bu elementin iskemide MK'nın uyarılmasında ve çeşitli tümörlerde artmış MK ekspresyonunda rolü bulunabilir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Nükleer Faktör-kappa B (NF-κB) için promoterdaki bağlanma bölgesi, inflamasyonda ve tümörjenezde görev alabilir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Glukokortikoid reseptörü MK ekspresyonunun altayarlanımda (azaltarak düzenleme, down-regülasyon) rol oynar (Kaplan et al., 2003). Glukokortikoid reseptörü eksik olan farelerde, akciğerde MK'nın güçlü ekspresyonu neonatal dönemde devam eder. Daha kapsamlı çalışmalar, glukokortikoidlerin gerçekten de fetal akciğer hücrelerinde MK ekspresyonunun alt-ayarlanımda rolü olduğunu ortaya koymuştur (Kaplan et al., 2003). Glukokortikoidlerin bu işlevi, güçlü anti-inflamatuar bileşikler oldukları ve MK enflamasyonda yer aldığı için ilginç olarak görülmektedir, buna göre MK geni bir glukokortikoid hedefi olarak görülmektedir. Tek nükleotid polimorfizmlerinde (SNP) introndaki bir varyantın, kolorektal karsinom riskinde yaklaşık beş kat artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ahmed et al., 2002).

Pleiotrofin ailesinin diğer bir üyesi olan insan PTN geni çok büyüktür ve MDK ile bağlantısı olmayan kromozomda 7q33'de ayrı bir yerde bulunur. Ancak kodlayan eksonların sayısı, MDK ile paylaşılan intron/ekson sınırları etrafındaki diziler ve PTN'yi kuşatan gen aileleri, her iki genin ortak bir atadan geldiği görüşüyle tutarlıdır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

2.5.2. Midkin proteini

Midkin, hem temel amino asitler hem de sistein açısından zengindir. İnsan midkini, sinyal dizisi ayrıldıktan sonra moleküler kütlesi 13 kDa olan 121 amino

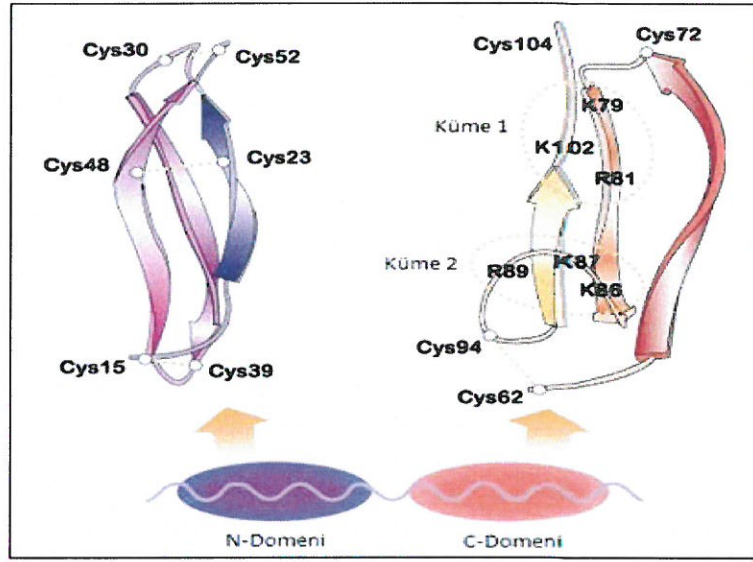
asitten oluşur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). N-terminalindeki iki amino asit (valin-alanin veya diğer amino asitler) ile uzatılmış izoform, sinyal dizisinin ayrılmasındaki farklılıktan dolayı farklı türlerden hazırlanan MK preparasyonlarında yer almaktadır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013) (Şekil 6).

Disülfid bağları, N-terminaline daha yakın olarak konumlandırılmış N-domeni (Amino asitler 15-52) ve C-terminaline daha yakın olarak konumlandırılmış C-domeni (Amino asitler 62-104) oluşturur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013) (Şekil 6). N-domeni üç disülfid köprüsüyle tutulurken, C-domeni iki disülfid köprüsüyle tutulur. Buna ek olarak, N-terminal bölgesinde (Amino asitler 1-14) ve C-terminal bölgesinde (Amino asitler 105-121), sırasıyla N-kuyruğu ve C-kuyruğu olarak adlandırılan kısa kuyruklar vardır. Bir menteşe/eklem (Amino asitler 53-61) N-domeni ile C-domenini birleştirir (Şekil 6) (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Midkin ve PTN arasında yaklaşık % 50 sekans özdeşliği bulunmaktadır, sistein ve triptofan kalıntıları insan MK ve PTN arasında korunmuştur. MK ve PTN'nin omurgalıların tüm türlerinde şimdiye kadar yapılan araştırmalarda bulunduğu görülmüştür (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

İnsan MK'nin üç boyutlu yapısı NMR spektroskopisi ile incelenmiştir (Iwasaki et al., 1997). Bütün molekülün spektrumunun analizi, iki domenin arasında hiçbir özgül etkileşim tespit edilmediğinden dolayı bunların birbirinden nispeten bağımsız olduğunu gösterdi. Buna ek olarak, iki kuyruğunda kararlı yapıları olmadığı gösterilmiştir. Daha sonar, N-domeninin ve C-domeninin yapısı, N-terminali yarı molekülü ve kesilmiş C-terminali yarı molekülü kullanılarak aydınlatılmıştır (Iwasaki et al., 1997). Yarım molekül kuyruktan, domen ve menteşe/eklemin bir parçasından oluşmaktadır (Şekil 6). Hem N-hem de C-domenleri, temel olarak üç antiparalel β -tabakadan oluşur. C-domeninin yapısı, N-domeninden daha karmaşıktır. Özellikle, C-domeninin ortasında (Amino asitler 86-93) bir esnek ilmek vardır ve bu

domende bir cep yaratılır (Şekil 6) (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).



(Muramatsu, 2002).

Şekil 6. MK domenlerinin yapısal organizasyonunun üç boyutlu gösterimi. C-domeninde bulunan küme 1 ve küme 2, heparin bağlanma bölgeleridir. Cys: Sistein kalıntısı.

Midkinin her iki domeninin ve PTN'nin ilgili domenlerinin trombospondin-1, F-spondin ve malarya (sıtma) parazitlerinde bulunan sirkumsporozoit protein de dahil olmak üzere birçok diğer proteinlerde yer alan trombospondin tip-1 tekrarları ile zayıf homolojiye sahiptir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Trombospondin tip-1 tekrarları, genellikle üç disülfid köprüsüyle tutulan üç antiparalel β -tabakadan oluşur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Bu konuda, MK ve PTN'nin N-domenleri iki disülfid köprüsünün tuttuğu C-alanları ile karşılaştırıldığında trombospondin tip-1 tekrarları ile daha yakından ilişkilidir. Ayrıca MK ve PTN'nin domenleri, özellikle N domenleri kesilir. Sonuç olarak, MK ve PTN'nin domenleri sistein tarafından sandviç gibi çevrelenen tekrarlanan triptofan ve arjinin düzenlemelerine sahip ve trombospondin tekrarlarının kararlılığını katkıda bulunan CWR-tabakalı yapı adıyla bilinen trombospondin tekrarlarının merkez yapısını içermez (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Trombospondin tip-1 tekrarlarının ilk β -tabakalarında yer alan iki triptofan kalıntısı, insan MK ve PTN'sinin N-domenin de bulunur. Bununla

birlikte, insan MK'sındaki W20, farklı türlerin MK'sında korunmaz (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Buna ek olarak, MK ve PTN'nin C domeninde sadece bu tür bir triptofan kalıntısı bulunmaktadır. MK ve PTN domenleri sadece trombospondin tip-1 tekrarlarıyla uzaktan ilişkilidir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Evrimsel kökenine bakıldığında, N-ve C-domenlerinin yapısal benzerliği göz önüne alındığında, MK ve PTN için ortak bir primordial molekülün, primordial domeni kodlayan bir primordial genin intrakromozom duplikasyonu sonucu ortaya çıkması ve daha sonra iki proteinin, MK ve PTN, bir kromozom bölümünün duplikasyonu sonucu ortaya çıkması akla yakın açıklamalardır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Homolojiden trombospondin tip-1 tekrarlarına kadar, N-ve C-domenlerinin, trombospondin tekrarlarıyla ilişkili primordial domenden bağımsız olarak evrimleştiği düşünülebilirken, *Drosophila* miplerinin varlığının C-domeninin primordial domen ile daha fazla ilgili olduğu görüşüyle tutarlı olduğu görülmüştür (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

İki domen arasında MK'nın C-domeninin, nörit destekleyici aktivite gibi MK işlevlerinde daha önemli roller oynadığı saptanmış, bu aktivitenin MK'nın C-terminali yarım molekülünde çok fazla, daha az olarak da C-domeninde olduğu gösterilmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Buna ek olarak, bir MK reseptörü olan reseptör proteini tirozin fosfataz zeta (PTP ζ), C-terminali yarım molekülüne bağlanır, ancak N-terminali yarım molekülüne bağlanmaz. İnsan MK'sının C-domeninde iki heparin bağlama bölgesi bulunur. β -tabakalarında bulunan bölgelerden Küme 1 (K79, R81, K102) farklı türlerin MK'lerinde ve aynı zamanda PTN'de korunmuştur. Küme 2 (K86, K87, R89) adı verilen esnek ilmekteki diğer bir bölge yalnızca kısmen korunmuştur. Bununla birlikte, küme 2'de sadece iki temel amino aside sahip olan zebra balığı *Mdkb*'ninde, küme hala heparin bağlayıcı bir bölge olarak işlev görmektedir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Küme 1 sadece heparin bağlanması için değil aynı zamanda MK fonksiyonunda da önemli olarak görünmektedir, bunun nedeni

küme 1'deki bir mutasyonun, nörit-destekleyici aktiviteyi ve PTP ζ 'ye bağlanmayı azalttığı saptanmıştır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

N-domeni, C-domeninden farklı işlevlere sahiptir. İlk olarak, Mdkb'nin N-domeninde başka bir heparin bağlama bölgesi tanımlanmıştır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Yeni bağlanma bölgesinin kilit kalıntısı, insan MK'sında R35'e karşılık gelen R36'dır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). İkincisi, insan MK'sında R45/R47'ye karşılık gelen Mdkb'deki K46/K48, blastokist aşamasında embriyolara yapılan Mdkb enjeksiyonu ile zürafa balığı embriyojenezinin sürdürülebilmesi için gereklidir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Bunun dışında, MK'nın kararlılığı için N-domeni daha önemli gibi görünmektedir. Bunun nedeni, MK'nin C-terminalinin yarısı, tam MK'dan daha fazla kimotripsin sindirimine duyarlıdır (Muramatsu, 2002; Muramatsu 2014; Muramatsu, and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu 2013). N-domeni de dimerizasyonda yer almaktadır. MK kendiliğinden birleşerek bir dimer oluşturur ve dimer transglutaminaz ile çapraz bağlanarak kararlı hale gelir (Kojima et al.,1997). Dimerizasyon, endotelial hücreler tarafından fibrinolitik aktivitenin aktivasyonu gibi bazı MK aktiviteleri için gereklidir. N-domeninde Q42 veya Q44 ve C-domenindeki Q95, reaksiyonda amin akseptörleri olarak görev alır. Amin alıcı bölgesini içeren bir peptit fragmanı A41-P51, fibrinoliz aktivasyonu için MK aktivitesini durdurur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu 2013). Amin alıcı bölgesini içeren bir peptit fragmanı olan A41-P51, fibrinolizin başlatılması için MK aktivitesini durdurur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

N-kuyruğu ve C-kuyruğu, iki domeni bağımsız tutmaktadır. Tam MK'dan her iki kuyruğun çıkarılması, nörit-destekleyici aktiviteyi kuvvetli bir şekilde bastırda da izole edilen C-domeni, orta düzeyde aktivite göstermektedir (Muramatsu, 2002, Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Bununla birlikte, C-kuyruğunu içeren peptidde ve menteşenin ile N-domeninin bir kısmını

içeren başka bir peptidde bakteriyosidal aktivite gözlenmektedir (Svensson et al., 2010; Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Korunan menteşenin, domen oryantasyonu dışında başka işlevleri de olabilir. MdkbG olarak adlandırılan Mutant Mdkb'de menteşe oligo-glisin ile değiştirilmiş olup wild-tip Mdkb'den ayırt edilemeyen tüm yapıyı gösterir (Lim et al., 2013). Aslında, menteşede başka yeni bir heparin bağlama bölgesi bulunmuştur. Bağlanma bölgesi, insan MK'sında K55 ve K56'ya karşılık gelen K56 ve K57'den oluşur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Dahası bu bölge zebra balığı embriyolarına enjekte edildikten sonra, MdkbG mutanı, vahşi tip Mdkb ile enjeksiyondan sonra saptanandan farklı olarak anormal bir durum sergilemiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Midkin proteinleri çeşitli yollarla üretilmiş ve hatta kimyasal olarak sentezlenmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Rekombinant MK üretmek için organizmaların seçimi gözden geçirilmiştir ve en önemli husus, anormal disülfid bağlarının oluşmasını engellemektir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Buna ek olarak, MK proteinini kullanmak için pratik bilgiler açıklanmıştır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Özellikle, MK'nın damara yapışmasının önlenmesinin çok önemli olduğu saptanmıştır.

Son olarak, daha uzun bir yarı ömre sahip MK'yi üretmek için, sinyal dizisinin farklı bölünmesinden dolayı oluşan N-terminal tarafındaki bir VA genişletilmiş dizisine sahip olan uzatılmış biçim, çok önemli bir role sahiptir. L hücreleri tarafından üretilen ve heparin-agaroz kolon kromatografisi ile saflaştırılan fare MK'nın % 5'i VA genişletilmiş izoform olmakla birlikte geri kalanı geleneksel formdur ancak insan plazmasındaki heparin salgılatan MK, VA genişletilmiş form olarak saptanmıştır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

İnsan hepatoma hücreleri tarafından üretilen iki MK izoformu, bir poli-sülfoetil A kolonu kullanarak ayrıldı (Muramatsu, 2014). Yaklaşık % 60'ı uzatılmış formdaydı ve geri kalanı geleneksel formdu. Genişletilmiş formu heparine daha zayıf bağlanmış ve kimotripsin sindirimine daha dirençli iken, nörit-destekleyici aktivitede hiçbir fark bulunmamıştır. Ayrıca, bu araştırmacılar uzatılmış formu tespit etmek için spesifik bir immünolojik test prosedürü geliştirdiler ve genişletilmiş formun heparin uygulamasıyla daha kolaylıkla kanda serbest bırakıldığını ve muhtemelen daha az heparin afinitesine ve proteaza karşı nispi dirence bağlı olarak kanda daha uzun kaldığını buldular. Kanser hastalarından alınan serumda, konvansiyonel form her zaman tespit edildi ve genişletilmiş form ise sınırlı olgularda tespit edilirken, amniotik sıvıda ise çoğu durumda genişletilmiş form bulundu (Muramatsu, 2014).

Bunun sonucunda Valin-Alanin (VA) genişletilmiş form, insanlarda doğal olarak bulunan MK'nin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Kimotripsin MK'yi yalnızca menteşe bölgesinde parçalamasına rağmen (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). VA uzantısına bağlı N- ve C-domenlerinin etkileşimlerindeki değişikliklerin, kimotripsin direnci ile sonuçlanması beklenmektedir. Aynı husus, genişletilmiş formun daha zayıf heparin bağlama aktivitesi için de geçerlidir. Uzatılmış formun proteolize karşı nispi direnci büyük ölçüde önemlidir ve N-terminal dizilerinde daha fazla değişiklik, daha uzun bir yarı ömre sahip MK'yi üretmek için kullanılabilir (Muramatsu, 2002; Muramatsu 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

2.5.3. Midkin sinyal yolağı

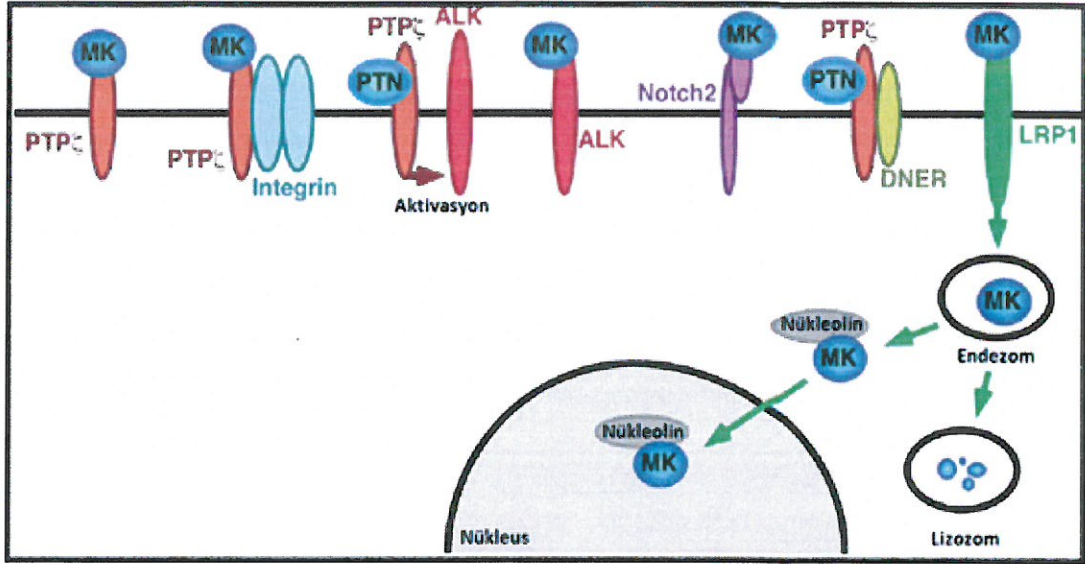
Midkin, i) Embriyonik nöronlar, nöral öncü hücreler ve B hücreleri gibi hedef hücrelerin yaşam sürelerinin uzatılması, ii) Renal epitelyal hücrelerde endotelial hücrelerde ve kemik iliği hücrelerinde diğer sitokinlerin ekspresyonlarını arttırmak, iii) Embriyonik nöronların, makrofajların, nötrofilleri ve osteoblast benzeri hücrelerin göçünü arttırmak olmak üzere üç kategoride sınıflandırılabilen birçok *in vitro* aktivite gösterir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Göçün artırılmasını sağlayan alt tabakaya (substratum) bağlanan midkin olup diğer aktiviteler çözünür midkin tarafından gerçekleştirilmektedir. Göçün artmasını sağlamaya ek olarak midkinin, hücre iskeletinin dahil olduğu başka bir deyişle nörit

büyümesinin artırılması, Asetilkolin (ACh) reseptörünün nöromusküler kavşakta kümelenmesi ve fibroblastlarla kollajen jel kasılmasının başlatılması gibi süreçlerde de rolü bulunmaktadır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Hücre farklılaşmasına bağlı midkin aktiviteleri, tolerogenik dendritik hücreler aracılığıyla düzenleyici T-hücrelerinin farklılaşmasının artırılmasını, adiposit farklılaşmasının ve epitelyal-mezenşimal geçişin başlatılmasını içerir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Diğer faaliyetler içinde büyümenin fibrinolitik aktivitenin, anjiyojenik aktivitenin ve anti-mikrobiyal aktivitenin artırılması yer almaktadır. Bu aktivitelerden bazıları, midkinin sinyalizasyon sistemini analiz etmek için kullanılmıştır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Midkin sinyaline büyük ölçüde hücre yüzeyi reseptörleri aracılık eder ve çeşitli membran proteinleri MK reseptörleri olarak tanımlanmıştır (**Şekil 7**). Bunlar arasında en çok kurulan PTPÇ'dir. PTPÇ, hücre içi tirozin fosfataz bölgesi ve hücre dışı kondroitin sülfat zincirine sahip transmembran bir proteindir ve aynı zamanda bir pleiotrofin reseptörü olarak da görev yapar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu 2014; Kodamatsu, 2013). PTPÇ'nin kondroitin sülfat kısmı, kondroitin sülfatın enzimatik uzaklaştırılmasından sonra midkine bağlanma açısından önemlidir, midkine yüksek afiniteli bağlanma bölgesi (K_d , 0.58 nM) kaybolur ve sadece MK düşük afiniteli bağlanma yeri (K_d , 8.8 nM) kalır (Muramatsu 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu ve Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).



(Kodamatsu and Kishida, 2013)

Şekil 7. MK-reseptör komplekslerinin şematik gösterimi.

Bir MK reseptörü olarak, PTPÇ'nin embriyonik nöronların (Maeda et al., 1999) ve UMR106 osteoblast benzeri hücrelerin göçüne, embriyonik nöronların ve B hücrelerinin hayatta kalmasına ve osteoblastların çoğalmasının baskılanmasına katıldığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Şekil 7). PTPÇ'nin midkin veya pleiotrofin ile ligand-reseptör etkileşimlerinden sonra, β -katenin gibi sitoplazmik sinyal moleküllerinde tirozin fosforilasyonu artar. Ligand uyarımından sonra PTPÇ'nin dimerize olması, hücre içi fosfataz bölgesinin inaktivasyonuna yol açar ve artmış tirozin fosforilasyonu ile sonuçlanır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Protein tirozin fosfataz zetanın uzun ve kısa olmak üzere iki izoformu vardır. Bunlar fonksiyonel olarak farklıdır. Uzun olan izoformu hipokampal nöronlarda pleiotrofinin etkisine aracılık eder. PTN, hipokampal dendritik sinapsların yoğunluğunu artırır ve uzun formun aşırı ifadesi yoğunluğu azaltır. PTPÇ'nin fonksiyonu için diğer gösterilen yollardan biri de PTPÇ'nin Src'yi aktif hale onu defosforile ederek getirmesidir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Fosfoinositol-3-kinaz (PI3K), mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK), Src ailesi kinazı ve protein kinaz C (PKC) gibi multipl kinazlar, PTPÇ'nin aşağı sinyal akışında rol oynamaktadır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu 2013). Protein kinaz B (Akt)'nin MK tarafından

başlatılan fosforilasyonu sinyal sisteminde PI3K'nin rolünü göstermiştir (Muramatsu 2002; Muramatsu 2014; Muramatsu ve Kodamatsu; 2014; Kodamatsu 2013). B lenfositlerinin midkin tarafından sağkalımının artırılması, dalak tirozin kinazi (Syk) ve Akt'nin PTP ζ aracılığıyla gerçekleşen artan fosforilasyonunun, B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ekspresyonunun artışına yol açması ile gerçekleşir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Beta katenin'in defosforilasyonu, kanonik Wnt sinyal yolunda kritik bir adımdır (Şekil 7). Midkinin osteoblastlarda β -katenin'in PTP ζ aracılı defosforilasyonunu durdurarak Wnt sinyalini engellediği ve böylece osteoblast çoğalmasını durdurduğu gösterilmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Notch ile ilişkili bir reseptör olan Delta/Notch benzeri EGF Tekrarı Taşıyan Reseptör (DNER, h/Notch Like EGF Repeat Containing Receptor), PTP ζ ile bir kompleks oluşturur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013) (Şekil 7). PTN uyarımından sonra, DNER'in tirozin fosforilasyonu muhtemelen PTP ζ aktivitesinin durdurulması ile artar, bu da DNER'in endositozunun durmasına yol açar ve en sonunda da nöroblastoma hücrelerinde nörit büyümesinin artırımı ile sonuçlanır. Benzer bir mekanizma, embriyonik nöronlarda midkinin neden olduğu nörit büyümesinde de görülmektedir.

Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein (LRP)-1 (Muramatsu et al., 2000), $\alpha_4\beta_1$ -integrin ve $\alpha_6\beta_1$ -integrin gibi MK reseptörlerinin yeni sınıfları, 13. gün fare embriyolarında midkin bağlayıcı proteinlerin analiz edilmesi ile gösterilmiştir (Şekil 7). LRP-1 düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör ailesinin bir üyesidir ve midkine 3.5 nM'lik bir Kd ile bağlanır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Aile üyeleri arasında megalin, LRP-6'nın ve apo-E reseptör-2'nin ektodomenleri de midkine bağlanır, ancak bu bağlanmalar LRP-1'in bağlanmasına göre daha az afinite ile gerçekleşir. LRP-1, embriyonik nöronların hayatta kalmasında ve fare embriyonik kök hücrelerinde hipoksik hasarın önlenmesinde bir midkin reseptörü olarak görev yapar. Sonraki aşamada MK sinyali, Akt ve hipoksi

ile indüklenbilir faktör 1-alfa (HIF-1 α) üzerinden iletilir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Alfa4Beta1-integrin ve Alfa6Beta1-integrin, sırasıyla UMR-106 osteoblastik hücrelerinin göçünde ve embriyonik nöronların nörit büyümesinde midkin reseptörü olarak işlev görür (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013) (Şekil 7). Buna ek olarak, bu integrinler, LRP-6 ektodomain ve PTP ζ , bir moleküler kompleks oluştururlar ve MK bu kompleks oluşumunu artırır (Muramatsu, 2002, Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Midkinin kompleks oluşturmasının sonucu olarak, integrinin aşağı sinyal sisteminde yer alan paksilinin tirozin fosforilasyonu, UMR-106 hücrelerinde artar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). İnsan baş ve boyun karsinom hücrelerinde midkin, tetraspanin ve $\alpha 6\beta 1$ -integrine bağlanır ve bunların birleşmesini güçlendirir, bu da fokal adezyon kinaz, paksilin ve transkripsiyonun sinyal ileticileri ve aktivatörler 1 alfa (STAT1 α) yolunun aktivasyonuna yol açar ve bunun sonucunda da karsinom hücrelerinin göçü ve invaziv olma özellikleri artar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu ve Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013). $\alpha V\beta 3$ -integrin ve PTP ζ , insan umbilikal ven endotelial hücrelerinin göç etmesinde PTN reseptörleridir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). PTN, karşılıklı olarak etkileşime giren her iki reseptöre doğrudan bağlanır. İlginç olarak midkin, $\alpha V\beta 3$ -integrinine bağlanmaz ve bu hücrelerin göçünü artırmaz (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013). Bütün bu sonuçlar integrinlerin hücre göçünü arttırmak ve moleküler kompleks içinde işlev görmek için midkin ve pleiotrofin reseptörlerinin bileşenleri olduğunu göstermektedir.

Nöroglikan C, beyne özgü kondroitin sülfat proteoglikandır ve CG-4 oligodendroglial öncü benzeri hücrelerin işlem uzamasında bir MK reseptörü olarak görev yapar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Midkin kondroitin sülfat içermeyen nöroglikan C'ye bağlanabilir, ancak kondroitin sülfatın varlığı bağlanma afinitesini artırır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014;

Kodamatsu, 2013; Xu, 2014). Daha ileri çalışmalar, nöroglukan C'nin moleküler kompleksde de işlev gördüğünü ortaya koymuştur (Muramatsu and Kodamatsu, 2014).

Anaplastik lenfoma kinaz (ALK), anaplastik büyük hücreli lenfoma gibi birkaç habis tümörün tümörögenezinde yer alan transmembran tirozin kinazdır (Kadamatsu et al., 2013) (Şekil 7). ALK'ın MK ve PTN reseptörü olduğu gösterilmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013). Yumuşak agarda SW-13 hücrelerinin midkine bağlı büyümesi, ALK'ın aktivitesini gerektirir. Ayrıca, ALK olgunlaşmamış sempatik nöronların midkine bağımlı çoğalmasında ve glioblastoma hücrelerinin kannabinoide karşı midkine bağlı direncinde merkezi bir rol oynar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu 2013). MK tarafından uyarıldıktan sonra ALK, MAPK, PI3K ve NF- κ B'nin aktivasyonuna yol açan insülin reseptörü substrat-1'i fosforile eder (Muramatsu 2002; Muramatsu 2014; Muramatsu ve Kodamatsu; 2014; Kodamatsu 2013; Xu 2014). MK ve ALK arasındaki belirgin K_d değerinin, ALK-eksprese eden hücrelere bağlanması baz alınarak 170 pM olduğu bulunmuştur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Xu, 2014). Ancak, ALK'nın yüksek afinite ile midkine doğrudan bağlanıp bağlanmadığı henüz saptanmamıştır. Ayrıca ALK, LRP-6 ektodomeni ve integrinleri ile bir kompleks oluşturmaktadır (H. Muramatsu et al.,Yayınlanmamış sonuçlar; Muramatsu 2014). Bundan dolayı ALK, MK için reseptör kompleksinde çalışması olasılığı yüksektir. Gerçekten de, PTN ile başlatılan ALK aktivasyonuna, MCF-7 hücrelerinde PTP ζ aracılık eder (Muramatsu 2002; Muramatsu 2014; Muramatsu ve Kodamatsu; 2014; Kodamatsu 2013; Xu 2014). Buna ek olarak, MK ile ALK PI3K/Akt/NF- κ B/ Tropomiyozin reseptör kinaz B (TrkB) sinyal yolunun aktivasyonu ile ayrıca anoikis direncinden sorumludur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Xu, 2014).

Notch ailesine ait bir transmembran protein olan Notch-2, ölümsüzleştirilmiş HaCaT keratinositlerinin epitelyal-mezenkimal geçişini tetikleyen bir MK reseptörüdür (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Xu, 2014) (Şekil 7). MK ve Notch-2'nin doğrudan bağlanması, maya 2-hibrit analizi ve ko-immünopresipitasyon ile gösterilmiştir. MK

uyarımından sonra, JAK2 ve STAT3, Notch sinyal sisteminin transkripsiyon faktörü olan split-1 (Hes1) güçlendiriciye/hızlandırıcıya (Enhancer) bağlanır ve bu da STAT3'ün artan fosforilasyonu ve aktivasyonuna yol açar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör ve ark.,2011; Xu, 2014). Notch-2 aynı zamanda pankreatik duktal adenokarsinoma hücrelerinde epitelyal-mezenkimal geçiş ve kemodirenci harekete geçirmek için midkin reseptörü olarak da görev yapar (Güngör ve ark., 2011). Bu hücrelerde MK, Notch-2'nin sitoplazmik domeninin ayrılmasına neden olur ve Hes1 ile NF-κB'nin ekspresyonunu uyarır. Buna ek olarak Notch-2, nöroblastoma gelişiminde midkin sinyal yoluna katılır (Kishida et al., 2012). Notch sinyal sistemi, keratinositlerde MK uyarımından sonra interlökin (IL)-8 geni aktive edildiği için kemokinlerin MK ile başlatılan üretimine de dahil olabilir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al.,2011; Xu, 2014). Notch-2'nin reseptör kompleksine de etki yapma olasılığı, bir Notch-ilişkili transmembran proteini olan DNER'in PTPÇ ile kompleks oluşturması nedeniyle göz önünde tutulmaktadır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu, 2014).

Midkin faaliyetlerinin çoğu heparin veya heparitinaz veya kondroitinaz enzimleri ile sindirilerek engellenir ve bu da midkin sinyal sisteminde karbonhidrat tanınmasının önemini gösterir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu, 2014). Heparan sülfat trisülfatlanmış birimleri ve kondroitin sülfat E birimleri olmak üzere iki oligomerik karbonhidrat yapısının, midkine kuvvetli bir şekilde bağlandığı gösterilmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu, 2014). Kondroitin sülfat zincirleri, PTPÇ ve nöroglikan C'de bulunmaktadır.Buna ek olarak, bir başka kondroitin sülfat proteoglikan olan versikan da midkine bağlanır. Versican bir transmembran protein olmamasına rağmen, bir periselüler protein olarak midkinin reseptöre taşınmasında işlev görebilir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu, 2014) .

Sindekanlar ve glipikan-2, MK bağlanma aktivitesi bulunan heparan sülfat proteoglikanlardır. Sindekan-4'ün midkine bağlanma Kd değeri 0.30 nM'dir. Nöroblastoma hücrelerinin sindekan-3 veya glipikan-2 cDNA'ları ile transfeksiyonu

sonucunda midkin kaplı altabakadaki nöritlerin uzadığı görülmüştür (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu, 2014).

Yukarıda belirtildiği gibi birkaç transmembran protein MK reseptörü olarak tanımlanmış olmasına rağmen, hiçbiri MK'ya çok yüksek bir afinite ile bağlanmaz ve sadece midkin/pleiotrofin ailesine özgü değildir. Bu nedenle, midkinin etkisini göstermek için bir reseptör kompleksinde sık sık birden fazla bileşene bağlandığı düşünülmektedir. Dimerik midkinin reseptör kompleksindeki farklı bileşenlerin birleşmesini arttırmak için uygun olması nedeniyle midkinin dimer oluşturabilme özelliği çok önemlidir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013).

Midkin reseptörlerinden aşağıya doğru olan sinyal sistemleri çeşitlidir, ancak PI3K/Akt sistemi ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK veya MAP kinazı) birçok durumda merkezi rol oynamaktadır. Özellikle, PI3K /Akt sistemi embriyonik nöronların) ve B hücrelerinin hayatta kalmasında, embriyonik kök hücrelerde hipoksik hasarın önlenmesinde (Lee et al., 2012) ve osteoblast benzeri hücrelerin göçünde rol oynar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu et al., 2014). Midkin ile sağkalımın artırılmasında, sinyalden sonra kaspazın baskılanması ve Bcl-2'nin aktivasyonu görülmüştür (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu et al., 2014).

Faaliyetleri MK ile tetiklenen sinyal kaskadları tarafından düzenlenen transkripsiyonel faktörler arasında NF- κ B, Hes-1, HIF-1 α ve STAT'lar yer almaktadır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu 2013; Güngör et al., 2011; Xu et al., 2014).

Transkripsiyonun sinyal iletilicileri ve aktivatörleri alfa'nın aktivasyonu, baş ve boyun karsinom hücrelerinin göçüne sebep olurken, STAT3'ün aktivasyonu ise keratinositlerin epitelyal-mezenkimal geçişi ile 3T3-L1 hücrelerinin proliferasyon ve adipogenezinde görev alır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu et al., 2014). Bununla birlikte, tolerojenik dendritik hücreleri içeren kemik iliği hücrelerinde midkin, src homoloji bölgesi 2 domeni içeren fosfataz (SHP)-2'yi aktive eder (Muramatsu 2002;

Muramatsu 2014; Muramatsu ve Kodamatsu; 2014; Kodamatsu 2013; Güngör et al., 2011; Xu et al.,2014). Bu etki, IL-10'nun uyarımı üzerine STAT3α'nın azalmış fosforilasyonuna ve IL-12'nin artırılmış üretimine yol açar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Güngör et al., 2011; Xu et al., 2014) .

Reseptör aracılı sinyal sistemine ek olarak, midkinin bir kısmının etkisini doğrudan çekirdeğe yaptığı gösterilmiştir. MK, LRP-1'e bağlandıktan sonra içeriye alınır ve daha sonra nükleoline veya laminin bağlayıcı protein öncüsüne bağlanarak çekirdeğe nakledilir ve hücre sağkalımının artırılmasında yer alır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Xu et al.,2014). Buna ek olarak, çekirdekçiğe transfer edilen MK, ribozomal RNA sentezini arttırır (Dai et al., 2006).

2.5.4. Midkinin metabolizmada önemli biyolojik görevleri

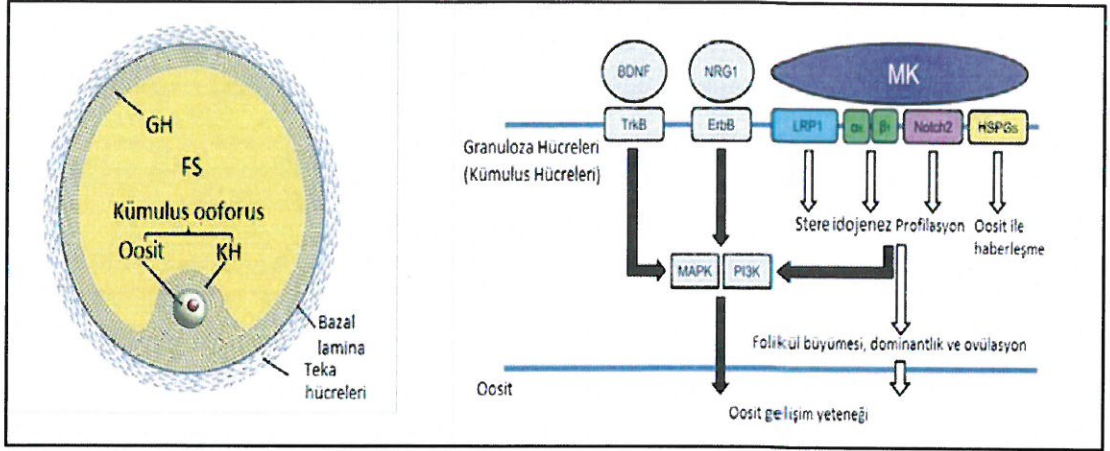
2.5.4.1 Midkinin gelişim ve üremedeki rolü

Midkin gelişim, üreme, onarım, inflamasyon, doğuştan gelen bağışıklık, kan basıncı ve anjiyogenezin kontrolünde rol oynar. Midkin ekspresyonunun biçimi, MK'nın hem geliştirme hem de onarımda rol oynadığı görüşüyle tutarlıdır. Bu nedenle MK, embriyogenez sırasında özellikle orta gebelik döneminde kuvvetli bir şekilde eksprese edilmektedir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014, Muramatsu, 2006). Yetişkinlerde, belirgin MK ekspresyonu sadece böbrek, bağırsak, epidermis, bronşiyal epitel, lenfositler ve makrofajlar, gibi kısıtlı alanlarda gözlemlenirken MK ekspresyonunun yaralanma sonrası birçok dokuda indüklendiği de saptanmıştır.

Midkinin embriyolardaki güçlü ekspresyonuna rağmen, MK geninde eksiklik olan fareler büyük morfolojik bozukluklar olmadan doğarlar ve görünüşte normal olarak çoğalırlar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006). Aynı durum, PTN geninde eksik olan fareler için de geçerlidir. Ancak, farelerde her iki gende yetersizlik olduğunda ki bunlar heterozigot olarak yetersiz olan farelerin çaprazlanmasıyla üretilirler, Mendelian segregasyonunun beklediği sıklığın üçte biri ile doğarlar (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). Ayrıca, çift yetersizlik bulunan fareler küçüktür

(Muramatsu et al., 2006) ve sıklıkla erişkinliğe ulaşmadan önce ölümler (H. Muramatsu et al., 2006). MK/PTN çift yetersizliği bulunan fareler de ciddi kadın infertilitesi gösterir. Çifte kusurlu farelerin yaklaşık % 80'i, tekrarlanan çalışmalardan sonra bile infertil olarak kalmıştır (Muramatsu, 2006; Muramatsu, 2002, Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006). İnfertilitenin başlıca nedeni olarak, foliküler olgunlaşmanın bozulması gösterilmiştir. Folikül epitelinde ve yumurtalıktaki granüloza hücrelerde eksprese olan MK ve PTN, foliküler olgunlaşma için gerekli olduğu gösterilmiştir. Bu görüşle tutarlı olarak, MK'nin izole edilmiş sıgır oositlerinin olgunlaşmasını ve onu izleyen fertilizasyonun gerçekleşmesini ve blastokistlere gelişmeyi desteklediği saptanmıştır (Ikeda and Yamada., 2014).

Ikeda and Yamada'nın (2014) yaptığı çalışmada sunulan modelde kümulus-granuloza hücrelerindeki reseptör komplekslerine bağlanan MK'nın, Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) veya nörogulin-1 (NRG-1), over foliküllerinde bulunan diğer oositetrofik faktörlerin de ortak sinyal yolları olan MAPK ve PI3K yollarını aktive ettiğini göstermiştir (Şekil 8; Siyah oklar) (Ikeda ve Yamada., 2014). Bu modelde 1) Granüloza hücreleri üzerinde olan MK reseptör kompleksinin her bir bileşeninin, folikül büyümesinin, dominantlığının ve farklılaşmasının önemli bir düzenleyicisi olarak işlev gördüğü gösterilmiştir, 2) LRP1 ve $\alpha 6\beta 1$ integrinin steroidojenezi düzenlediği ifade edilmiştir, 3) Notch 2'nin, granüloza hücre çoğalmasını arttırdığı belirtilmiştir, 4) Heparin sülfat proteoglikanların (HSPG'lerin) kümulus ooforus komplekslerinin olgunlaşmasında rolü olan oositin salgıladığı parakrin faktörlerin aracılık ettiği oosit-kümüulus iletişimine katkıda bulunduğunu ve MK'nın bu çok işlevli granüloza (kümüulus) hücrelerini oositin tamamıyla olgunlaşması ve atılması yönünde aktive ettiğini ve bunun sonucunda oositlerin gelişimsel kapasitesi arttırdığı gösterilmiştir. (Şekil 8, Beyaz oklar). Bunun yanında model, MAPK ve PI3K yollarının da folikül büyümesi, dominantlık ve ovülasyon da rolü bulunduğunu göstermektedir (Şekil 8, Siyah oklar) (Ikeda and Yamada, 2014).



(Ikeda and Yamada, 2014).

Şekil 8. Oositin gelişim kapasitesinin artırılması ile sonuçlanan MK-reseptör aktivitesinin şematik modeli. **GH:** Granuloza hücreleri, **FS:** Folikül sıvısı, **KH:** Kümulus hücreleri.

Yukarıdaki sonuçlar MK/PTN ailesinin gelişim ve üremedeki önemini ortaya koymuş ve MK kusurunun PTN tarafından büyük ölçüde telafi edildiğini göstermiştir. Bu telafi etme, dokuda sadece hafif bir PTN ekspresyonu olsa bile gerçekleşebilmektedir, çünkü bazı organlarda MK PTN ekspresyonunu baskılamaktadır (Herradon et al., 2005). Bu nedenle, MK eksikliği olan farelerde kalp, omurilik, göz ve aort gibi organlarda PTN ekspresyonu belirgin bir şekilde artmaktadır (Herradon et al., 2005).

Gelişim ve üreme kusurlarına ek olarak, çift yetersizlik bulunan farelerde işitsel kusurlar olduğu da saptanmıştır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006). Sadece MK veya PTN'de yetersizlik görülen fareler işitsel bir bozukluk gösterse de, çift yetersizlik görülen farelerde bu durumun daha şiddetli olduğu saptanmıştır. Farelerdeki bu bozukluğun, koklear kanalın stria vaskularisindeki bir ara hücrelerin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones 2014; Muramatsu, 2006).

Fare embriyogenezinde MK'nın, embriyonik ektoderimde 5.5 embriyonik günde eksprese edildiği gösterilmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu ve Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006).

Ekspresyonun tipi ile uyumlu olarak, embriyonik ve mezenkimal kök hücrelerde MK eksprese edildiği ve sağkalımlarında rolü olduğu açıklanmıştır (Zhao et al., 2014; Yao et al., 2010).

Midkin, gebeliğin ortasında yoğun bir şekilde eksprese edilmektedir ve dağılım tipine göre MK'nin nörojenez, epitelyal-mezenkimal etkileşimler ve mezoderm yeniden modellemesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006).

Nörojenez ile ilgili olarak, zebra balığı sistemini kullanarak yapılan çalışmalar, Mdka'nın, omurilik veya notokord hücrelerin ventral kısmını oluşturan orta taban plakası hücreleri haline gelmeleri için öncü hücrelerin kader kararının son aşamasına katıldığını ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, nöral krest hücreleri ve duyuşal nöronların gelişimi için Mdkb gereklidir. *X. laevis*'de MK, nörojenez artırır ve aktivin varlığında mezoderm farklılaşmasını bastırır. Ayrıca MK mezensefalik nöronların sağ kalımını artırarak dopaminerjik gelişimde rol oynar ve MK eksikliği olan farelerde Parkinson benzeri sendrom görülmektedir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006).

Embriyonik sıçan beyninin serebral korteksinde MK, hem nöral kök hücrelerin yer aldığı hem de kök hücrelerden türetilen ve farklılaşmış nöronların göçü için kılavuz görevi gören radyal gliyal süreçlerin devam ettiği bazal tabakada yer alır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Muramatsu, 2006). Bu lokasyon tipi, nörojenezde MK'nin üstlendiği çeşitli roller ile tutarlıdır. Nörojenezde MK aktivitesinin bir temeli olarak MK, nöral kök hücreler de dahil olmak üzere nöral öncü hücrelerin büyümesini ve hayatta kalmasını artırır. MK ayrıca embriyonik nöronların hayatta kalmasını, göç ve nörit gelişimini artırır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Muramatsu, 2006). Nöral öncü hücrelerin MK aktivitesi ile ilişkili olarak, primordiyal germ hücrelerinin büyümesini ve hayatta kalmasını da arttırdığı gösterilmiştir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Muramatsu, 2006).

Midkin genellikle epitelyal dokularda, bağırsak, pankreas ve akciğer gibi epitelyal-mezenkimal etkileşimlerin meydana geldiği embriyonik organlardaki mezenkimal dokulara göre daha güçlü bir şekilde eksprese edilir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Muramatsu, 2006). MK'nin epitelyal-mezenkimal etkileşimlerdeki rolü, anti-MK antikoru kullanılarak dış germinin gelişiminin engellenmesiyle doğrulanmıştır (Mitsiadis et al., 1995). Epitelyal-mezenkimal etkileşimler sırasında MK'nin etki şekli, düz kas hücrelerini içeren kollajen jellerinin endotel hücrelerle kaplandığı bir yapay kan damarı modeli kullanılarak yapılan bir çalışma ile gösterildiği gibi karmaşıktır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006). Bu sistemde endotel hücreleri, düz kas hücrelerinin IL-8 salgılayacak şekilde uyararak MK salgılar. IL-8 daha sonra büyümelerini desteklemek için endotel hücreleri üzerinde etki eder. Dolayısıyla, MK iki hücre katmanının karmaşık etkileşimleri arasında merkezi bir konumda yer almaktadır.

Mezoderm modelleme ile ilgili olarak MK, adiposit farklılaşmasını, kondrojenez ve osteoklast farklılaşmasını uyarır, farklılaşmayı artırır ve osteoblastların çoğalmasını durdurur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones 2014; Muramatsu, 2006).

2.5.4.2 Midkinin onarım ve inflamasyondaki rolü

Midkin ekspresyonunun, beyin, kan damarları, böbrek, ve kalp gibi bir dizi hasar görmüş dokuda arttığı saptanmıştır. MK'nin hasarlı dokunun onarımındaki rolü, uygulanan MK'nin retinanın ve iskemik beyin hasarının düşük dereceli oluşturulmuş dejenerasyonunu azaltmadaki etkileri ile gösterilmiştir (Muramatsu 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). Daha sonra kalbin iskemik yaralanması da MK uygulaması ile azaltılmıştır (Horiba et al., 2006). Harici olarak uygulanan MK'nin etkisiyle tutarlı olarak MK geninde eksiklik olan fareler, iskemi sonrası ciddi kalp hasarı sergilemiştir (Horiba et al., 2006). Bu MK aktivitesinin temeli, etkilenen hücrelerin hayatta kalmasına yol açan anti-apoptotik MK aktivitesi olarak saptanmıştır (Horiba et al., 2006).

Bununla birlikte, böbreklerdeki iskemik yaralanma, MK tipi kusurlu farelere göre vahşi tip farelerde daha şiddetlidir (Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013). Bunun nedeni iskeminin oluşturduğu MK'nın, yaralı renal epitelyuma inflamatuvar lökositleri yönlendirmesidir. Kısmi hepatektomi durumunda uyarılmış MK, doku onarımının yanı sıra inflamasyonu da artırır ve oluşturulan denge, biraz onarımın lehine gelişir: onarım süreci, vahşi tip farelerde, MK eksikliği olan farelere göre biraz daha fazla artmış durumdadır (Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014).

Midkin, beyindeki nöroinflamasyonda önemli bir rol oynamamaktadır çünkü MK astrositleri veya mikrogliaları aktive etmemektedir (Muramoto et al., 2013). Genel olarak MK beyinde koruyucu bir rol oynar (Muramatsu, 2014). Örnek olarak, MK eksikliği olan farelerde artmış amfetamin kaynaklı astrositoz görülmektedir (Gramage et al., 2011). Ayrıca, MK mikrogliaların göçünü artırır ve muhtemelen amiloid P-peptidin ortadan kaldırılmasında da katkısı bulunmaktadır (Muramatsu, 2014).

Midkin, iki farklı aktivite uygulayarak inflamatuvar süreçlere katılır. Öncelikle MK hem nötrofillerin hem de makrofajların göçünü MK'nin doğrudan etkisi ve kemokin ekspresyonunu uyararak arttırmaktadır (Muramatsu 2014; Muramatsu ve Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). İkincisi, MK, düzenleyici T hücrelerinin farklılaşmasını, farklılaşma için gerekli olan tolerojenik dendrik hücrelerin gelişimini inhibe ederek kısmi olarak baskılamaktadır (Muramatsu, 2014; Muramatsu ve Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones 2014). MK tarafından artırılan iltihaplanma, bağışıklık sisteminin bir parçasıdır. Ayrıca MK anti-mikrobiyal aktiviteye de sahiptir ve doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir bileşeni olarak kabul edilmektedir (Svensson et al., 2010; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu; 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). Ayrıca MK'nin B hücrelerinin hayatta kalmasını arttırdığı bulunmuştur (Muramatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). Böylece MK, yaralanma durumunda görülen enfeksiyona karşı koymada farklı roller üstelemektedir.

Midkinin anjiyojenik aktiviteye de sahip olduğu da saptanmıştır (Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). MK'nın bu farklı faaliyetlerinin, yaralanmış dokunun onarımını desteklemeyi hedeflerken, bazı aktivitelerin de aşırı etkisinin doku hasarına yol açtığı da görülmüştür.

2.5.4.3 Midkinin çeşitli hastalıklardaki rolü

Midkinin çeşitli aktiviteleri, çeşitli hastalıkların patogeneğinde rolünün temelini oluşturmaktadır. MK'nın inflamasyondaki önemli rolüyle uyumlu olarak MK eksikliği, iskemide neointima oluşumu (Restenoz modeli), iskemik renal hasarı, ilaca bağlı böbrek hasarı, antikor kaynaklı artrit (Romatoid artrit modeli), cerrahi sonrası adezyon ve deneysel otoimmün ensefalit (Multipl skleroz modeli) gibi çeşitli inflamasyonla ilişkili hastalıkları azaltır, bu da yukarıda belirtilen hastalıkların tedavisi için MK'yı hedef alan ilaç geliştirme modellerini artırmaktadır (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006).

Ayrıca MK aktivitesi, insan habis tümörlerinin çoğunda artar ve bu hücrelerin büyümesini, hayatta kalmasını, göçünü, epitelyal-mezenkimal geçişini ve anjiyojenik aktivitesini artırarak tümör gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunur (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006; Erguven ve ark., 2016, Sabancı ve ark., 2014). Tümördeki güçlü MK ekspresyonu hastaların zayıf prognozu ve kemoterapiye direnç ile ilişkilidir (Erguven ve ark., 2016; Sabancı ve ark., 2014; Aras ve ark., 2016). Noskapin adlı kemoterapik ajanların glioblastoma (GBM) hücrelerinde denendiği kültür çalışmasında MK'nın otofajinin hücre ölümüne veya sağkalım /dirençine geçişindeki modülatörlerden biri olabileceğini gösterilmiştir (Erguven ve ark., 2011).

Böylece anti-MK reaktiflerinin habis hastalıkların tedavisinde etkili olması beklenmektedir (Muramatsu, 2002; Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Muramatsu, 2006, Erguven ve ark., 2016, Sabancı et al., 2014). Ek olarak, MK'nın promotör bölgesi, tümör hücrelerindeki toksik genleri eksprese etmek için kullanılmaktadır (Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014; Erguven ve ark., 2016; Sabancı ve ark., 2014). Ayrıca dolaşımdaki MK umut veren bir tümör belirteçidir (Muramatsu, 2014; Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014).

Midkin, renin-anjiyotensin sistemi ile kan basıncının düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır (Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). Parsiyel nefrektomi, akciğerde MK ekspresyonunu uyarır ve uyarılan

MK, hipertansiyona yol açan, anjiyotensin dönüştürücü enzimin ekspresyonunu artırmak için endotelial hücreler üzerinde etki eder (Muramatsu and Kodamatsu, 2014; Kodamatsu, 2013; Jones, 2014). Bu nedenle MK, kronik nefritte hipertansiyon etiolojisinde anahtar bir molekül olarak kabul edilmektedir.

Yapılan çalışmalarda, otizm spektrum bozuklukları (ASD) patogeneğinde artan midkin seviyelerine rastlamıştır (Esnafoğlu ve Cırrık, 2018). Plazma MK, Henoch-Schonlein purpura ve Henoch-Schonlein purpura nefritinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı saptanmıştır (Su et al., 2016). PTN'nin ve MK'nin, alkol alındıktan sonra prefrontal kortekste üretimi artan buna ek olarak etanol içme ve ödüllendirmeyi azalttığı görülen nörotrofik faktörler olduğu saptanmıştır. Reseptör protein tirozin fosfataz zeta'nın farmakolojik engellenmesinin, etanole davranışsal tepkileri düzenlediği çalışmalarda gösterilmiştir. Veriler, reseptör protein tirozin fosfataz zeta'nın aşırı alkol tüketimini azaltmak için yeni bir farmakoterapi hedefi olabileceği hipotezini desteklemektedir (Fernandez-Calle et al., 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Bu araştırmada kullanılan malzemeler aşağıdaki **Tablo 2**'de listelenmiştir:

Tablo 2. Çalışmada kullanılan malzemeler

Deney Tipi	Malzeme Adı	Marka	Katalog No
AKIM SİTOMETRİ	Anneksin V FITC Apoptoz Deteksiyon Kiti II	BD Sciences	556570
	Yuvarlak Tabanlı Polistiren Tüp	Fisher Scientific	352003
	Polietilen pastör pipeti	Isolab	084.22.001
TEM	Gluteraldehid	Electron Microscopy Sciences (EMS)	16537-15
	Osmik asid	EMS	19153
	Uranil asetat	EMS	22400
	Fosfat Tamponu	Sigma-Aldrich	P4417
	Epon812 gömme kiti	EMS	14120
	Propilen oksid	Sigma-Aldrich	110205
	Etil Alkol	Sigma-Aldrich	32205
	Santrifüj tübü	Techno Plastic Products (TPP)	87015
	Santrifüj tübü	TPP	87050
	Şırınga Filtresi	TPP	99722

TEM	Nikel Grid	EMS	EMS200-Ni
	Kapsül	EMS	70105
	Cam pastör pipeti	Isolab	084.22.001
ELİZA/EKLİA	AMH deteksiyon kiti	Roche Diagnostics	06331076 190
	FSH deteksiyon kiti	Roche Diagnostics	11775863 122
	LH deteksiyon kiti	Roche Diagnostics	11732234 122
	PRL deteksiyon kiti	Roche Diagnostics	03203093 190
	İNH B deteksiyon kiti	Novus Biologicals	NBP2-66432
	E2 deteksiyon kiti	Roche Diagnostics	06656021 190
	TSH deteksiyon kiti	Roche Diagnostics	11731459 122
	hCG deteksiyon kiti	Roche Diagnostics	03271749 190
	Bradford protein deteksiyon kiti	Bio-Rad Laboratories	5000201
	MK deteksiyon kitleri	Cellmid USCNK	MKELISA SEA631Hu
SERUM ELDESİ	Kan alma tübü	BD Sciences	366566
OPU/ICSI/ BLASTOKİST KÜLTÜRÜ	Modifiye İnsan Tubal Sıvısı (MITS) medyumı	Irvine Scientific	90126
	Nunc™ Orta kuyucuklu kültür kabı	Thermo Fischer Scientific	150260
	%10 Polivinilpirolidon (PVP)	Irvine Scientific	90123
	Hiyaz (80 IU/ml)	SAGE-Origio	ART-4007-A

OPU/ICSI/ BLASTOKİST KÜLTÜRÜ	Fosfat Tamponu	SAGE-Origio	ART-4011
	Nunc™ IVF 4 kuyucuklu kültür kabı	Sigma Aldrich	Z688754-120EA
	Flushing medium	SAGE-Origio	10765060
	IVF Pastör Pipetleri	SAGE-Origio	PP-5.75-1000PL
	Yağ	SAGE-Origio	ART-4008
	Fertilizasyon medyumu	SAGE-Origio	ART-1520
	Klivaj medyumu	SAGE-Origio	ART-1526
	Blastokist medyumu	SAGE-Origio	ART-1529
	25 cm'2'lik flask	TPP	90025
	Nunc™ Petri	Thermo Fischer Scientific	150255
	Dondurma tübü	TPP	89040
	Vitrifikasyon kiti	SAGE-Origio	ART-8025

Bu çalışmada kullanılan cihazlar aşağıdaki gibi **Tablo 3**'te listelenmiştir:

Tablo 3. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Deney Tipi	Cihaz Adı	Marka	Model
AKIM SİTOMETRİ	Akım Sitometri Cihazı	BD Sciences	FACS Calibur
	Soğutmalı Santrifüj	Nüve	NF800R
	Otomatik Mikropipet seti	Eppendorf	Research Plus

TEM	Ultramikrotom	Leica	EM UC 7
	Mikrosantrifüj	Eppendorf	Minispin Plus
	TEM cihazı	JEOL	JEM-1011
OPU/ICSI/ BLASTOKİST KÜLTÜRÜ	İnkübatör	Nüve	EN-055
	Stereomikroskop	Carl Zeiss	Stemi305
	Işık mikroskobu	Olympos	CX21i-LED
	Laminar Hava Akım Kabini	Thermo Scientific	HeraSafe KS Class II
	Mikromanipülatör	Leica	DMshare
ELİZA/EKLİA	ELİZA Okuyucu	Thermo Scientific	Multiskan GO UV/Vis
	Elektrokemilüminisens Analizatörü	Roche Diagnostik	Cobas e411; Cobas e601
	Orbital Sallayıcı	Marshall Scientific	VWR3600

3.2. Çalışma Türü ve Etik Kurul Onayı

Bu çalışma, tek merkezli ve prospektif olarak yürütüldü. Çalışma Helsinki Deklarasyonu hükümlerine göre yapıldı ve Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan 2017/5-1 no'lu onay alındıktan sonra başladı (EK 1).

Tüm sağlıklı ve hasta bireylere kendilerini gönüllü davet ettiğimiz yapılacak bu çalışmanın döllenme ve gebelik oranını artırmayı hedeflediği, regl döneminin 3. gününde alınan kanları ile hormon ve protein düzeylerinin ölçüleceği, ICSI yapılacak hasta bireylerin yumurtalarının hazırlanırken (Denüstasyon) geride kalan, yumurtalarının etrafında bulunan atılacak olan destek hücreleri olan kümülüs hücrelerinin alınarak onların canlılık ve ölüm oranları ile ölüm çeşitlerinin saptanacağı ve ayrıca özel tekniklerle hücrelerinin morfolojileri (Dış yüzey şekilleri) ve hücre içi yapılarının (Ultrastrüktür) da analiz edileceği, bu durumun sağlık durumlarına ve yumurtalarına yapılacak ICSI işlemine herhangi bir negatif etkisi olmayıp aksine tanı ve tedavi başarısını ölçmede ve yükseltmede pozitif etki yapacağı anlatıldı.

Buna ek olarak, hastaların kişisel özelliklerinin kesinlikle hiçbir koşulda paylaşılmayacağı, verilerin araştırma amaçları dışında kullanılmayacağı ve çalışma sonuçlarının paylaşılması ve yayınlanması aşamasında kişi mahremiyetinin korunacağı bilgisi de verildi. Tüm çalışmaya katılan bireylere verilen bilgilerin yazılı olduğu “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” okutuldu, soruları olanlar cevaplandı ve imzaları alınarak çalışmaya dahil edildi ve çalışma başladı.

3.3. Hasta Profili

Çalışmaya, Memorial Şişli Hastanesi Tüp Bebek (IVF) Merkezi'ne başvurmuş ICSI uygulamalarına kaydolmuş, 20-45 yaş aralığında 90 Erkek faktörü (Sadece erkekte sorun olan, kadının ise sağlıklı olduğu grup; EF; Kontrol grubu), 90 AKİ ve 90 PKOS tanısı konmuş kadın katıldı.

Erkek faktörü, PKOS ve AKİ tanıları Avrupa Konseyi İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği tarafından belirlenen Rotterdam Konsensüs Konferansı kriterlerine göre teşhis edildi.

3.3.1. Erkek faktöründe dahil etme ve dışlama kriterleri

Erkek faktörü kabul edilmesinde normal yumurtalık kapasitesine, sağlıklı yumurtalıklara ve düzenli adet döngülerine sahip, teşhis edilebilen belirgin bir bozuklukları ve/veya hastalıkları (AKİ, PKOS, konjenital adrenal hiperplazi, adrojen salgılayan tümörler, Cushing sendromu, erkek kısırlığı, tubal patolojiler, anovülasyon, hiperprolaktinemi, hipotalamik amenore, daha önce geçirilen yumurtalık cerrahisi, yumurtalık tümörleri, rahmin anatomik bozuklukları, periton

içi yapışıklıklar, endometriozis ve diğer pelvik patolojiler, tiroid fonksiyon bozukluğu ve şeker hastalığı gibi diğer hormonal bozukluklar, tekrarlanan gebelik kayıpları ve otoimmün hastalıklar) olmayan ve partnerindeki teşhis edilen hastalık/bozukluk nedeniyle 1 sene boyunca korunmasız ilişkiye girmesine rağmen gebeliğin sağlanamaması kriterler olarak alındı. Buna ek olarak D vitamini, ilaç, sigara ve doğum kontrol hapı kullanan, arada düzensiz adet dönemlerine sahip, hamilelik durumu olan ile 20-45 yaş aralığını sağlamayan bireyler sağlıklı olsalar dahi çalışmaya dahil edilmedi.

3.3.2. Polikistik over sendromunda dahil etme ve dışlama kriterleri

Polikistik over sendromu tanısı, sendromun 3 temel özelliğinden en az ikisi mevcut olduğunda konuldu: amenore veya oligomenore (AO), klinik hiperandrojenizm (HA) ve polikistik over morfolojisi. PKOS dışında teşhis edilebilen belirgin bir bozuklukları ve/veya hastalıkları (AKİ, konjenital adrenal hiperplazi, adrojen salgılayan tümörler, Cushing sendromu, erkek kısırlığı, tubal patolojiler, anovülasyon, hiperprolaktinemi, hipotalamik adet görememe (amenore), daha önce geçirilen yumurtalık cerrahisi, yumurtalık tümörleri, rahmin anatomik bozuklukları, periton içi yapışıklıklar, endometriozis ve diğer pelvik patolojiler, tiroid fonksiyon bozukluğu ve şeker hastalığı gibi diğer hormonal bozukluklar, tekrarlanan gebelik kayıpları ve otoimmün hastalıklar) olmayan ve buna ek olarak 1 sene boyunca korunmasız ilişkiye girmesine rağmen gebeliğin sağlanamaması kriterler olarak alındı. Ayrıca AMH düzeylerinde değişiklik yapabileceği için D vitamini ve ilaç kullanan, hipovitaminöz D ve hipervitaminöz D durumlarına sahip, sigara kullanan hasta bireyler ile 20-45 yaş aralığını sağlamayanlar çalışma dışı bırakılmıştır.

3.3.3. Açıklanamayan kadın infertilisinde dahil etme ve dışlama kriterleri

Açıklanamayan kısırlık tanı teşhisi konmasında normal veya düşük yumurtalık kapasitesine, sağlıklı yumurtalıklara ve düzenli regl döngülerine sahip, teşhis edilebilen belirgin bir bozuklukları ve/veya hastalıkları (PKOS, konjenital adrenal hiperplazi, adrojen salgılayan tümörler, Cushing sendromu, erkek kısırlığı, tubal patolojiler, anovülasyon, hiperprolaktinemi, hipotalamik adet görememe (amenore), daha önce geçirilen yumurtalık cerrahisi, yumurtalık tümörleri, rahmin anatomik bozuklukları, periton içi yapışıklıklar, endometriozis ve diğer pelvik patolojiler, tiroid fonksiyon bozukluğu ve şeker hastalığı gibi diğer hormonal

bozukluklar, tekrarlanan gebelik kayıpları ve otoimmün hastalıklar) olmayan ve buna ek olarak 1 sene boyunca korunmasız ilişkiye girmesine rağmen gebeliğin sağlanamaması kriterler olarak alındı. Ayrıca AMH düzeylerinde değişiklik yapabileceği için D vitamini ve ilaç kullanan, hipovitaminöz D ve hipervitaminöz D durumlarına sahip, sigara kullanan 20-45 yaş aralığı dışında bulunan hasta bireylerde çalışma dışı bırakılmıştır.

3.4. Hasta Örnekleri ve Ana Sonuç Ölçütleri

İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu yapılan hasta bireylerde demografik veriler ile fertilizasyon oranı, embriyo sayısı, embriyo kalitesi, MI-MII ve GV oosit oranları, antral folikül sayısı (AFS) değerlendirildi. Ultrasonografik antral follikül sayımı regl döneminin 3. gününde yapıldı. Transferden 12 gün sonra İnsan Koryonik Gonadotropini Beta (hCG β) Elektrokemilüminisans immünotest (EKLİA) bakıldı, pozitif saptananlarda 2 gün sonra katlanarak artış görülenler gebe olarak kabul edildi.

Adet döngülerinin 3. gününde alınan sağlıklı bireylerin ve hasta bireylerin kanları, serumları ayrılarak FSH, Lüteinizan hormon (LH), E2, prolaktin (PRL), tiroid uyarıcı hormon (TSH) ve AMH seviyeleri EKLİA ile İnhibin B (İNH B) ve MK seviyeleri ise enzim bağlantılı immünosorbent test (ELİZA) kullanılarak incelendi. Yumurta toplama (OPU) gününde alınan folikül sıvısında (FS) da MK ve AMH seviyeleri değerlendirildi.

Buna ek olarak, OPU günü alınan kümulus hücrelerinde kümulus hücre sayısı hemasitometre ile sayılarak, canlı, ölü ve apoptotik kümulus hücre oranları akım sitometrik boyama ve kümulus hücre içi yapıları ise Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile değerlendirildi.

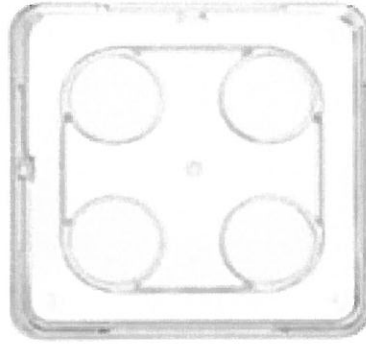
Deneyler sonrasında kalan tüm ürünler imha edildi.

3.4.1. Kandan serum eldesi

Adet döngüsünün 3. gününde alınan sağlıklı bireylerin ve hasta bireylerin kanları, pıhtı aktivatörü ve akrilik bazlı jel bulunan sarı kapaklı vakumlu tüplere alındı. 5-6 defa ters-düz edilerek nazikçe karıştırılan tüp, 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildi.

3.4.2. Kümülus hücresi ve folikül sıvısı eldesi

Steril iğne kullanılarak 15 mm çap büyüklüğüne ulaşmış folikülleri içeren folikül sıvıları her hastadan ayrı ayrı alındı. Sonra foliküller, folikül sıvısından uzaklaştırıldı. Korana kümulus hücrelerinin durumuna göre oositler 1. derece immatür, 2. Derece intermediyer, 3. Derece matür, 4. Derece postmatür ve 5. Derece atretik (Veeck, 1990) olarak değerlendirildi. Foliküller folikül sıvısından uzaklaştırıldıktan sonra, yumurtanın etrafında yer alan korona-kümülus hücrelerini 3 tabaka bırakacak şekilde uzaklaştırmak için 10 dakika 10 IU/ml hiyaz uygulandı (Şekil 9). Yumurtadan uzaklaştırılan kümulus hücreleri, içerisinde buldukları hiyaz içeren besiyeri ile birlikte 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve üst sıvı atıldı. Böylece eritrosit, lökosit, hiyazlı besiyeri ve artık foliküler sıvı uzaklaştırıldı. Tekrar 3 ml besiyeri eklendi ve 1500 rpm'de 3 dakika santrifüj edilerek üst sıvı atıldı. 1 ml besiyeri eklendi. Hücreler, hemasitometre yardımı ile sayıldı (Tanrıverdi et al., 2013; Kahraman et al., 2018). FS, 300 g'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra üst sıvı EKLİA ve ELİZA işlemlerinde kullanılmak üzere 1 ml'lik kriyo tüplere alınarak vitrifikasyon (Şok dondurma işlemi) uygulandı ve sıvı azot tankında saklandı.



Şekil 9. Dört kuyucuklu kültür kabında hiyaz işleminin şematik gösterimi. 1.kuyuya 0.1. IU/ml hiyaz, 2. Kuyuya İTF+Yağ, 3. kuyuya Fertilizasyon medyum+Yağ ve 4. kuyuya ise MİTF+Yağ kondu.



Şekil 10. Kültüre edilmiş kümüulus hücreleri (Orijinal büyütrne 4x10x2.4)

3.5. Metodlar

3.5.1. Akım sitometri ile analiz

Akım sitometrik Anneksin-V-Fluoresan isotiyosiyanat/propidyum iodid (Anneksin-V-FITC/PI) ikili boyaması ile canlı, ölü ve apoptotik hücre oranları ticari kit kullanılarak belirlendi. Kitin önerdiği metotta bazı küçük değişiklikler yapılarak uygulama yapıldı (Erguven et al., 2016). Kümüulus hücreleri yıkanarak içine 4- (2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit tamponu (HEPES), sodyum klorür, kalsiyum klorürden oluşan bağlama tamponu kondu, karıştırıldı ve süspansiyon haline getirildi. 10 µl bağlama solüsyonunda 10.000 hücre olacak şekilde 5 µl Anneksin V-FITC ve 5 µl PI kondu, 22 °C'de ve karanlıkta 15 dakika tutuldu. Sonra Floresans ölçümü için akım sitometri cihazında ölçümler alındı ve analizler yapıldı. Analiz sonucunda histogramlarda, sol alt kısım canlı hücreleri (Anneksin V-, PI-), sağ alt kısım erken apoptotik hücreleri (Anneksin V+, PI-), sağ üst kısım geç apoptotik hücreleri (Anneksin V+, PI+) ve sol üst kısım ise ölü hücre popülasyonlarını göstermekle birlikte toplam apoptotik hücre yüzdeleri erken ve geç apoptotik hücre oranları toplanarak değerlendirildi.

3.5.2. Geçirimli elektron mikroskobu ile analiz

Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile ultrastrüktür analizinin ilk adımı, OPU günü toplanan hücrelerin 2.5'lik gluteraldehidde 30 dakika 4 °C'de bekletilerek ilk fiksasyon ile gerçekleştirildi. PBS ile 3 kez 5 dakika yıkandıktan sonra, % 1'lik OsO₄ ile 30 dakika 4 °C'de bekletildi ve ikinci fiksasyon işlemi yapıldı. Daha sonra üçüncü fiksasyon işlemi % 1 uranil asetatda 4 °C'de 15 dakika bekletilerek yapıldı. PBS ile yıkandı ve sonra hücreler 1 ml'lik Eppendorf tüplerine alındı. Hücreler, 1000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildikten sonra taze yumurta akı eklendi ve 3000 rpm'de 6 dakika santrifüj edildi (Coticchio et al., 2016). Yumurta akı üzerine % 70 etanol kondu ve sertleşmesi için 2 gün bekletildi. Sertleşmeyi takiben kalıp haline gelen kümülus hücreleri, artan derecelerdeki etanol serilerinden (% 70, % 90, % 96 ve 2 defa % 100 etanol) oda ısısında, 10 dakika süreyle geçirildi. Sonra 1/1 oranındaki propilen oksit/gömme medyumunda (EMBed 812 kit, EMS, Hatfield, PA, ABD) 50 dakika, 1/3 oranında hazırlanmış propilen oksit/ EMBed 812 rezinde 50 dakika ve son aşamada saf EMBed 812'de 70 dakika bekletildi ve saf epon bulunan doku gömme kapsüllerine gömüldü (Coticchio et al., 2016). Kapsüller, 60 °C'lik etüvde 18 saat bekletildikten sonra ultramikrotom ile 65-70 nm inceliğinde kesildi ve bu ince kesitler nikel gridler üzerine aktarıldı. En sonunda 15 dakika % 5'lik uranil asetat ve sonra 5 dakika Reynold's solüsyonu ile kontrast işlemi ile tamamlandıktan sonra geçirimli elektron mikroskobunda (JEOL JEM-1011 Peabody, MA, ABD) incelendi ve değişik büyütme oranlarında fotoğraflar çekildi.

3.5.3. Elektrokemilüminisans immünotest ile analiz

3.5.3.1. Anti-Müllerian hormon seviyelerinin değerlendirilmesi

AMH seviyeleri, EKLIA bazlı çalışan ticari kit kullanılarak analiz edildi (Roche Diagnostik Factsheet 2019). Monoklonal memeli AMH'ya özgü, rutenyum kompleks ile etiketlenmiş antikorla kaplı mikroparka yüzeyine 50 µl serum ve folikül sıvısı konduktan sonra 15 dakika bekletildi, biotinlenmiş monoklonal memeli AMH'ya özgü antikor eklendi ve 9 dakika bekletildi. Streptavidin kaplı mikropartikül eklenerek biotinlenmiş antikora bağlanması için 9 dakika bekletildi. Tüm işlemler, Roche Cobas e601 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.5.3.2. Folikül uyarıcı hormon seviyelerinin değerlendirilmesi

Folikül Uyarıcı Hormon seviyeleri, EKLİA bazlı ticari kit kullanılarak analiz edildi (Roche Diagnostik Factsheet 2019). Kitin, düşük saptama limiti <0.100 mIU/mL ve ölçüm aralığı 0.100–200 mIU/mL üretici firma tarafından kullanma kılavuzunda belirtildi. Monoklonal memeli FSH'a özgü, rutenyum kompleks ile etiketlenmiş antikorla kaplı mikroparka yüzeyine 40 µl serum konduktan sonra 15 dakika bekletildi, biotinlenmiş monoklonal memeli FSH'a özgü antikor eklendi ve 9 dakika bekletildi. Karışıma streptavidin kaplı mikropartikül eklenerek biotinlenmiş antikora bağlanması için 9 dakika bekletildi. Tüm işlemler, Roche Cobas e601 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyonlar belirlendi.

3.5.3.3. Lüteinizan hormon seviyelerinin değerlendirilmesi

Lüteinizan hormon seviyeleri, EKLİA bazlı ticari kit kullanılarak analiz edildi (Roche Diagnostik Factsheet 2019). Kitin, düşük saptama limiti 0.100 mIU/mL ve ölçüm aralığı 0.100–200 mIU/mL üretici firma tarafından kullanma kılavuzunda belirtildi. Monoklonal memeli LH'a özgü, rutenyum kompleks ile etiketlenmiş antikorla kaplı mikroparka yüzeyine 20 µl serum konduktan sonra 15 dakika bekletildi, biotinlenmiş monoklonal memeli LH'a özgü antikor eklendi ve 9 dakika bekletildi. Karışıma streptavidin kaplı mikropartikül eklenerek biotinlenmiş antikora bağlanması için 9 dakika bekletildi. Tüm işlemler, Roche Cobas e601 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyonlar belirlendi.

3.5.3.4. Östradiol seviyelerinin değerlendirilmesi

17β-Östradiol seviyeleri, EKLİA bazlı ticari kit kullanılarak analiz edildi (Roche Diagnostik Factsheet 2019). Kitin LoB, LoD,LoQ değerleri sırasıyla ≤ 11.0 pmol/L (≤ 3 pg/mL), ≤ 18.4 pmol/L (≤ 5 pg/mL), ≤ 91.7 pmol/L (≤ 25 pg/mL), Ölçüm aralığı 5-3000 pg/mL olarak üretici firma tarafından kullanma kılavuzunda belirtildi. Monoklonal memeli Östradiol'a özgü, rutenyum kompleks ile etiketlenmiş antikorla kaplı mikroparka yüzeyine 25 µl serum konduktan sonra 15 dakika bekletildi, iki tane biotinlenmiş monoklonal memeli E2'ye özgü antikor ve mesterolone eklendi ve 9 dakika bekletildi. Örnekteki E2 konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa bağlanmayan biotinlenmiş antikor o kadar az oldu. Rutenyum kompleks'e bağlanmış E2 eklenerek

bağlanmamış biotinlenmiş antikorlar doymuş hale getirildi. Akabinde eklenen streptavidin ile kaplı paramagnetik mikropartiküller reaksiyon karışımındaki tüm biotinlenmiş bileşenlere 9 dakika içinde bağlandı. Karışım makinenin ölçüm kuyusuna aktarıldı, magnetik çekim ile elektrod yüzeyine mikropartiküller bağlandı. Kemolüminisans, fotoçoğaltıcı ile ölçüldü. Sinyal veriminin, örnekteki total östradiol konsantrasyonu ile ters orantılı olduğu görüldü. Roche Cobas e601 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyonlar belirlendi.

3.5.3.5. Tiroid uyarıcı hormon seviyelerinin değerlendirilmesi

Tiroid uyarıcı hormon seviyeleri, EKLİA bazlı ticari kit kullanılarak analiz edildi (Roche Diagnostik Factsheet 2019). Bu kitin saptama limiti 0.005 μ IU/mL, fonksiyonel duyarlılığı 0.014 μ IU/mL, ölçüm aralığı 0.005-100 μ IU/mL olarak üretici firma tarafından kullanma kılavuzunda belirtildi. Monoklonal memeli TSH'a özgü, rutenyum kompleks ile etiketlenmiş antikorla kaplı mikroparka yüzeyine 50 μ l serum konduktan sonra 15 dakika bekletildi, biotinlenmiş monoklonal memeli TSH'a özgü antikor eklendi ve 9 dakika bekletildi. İnsan TSH'ının farklı epitoplarına karşı geliştirilmiş biotinlenmiş ve ruthenillenmiş antikorları taşıyan TSH ile sandviç-kompleksi oluşturuldu. Karışıma streptavidin kaplı mikropartikül eklenerek biotinlenmiş antikora bağlanması için 9 dakika bekletildi. Karışım makinenin ölçüm kuyusuna aktarıldı, magnetik çekim ile elektrod yüzeyine mikropartiküller bağlandı. Kemolüminisans, fotoçoğaltıcı ile ölçüldü. Sinyal veriminin, örnekteki total TSH konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu görüldü. Tüm işlemler Roche Cobas e601 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.5.3.6. Prolaktin seviyelerinin değerlendirilmesi

Prolaktin seviyeleri, EKLİA bazlı ticari kit kullanılarak analiz edildi (Roche Diagnostik Factsheet 2019). Bu kitin ölçüm aralığı 1.00 – 10,000 μ IU/mL (0.047-470 ng/mL), düşük saptama değeri ise 1.00 μ IU/mL (0.017 ng/mL) olarak üretici tarafından kullanma kılavuzunda belirtildi. Polietilen glikol (PEG) çöktürmesi yapılarak örnekten makroprolaktin ve oligomerler uzaklaştırıldı. Monoklonal memeli PRL'ye özgü, rutenyum kompleks ile etiketlenmiş antikorla kaplı mikroparka yüzeyine 10 μ l serum konduktan sonra 15 dakika bekletildi, biotinlenmiş monoklonal memeli PRL'ye özgü antikor eklendi ve 9 dakika bekletildi. Karışıma streptavidin

kaplı mikropartikül eklenerek biotinlenmiş antikora bağlanması için 9 dakika bekletildi. Karışım makinenin ölçüm kuyusuna aktarıldı, magnetik çekim ile elektrod yüzeyine mikropartiküller bağlandı. Kemolüminisans, fotoçoğaltıcı ile ölçüldü. Sinyal veriminin, örnekteki total PRL konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu görüldü. Tüm işlemler Roche Cobas e601 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.5.3.7. İnsan koryonik gonadotropin beta seviyelerinin değerlendirilmesi

Gebelik tayininde hCG β Seviyeleri, EKLİA bazlı ticari kit kullanılarak analiz edildi (Roche Diagnostik Factsheet 2019). Bu kitin ölçüm aralığı 0.10–10.000 μ IU/mL olarak üretici tarafından kullanma kılavuzunda belirtildi. Monoklonal memeli hCG β 'ya özgü, rutenyum kompleks ile etiketlenmiş antikorla kaplı mikroparka yüzeyine 10 μ l serum konduktan sonra 15 dakika bekletildi, biotinlenmiş monoklonal memeli hCG β 'ya özgü antikor eklendi ve 9 dakika bekletildi. Karışıma streptavidin kaplı mikropartikül eklenerek biotinlenmiş antikora bağlanması için 9 dakika bekletildi. Karışım makinenin ölçüm kuyusuna aktarıldı, magnetik çekim ile elektrod yüzeyine mikropartiküller bağlandı. Kemolüminisans, fotoçoğaltıcı ile ölçüldü. Sinyal veriminin, örnekteki total hCG β konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu görüldü. Tüm işlemler Roche Cobas e601 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi

3.5.4. Enzim bağlantılı immünosorbent test ile analiz

3.5.4.1. İnhibin B seviyelerinin değerlendirilmesi

İnhibin B seviyeleri, ELİZA bazlı ticari kit kullanılarak yapıldı (NovusBiologicals Factsheet 2019). Kitin çalışma yöntemi küçük değişiklikler yaparak izlendi. Standart çalışma solüsyonları (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 0 pg/mL), serum ve körler her bir kuyucuğa 100 μ l eklendi ve üzeri kapatıldı. 37 ° C'de 90 dakika boyunca inkübe edildi. Sonra bu sıvılar atıldı ve yıkama yapılmadan 100 μ L Biotinylenmiş deteksiyon antikoruna eklendi. Üzeri kapatıldı, orbital sallalayıcıda yavaşça karıştırıldı ve 37 ° C'de 1 saat inkübe edildi. Çözelti atıldı ve 350 μ l yıkama tamponu eklendi. 2 dakika bekletildi ve atıldı. Yıkama tamponu ile bu işlem 4 defa tekralandı. Sonra her bir kuyucuğa 100 μ L yabanturbu peroksidazı (HRP) konjugat çalışma solüsyonu eklendi ve 30 dakika boyunca 37 ° C'de inkübe edildi. Sonra sıvı atıldı ve 350 μ l yıkama tamponu eklendi. İşlem 6 defa

tekrar edildi. Bir sonraki aşamada her bir kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktif eklendi. Üzeri ışık geçirmeyecek şekilde örtüldü. 37 °C'de yaklaşık 20 dakika inkübe edildi. Arada kontrol edildi ve renk değişikliği görüldüğü anda her kuyucuğa 50µL Durdurma Solüsyonu ekleyerek reaksiyon durduruldu. Her bir kuyucuğun absorbans değeri 5 dakika içinde 450 nm dalga boyuna ayarlanmış bir mikrolaka okuyucu ile ölçüldü.

3.5.4.2. Midkin seviyelerinin değerlendirilmesi

3.5.4.2.1. Örneklerin total protein seviyelerinin belirlenmesi

Midkin protein seviyelerinin serumda ve FS'ında değerlendirilmesi Bradford yöntemini esas alan ticari protein kiti (Quick Start™ Bradford Protein Assay 1; Bio-Rad Laboratories, Inc. Münih, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi (Biorad Laboratories Factsheet 2019; Bradford 1976) Deneyler, kitin önerdiği test uygulama şartlarında yapıldı (Ergüven ve ark., 2011). Protein seviyesi saptama aralığı 125-1500 µg/ml olan mikrolaka standart testi tercih edildi. 2 mg/ml Stok sığır serum albumini stoğu 2000, 1500, 1000, 750, 500, 250, 125, 0 µg/ml olan protein standartları şeklinde hazırlandı. Mikrolaka kuyularına 5 µl serum, folikül sıvısı ve standartlar konduktan sonra 250 µl metanol ve fosforik asit içeren boya ayracı kondu ve çok kanallı pipet kullanılarak karıştırıldı. Her örnek ve standart üçlü tekrarlarla çalışıldı. Oda ısısında 5 dakika bekletildikten sonra ELİZA mikrolaka okuyucuda boya ayracı ve su kör olarak kullanıldı ve hepsi birlikte 595 nm'de okunarak absorbansları ölçüldü. Standart eğri kullanılarak örneklerin protein konsantrasyonu belirlendi. MK protein seviyesi ölçümü için örnekler mikrolaka kuyularına 100 µl hacimde konacağı için 100 µl'de total protein seviyesi aynı olacak şekilde dilüsyonlar yapıldı.

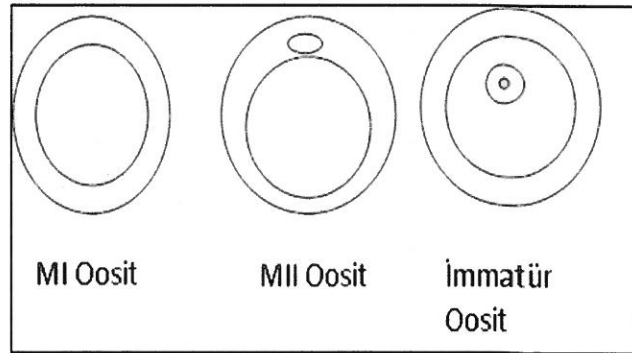
3.5.4.2.2. Midkin ELİZA

Serumda ve folikül sıvısında MK protein seviyeleri, üreticinin kullanım talimatlarına uygun bazı değişiklikler yapılarak ticari ELİZA kiti (Midkine ELISA, Cellmid Limited, Sydney, Avustralya) kullanılarak tespit edildi (Ergüven et al.,2011). MK kaplı 96 kuyucuklu mikrolakalara kuyu başına 100 µl test numuneleri, pozitif kontroller (Biri ELİZA kitinde yer alan ve biri de yüksek konsantrasyonda MK eksprese eden T98 glioblastoma hücrelerinden elde edilen

lizat) ve MK stok standardının 107 pg/ml'lik bir konsantrasyonda seyreltilmesiyle elde edilen standartlar (Konsantrasyonları 0, 25, 50, 100, 250, 500, 750 ve 1.000 pg/ml) kondu ve orbital sallayıcıda sürekli çalkalama ile 2 saat boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Standartlar, kontroller ve örnekler üçlü tekrarlar halinde kuyucuklara konmuştur. Durdurucu solüsyon uygulaması dışında her adımdan sonra, kit tarafından sağlanan yıkama tamponu ile dört yıkama gerçekleştirilmiştir. Detektör antikoru (100 ul/kuyu) ilave edildi ve orbital sallayıcıda sürekli çalkalama ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra kuyu başına 100 µl streptavidin-peroksidaz solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Sonra 100 µl substrat solüsyonu eklenip 10 dakika orbital sallayıcıda sürekli çalkalama ile oda ısısında, karanlıkta bekletildi. MK pozitifliğini gösteren konsantrasyona bağlı değişen çeşitli mavi tonları görüldükten sonra substrat solüsyonu dökülmeden üzerine 100 ul durdurucu solüsyon eklendi. Bundan sonra reaksiyonun durduğunu gösteren sarı renk oluşumu görüldü ve 3 dakika içinde bir ELİZA mikropilaka okuyucusu (Multiskan GO UV/Vis) kullanılarak 450nm dalga boyunda ölçülmüştür.

3.6. Oositin değerlendirilmesi

Mayotik ağ görülen, 1. Kutup cismini atmış olan yumurtalar metafaz II aşamasında kabul edilmektedir. Özellikle mayotik ağların konumu ve durumu yumurtanın gelişiminin tamamlanması için önemli kabul edilmektedir (Rienzi et al., 2005).



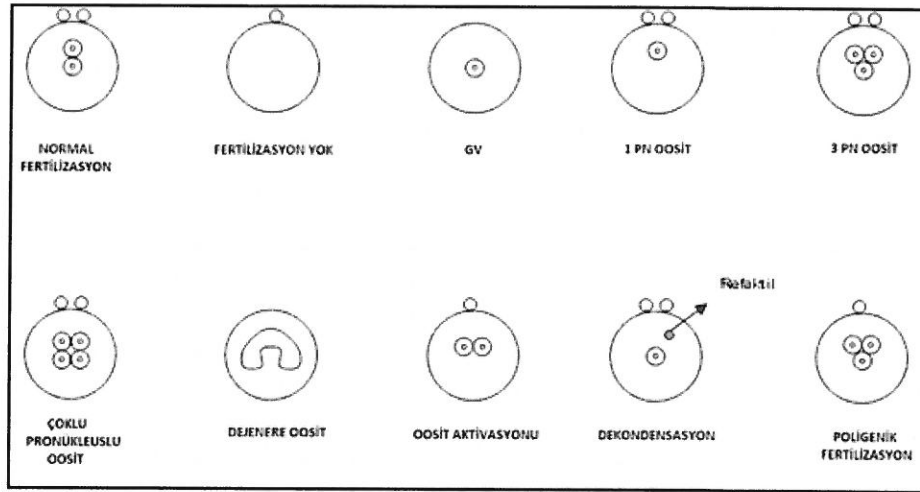
(Rienzi et al., 2005)

Şekil 11. Oosit sınıflandırılmasının şematik gösterimi.

3.7. Fertilizasyon ve embriyo kalitesinin değerlendirilmesi

Döllenme, enjeksiyondan 16 saat sonra değerlendirildi ve zigotlar, (1) Normal fertilizasyon (iki pronükleus mevcudiyeti) ve (2) Anormal fertilizasyon

(pronükleus sayısı ikiden fazla) sergileyenler olarak sınıflandırıldı. Pronükleusu olmayan oositler atıldı. Embriyolar Veeck'in morfolojik derecelendirme sistemine göre değerlendirildi 1. Derece: Eşit boyutta ve sitoplazmik fragmanlar olmayan blastomerler; 2. Derece eşit boyutta ve küçük sitoplazmik fragmanlar veya kabarcıklar içeren blastomerler; 3. Derece belirgin olarak eşit olmayan boyutlarda bulunan ve az sitoplazmik fragman içeren veya hiç sitoplazmik fragman içermeyen blastomerler; 4. Derece: eşit veya eşit olmayan boyutlarda ve belirgin sitoplazmik parçalanma görülen blastomerler; 5. Derece: Şiddetli veya tam parçalanma görülen farklı ebatlarda az sayıda blastomerler.



(Salehi et al., 2017).

Şekil 12. Fertilizasyon değerlendirilmesinin şematik gösterimi.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Sonuçlar IBM SPSS Statistics (Versiyon 25) programı kullanılarak istatistiksel anlamlılık yönünden değerlendirildi. İki grubu karşılaştırırken Student-*t*-Test ve ikiden fazla grup karşılaştırılırken Kruskal-Wallis'in post hoc testi ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma (SD) olarak gösterildi. İstatistiksel olarak $p<0.05$ anlamlı, $p<0.01$ yüksek anlamlı ve $p<0.001$ çok yüksek anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmaya Katılan Hasta Bilgileri

Çalışmada kümulus hücreleri, serum ve folikül sıvıları kullanılan ICSI hastalarına ait bilgi **Tablo 4**'te verilmiştir.

Tablo 4. Çalışmaya katılan hasta bilgileri

Tablo, Student-*t*-Test analiz sonuçlarını göstermektedir. Sonuçlar, ortalama±SD olarak gösterilmiştir. Student-*t*-Test ^ap<0.05, ^bp<0.01 ve ^cp<0.001 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ^Ap<0.05, ^Bp<0.01, ^Cp<0.001 PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ¹p>0.05 Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil ve ²p>0.05 PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil olarak kabul edilmiştir. AFS: Antral Folikül Sayısı, VKİ: Vücut Kitle İndeksi, GV: Germinal vezikül (Mayozun profaz evresinde duran oosit maturasyonu), MI:1. Mayotik metafaz, MII: 2. Mayotik metafaz.

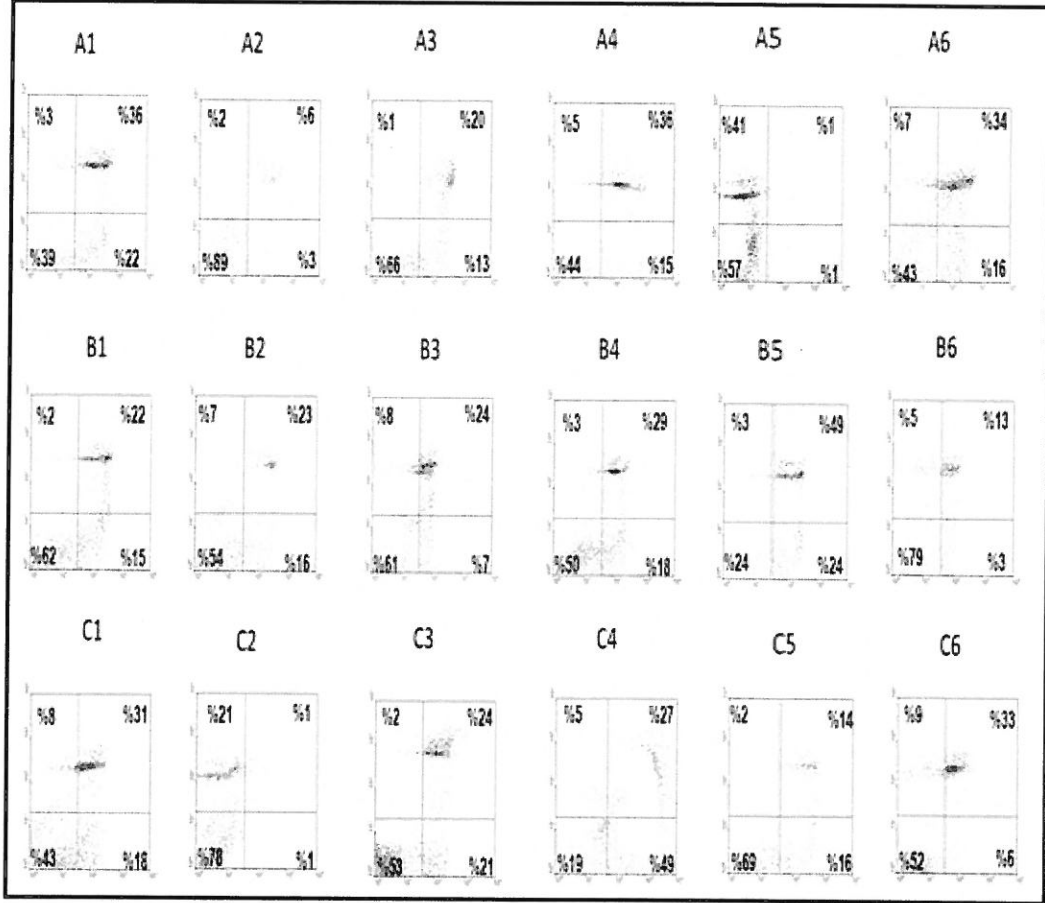
DEĞİŞKENLER	EF N=90	PKOS GRUBU N=90	AKİ GRUBU N=90
Yaş (Yıl)	31.31±4.84	31.42 ± 5.93 ¹	32.26±4.90 ^{a,2}
VKİ	25.30±4.55	28.50 ± 5.03 ^a	24.95±4.35 ^{1,A}
Endometrium kalınlığı (mm)	10.68±2.06	10.51±1.75 ¹	10.01±2.05 ^{1,2}
AFS	7.89 ± 4.00	15.28 ± 6.76 ^b	6.71±3.41 ^{a,C}
Oosit sayısı	8.37 ± 4.70	14.22 ± 6.78 ^b	7.97±4.41 ^{1,C}
GV	0.92±0.23	2.78±0.89 ^c	0.67±0.39 ^{a,C}
MI	0.14 ± 0.45	2.11 ± 0.31 ^b	0.08±0.11 ^{a,C}

MII	6.13 ± 3.55	7.63 ± 4.42 ^b	6.32±2.89 ^{a,A}
Fertilize oosit sayısı	4.82 ±2.76	5.00±3.17 ^a	4.39±2.90 ^{1,A}
Fertilizasyon yüzdesi (%)	45±7.6	65.3± 9.2 ^c	43±6.7 ^{a,A}
Embryo sayısı	4.71 ± 2.80	4.93 ± 3.37 ^a	4.47±2.80 ^{1,A}
İyi kalite embryo sayısı (3. Gün)	2.79±1.65	2.73±1.93 ^c	2.1 ±1.76 ^{a,2}
Gebelik yüzdesi (Sak+) (%)	26.7±6.23	21±4.92 ^a	23.4±3.12 ^{a,A}

Gruplar arası değerlendirilmede en yüksek VKİ, PKOS grubunda saptandı (p<0.05). En kalın endometrium, kontrol grubunda belirlendi (p>0.05). En yüksek AFS (p<0.01), oosit sayısı (p<0.01), GV (p<0.001) ve MI-MII oosit sayısı (p<0.01- p<0.05), fertilize oosit sayısı (p<0.05), fertilizasyon oranı (p<0.05) ile embriyo sayısı (p<0.05) PKOS grubunda saptandı. 3. gün iyi kalite embriyo sayısı ise en yüksek kontrol grubunda saptandı (p<0.01). Klinik gebelik değerlendirildiğinde en yüksek gebelik yüzdesi kontrol grubunda saptandı (p<0.01).

4.2. Kümüls Analiz Bulguları

Akım sitometrik kümulus analiz sonuçları Şekil 13'de ve Tablo 5'de gösterilmiştir.



Şekil 13. Akım sitometri analiz sonuçları histogramları.

Analiz sonucunda histogramlarda, sol alt kısım canlı hücreleri (Anneksin V-, PI-), sağ alt kısım erken apoptotik hücreleri (Anneksin V+, PI-), sağ üst kısım geç apoptotik hücreleri (Anneksin V+, PI+) ve sol üst kısım ise ölü hücre popülasyonlarını göstermekle birlikte toplam apoptotik hücre yüzdeleri erken ve geç apoptotik hücre oranları toplanarak değerlendirildi. Sonuçlar, ortalama (%) olarak panellerde gösterilmiştir. **A. Kontrol grubu (Erkek faktörü):** A1, 39 Yaş, Gebe; A2, 39 Yaş, Gebe değil; A3, 33 Yaş, Gebe; A4, 33 Yaş, Gebe değil; A5, 25 Yaş, Gebe; A6, 25 Yaş, Gebe değil. **B. AKİ grubu:** B1, 39 Yaş, Gebe; B2, 39 Yaş, Gebe değil; B3, 33 Yaş, Gebe; B4, 33 Yaş, Gebe değil; B5, 28 Yaş, Gebe; B6, 28 Yaş, Gebe değil. **C. PKOS grubu:** C1, 39 Yaş, Gebe; C2, 39 Yaş, Gebe değil; C3, 33 Yaş, Gebe; C4, 33 Yaş, Gebe değil; C5, 25 Yaş, Gebe; C6, 25 Yaş, Gebe değil.

Tablo 5. Kümüulus analiz bulguları

Tablo, Student-*t*-Test analiz sonuçlarını göstermektedir. Sonuçlar, ortalama±SD olarak gösterilmiştir. ^ap<0.05, ^bp<0.01 ve ^cp<0.001 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ^Ap<0.05, ^Bp<0.01, ^Cp<0.001 PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ¹ p>0.05 Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil ve ² p>0.05 PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil olarak kabul edilmiştir. Buna ek olarak, erken apoptotik hücre oranı ile geç apoptotik hücre oranının grup içinde kıyaslamasında Student-*t*-Test ^wp<0.05, ^xp<0.01, ^zp<0.001 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. * Toplam apoptotik hücre yüzdesi, erken ve geç apoptotik hücre yüzdelerinin toplamı olarak tabloda belirtilmiştir.

DEĞİŞKENLER	EF N=90	PKOS GRUBU N=90	AKİ GRUBU N=90
Kümüulus hücre sayısı (Ooöksit başına)	158.652±56.507	249.351±26.119 ^c	148.762±57.300 ^{a,C}
Canlı Hücre Yüzdesi (%)	65.38±20.71	45.96±20.00 ^c	56.70±9.56 ^{b,B}
Erken Apoptotik Hücre Yüzdesi (%)	9.81±8.22	20.79±7.51 ^c	11.54±8.24 ^{a,C}
Geç Apoptotik Hücre Yüzdesi (%)	19.80±7.54 ^z	26.80±15.00 ^{b,x}	24.19±10.84 ^{a,A,z}
Total Apoptotik Hücre Yüzdesi (%)*	29.61±15.76	47.59±22.51 ^c	35.73±19.08 ^{c,C}
Ölü Hücre Yüzdesi (%)	6.11±4.14	6.45±8.79 ^a	7.57±6.27 ^{a,A}

Gruplar arası karşılaştırmada, oosit başına düşen kümulus hücre sayısı en yüksek PKOS grubunda saptandı ($p<0.001$). En yüksek canlı hücre oranı kontrol grubunda belirlendi ($p<0.05$). En yüksek erken apoptotik hücre yüzdesi ($p<0.01$), geç apoptotik hücre yüzdesi ($p<0.05$) ve total apoptotik hücre yüzdesi ($p<0.001$), PKOS grubunda saptandı. Ölü hücre oranı, en yüksek AKİ grubunda görüldü ($p<0.05$).

4.3. Serum ve Folikül Sıvısı Hormon ve Protein Analiz Bulguları

Serum ve FS hormon ve MK bulguları Tablo 6, Tablo 7 ve Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 6. Serum ve folikül sıvısı hormon ve protein analiz bulguları

Tablo, Student-*t*-Test analiz sonuçlarını göstermektedir. Sonuçlar, ortalama±SD olarak gösterilmiştir. ^a $p<0.05$, ^b $p<0.01$ ve ^c $p<0.001$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ^A $p<0.05$, ^B $p<0.01$, ^C $p<0.001$ PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ¹ $p>0.05$ Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil ve ² $p>0.05$ PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil olarak kabul edilmiştir. S: Serum, FS: Folikül Sıvısı.

DEĞİŞKENLER	EF GRUBU N=90	PKOS GRUBU N=90	AKİ GRUBU N=90
sFSH (mIU/ml)	6.41 ± 2.14	5.54 ± 3.05 ^a	6.61±2.34 ^{1,A}
sLH (mIU/ml)	4.23 ± 3.52	5.9 ± 2.19 ^a	4.25±2.09 ^{1,B}
sLH/FSH	0.66	1.06 ^c	0.64 ^{1,C}
sE2 (pg/ml)	41.63±21.47	35.36±12.18 ^c	44.82±22.49 ^{a,B}
sPRL (ng/ml)	14.48±7.10	17.46±9.03 ^b	19.16±9.39 ^{a,A}
sİNH B	67.70± 32.45	62.20 ± 47.83 ^a	69.90 ± 31.78 ^{a,B}

sTSH (mIU/L)	1.68±0.38	4.19±1.88 ^a	2.00±0.42 ^{b,C}
sAMH (ng/ml)	2.89 ± 2.52	5.89 ±3.11 ^c	2.64±2.43 ^{a,C}
sMK (pg/ml)	252±54	423±45 ^c	250±32 ^{a,C}
fsAMH (ng/ml)	5.31±0.52	7.91±2.15 ^b	4.9±1.22 ^{1,C}
fsMK (pg/ml)	355±57	541±50 ^c	349±48 ^{a,C}

Serum değerlerinin gruplar arası değerlendirmesinde en yüksek sFSH değeri AKİ grubunda saptandı (p<0.05). En yüksek sLH değeri ise PKOS grubunda belirlendi (p<0.001). LH/FSH oranı ise en yüksek PKOS'da bulundu (p<0.001). sE2 seviyeleri en yüksek AKİ grubunda saptandı. En yüksek sPRL seviyeleri PKOS grubunda (p<0.05), sINB seviyeleri ise EF'den az bir farkla en yüksek AKİ grubunda (p<0.001) belirlendi. sTSH seviyelerinin en yüksek değeri ise yine PKOS grubunda saptandı (p<0.001). En yüksek sAMH (p<0.001) ve sMK (p<0.001) seviyeleri, PKOS grubunda saptandı.

Folikül sıvısı değerlerinde en yüksek fsAMH (p<0.001) ve fsMK (p<0.001) seviyeleri, yine PKOS grubunda saptandı. Serum ve folikül sıvısı fsAMH ve fsMK değerleri karşılaştırıldığında, folikül sıvısı AMH ve MK değerlerinin fsAMH (p<0.001) ve fsMK (p<0.001) değerlerinden daha yüksek olduğu belirlendi.

Tablo 7. AMH ve MK düzeylerininin gebelik pozitiflik ve negatifliğe göre analizi

Tablo, Student-*t*-Test analiz sonuçlarını göstermektedir. Sonuçlar, ortalama±SD olarak gösterilmiştir. ^ap<0.05, ^bp<0.01 ve ^cp<0.001 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ^Ap<0.05, ^Bp<0.01, ^Cp<0.001 PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ¹ p>0.05 Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil ve ² p>0.05 PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil olarak kabul edilmiştir. S: Serum, FS: Folikül Sıvısı.

DEĞİŞKENLER	Gebe (-)			Gebe (+)		
	EF GRUBU	PKOS GRUBU	AKİ GRUBU	EF GRUBU	PKOS GRUBU	AKİ GRUBU
sAMH (ng/ml)	2.94±2.38	5.50±3.40 ^c	2.77±2.67 ^{a,C}	2.88±2.47	6.28±2.82 ^c	2.50±2.38 ^{a,C}
sMK (pg/ml)	258±59	350±52 ^c	265±35 ^{1,c}	246±49	496±38 ^c	243±29 ^{1,C}
fsAMH (ng/ml)	6.13±0.64	9.00±2.25 ^c	5.60±1.25 ^{a,C}	4.49±0.40	6.82±2.05 ^c	4.20±1.19 ^{a,C}
fsMK (pg/ml)	370±64	497±50 ^c	365±49 ^{a,C}	340±50	585±49 ^c	332±47 ^{a,C}

Gebelik görülmeyen bireylerde gruplar arası karşılaştırmalarda sAMH (p<0.001) ve fsAMH (p<0.001) seviyelerinde en yüksek değerler PKOS grubunda görüldü. Aynı grubun sMK (p<0.001) ve fsMK (p<0.001) gruplar arası değerlendirmelerinde yine en yüksek değerler PKOS grubunda görüldü. Gebelik görülen grupta sAMH ve fs AMH değerlerinde aynı bulgulara rastlandı ($P_{sAMH} < 0.001$; $P_{fsAMH} < 0.001$; $P_{sMK} < 0.001$; $P_{fsMK} < 0.001$).

Gebe olanların sAMH ve fsAMH değerleri gebe olmayanlarla ikili gruplar halinde kıyaslandığında, bu değerlerin tüm gruplar için gebe olanlarda daha düşük olduğu saptandı (sAMH: $P_{Kontrol} < 0.05$; $P_{PKOS} < 0.05$; $P_{AKİ} < 0.05$), (fsAMH: $P_{Kontrol} < 0.01$; $P_{PKOS} < 0.001$; $P_{AKİ} < 0.01$). Gebe olanların sMK ve fsMK değerleri gebe olmayanlarla ikili gruplar halinde kıyaslandığında, bu değerlerin de tıpkı AMH

değerleri gibi tüm gruplar için gebe olanlarda daha düşük olduğu saptandı (sMK: $P_{\text{Kontrol}} < 0.05$; $P_{\text{PKOS}} < 0.001$; $P_{\text{AKİ}} < 0.01$), (fsMK: $P_{\text{Kontrol}} < 0.01$; $P_{\text{PKOS}} < 0.001$; $P_{\text{AKİ}} < 0.01$).

Tablo 8. AMH ve MK düzeylerininin gebelik negatif bireylerde yaşa göre analizi

Tablo, Student-*t*-Test analiz sonuçlarını göstermektedir. Sonuçlar, ortalama±SD olarak gösterilmiştir. ^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$ ve ^c $p < 0.001$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ^A $p < 0.05$, ^B $p < 0.01$, ^C $p < 0.001$ PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı, ¹ $p > 0.05$ Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil ve ² $p > 0.05$ PKOS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değil olarak kabul edilmiştir. S: Serum, FS: Folikül Sıvısı.

DEĞİŞKENLER	GEBE (-)					
	YAŞ≤35			YAŞ>35		
	EF GRUBU	PKOS GRUBU	AKİ GRUBU	EF GRUBU	PKOS GRUBU	AKİ GRUBU
sAMH (ng/ml)	3.23±2.61	6.20±3.41 ^c	2.93±2.81 ^{a,C}	2.65±2.15	4.79±3.39 ^b	2.60±2.52 ^{1,2}
sMK (pg/ml)	264±63	370±56 ^c	312±36 ^{c,B}	240±52	330±47 ^c	285±34 ^{a,A}
fsAMH (ng/ml)	6.17±0.67	9.20±2.26 ^b	5.79±1.29 ^{a,B}	4.45±0.61	8.80±2.24 ^c	5.40±1.21 ^{b,B}
fsMK (pg/ml)	383±70	510±52 ^c	380±51 ^{1,C}	357±57	484±47 ^c	349±46 ^{1,2}

Gebelik görülmeyen bireylerin 35 yaş ve altı alt grubu, gruplar arası karşılaştırmalarda sAMH ($p < 0.001$) ve fsAMH ($p < 0.001$) seviyelerinde en yüksek değerler PKOS grubunda görüldü. Aynı grubun sMK ($p < 0.001$) ve fsMK ($p < 0.001$) gruplar arası değerlendirmelerinde yine en yüksek değerler PKOS grubunda görüldü.

35 yaş üstü grupta da sAMH ve fs AMH değerlerinde aynı bulgulara rastlandı ($P_{sAMH} < 0.01$; $P_{fsAMH} < 0.001$; $P_{sMK} < 0.001$; $P_{fsMK} < 0.01$).

35 yaş ve altı sAMH ve fsAMH değerleri ile 35 yaş üstü ikili gruplar halinde kıyaslandığında, bu değerlerin tüm gruplar için 35 yaş ve üstünde daha yüksek olduğu saptandı (sAMH: $P_{Kontrol} < 0.01$; $P_{PKOS} < 0.01$; $P_{AKI} < 0.05$), (fsAMH: $P_{Kontrol} < 0.01$; $P_{PKOS} < 0.05$; $P_{AKI} < 0.05$). 35 yaş ve altı sMK ve fsMK değerleri ile 35 yaş üstü ikili gruplar halinde kıyaslandığında, bu değerlerin tüm gruplar için 35 yaş ve üstünde daha yüksek olduğu saptandı (sMK: $P_{Kontrol} < 0.05$; $P_{PKOS} < 0.05$; $P_{AKI} < 0.05$), (fsMK: $P_{Kontrol} < 0.05$; $P_{PKOS} < 0.01$; $P_{AKI} < 0.01$).

4.4. Ultrastrüktür Analiz Bulguları

4.4.1. 35 yaş ve altı, gebe deneklerin kümulus hücrelerinin ultrastrüktürel analiz bulguları

35 yaş altındaki kontrol grubundaki gebe deneklerden elde edilen sonuçlara göre kümulus hücrelerinin bazılarının hücre bütünlüğünün tam olduğu, bozulmamış çekirdek ve hücre zarları ile şekil değişikliklerine uğramamış, dış zar ve kristası bozulmamış sağlıklı mitokondrilere sahip oldukları, bazı kümulus hücrelerinin de fazla olmamakla birlikte değişik büyüklüklerde yağ damlacıkları taşıdıkları görülmüştür (Şekil 14/A1). Ayrıca kontrol grubundaki bazı hücrelerin apoptotik görünüme sahip olduğu ve apoptotik cisimcikler ile hücre kalıntılarının olduğu görülmüştür (Şekil 14/A2).

Polikistik over sendromu kümulus hücrelerinde de hücre ve nükleus zarı bütünlüğünün bozulmadığı görüldü. Çok sayıda hücrenin nükleus zarında invaginasyon olduğu saptandı (Şekil 14/B1). PKOS kümulus hücrelerinde ilk göze çarpan yapısal farklılık, hücrelerin büyük bir bölümünde çeşitli büyüklüklerdeki yağ damlacıklarının sayısının çok fazla olması ve yine çok fazla sayıda değişik büyüklüklerde otofajik vakuollerin varlığının görülmesidir (Şekil 14/B1). Buna ek olarak, fazla sayıda hücrenin apoptotik görünüme sahip olduğu görüldü ve fazla sayıda olmakla birlikte hücre kalıntısına rastlandı.

Açıklanamayan kadın infertilitesi gruplarında, hücre ve nükleus zarlarının bütünlüğünün korunduğu görüldü. Bazı hücrelerin nükleus zarlarında invaginasyon olduğu saptandı (Şekil 14/C1). Bazı hücrelerde fazla olmamakla birlikte çeşitli boyutlarda vakuoller olduğu görüldü. Buna ek olarak, hücrelerin bazılarının

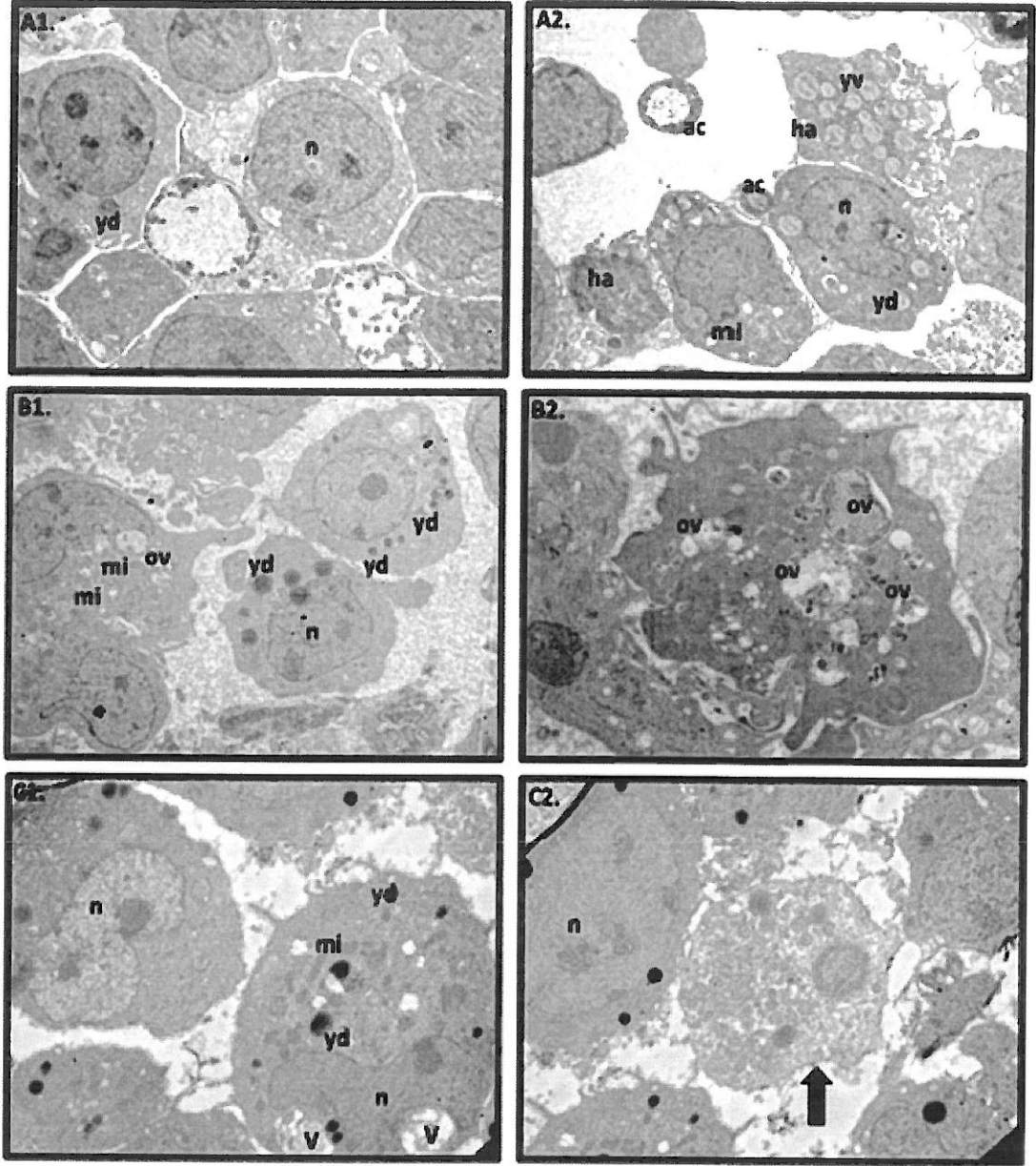
sitoplazmalarında fazla olmamakla birlikte değişik büyüklüklerde yağ damlacıkları olduğu saptandı (Şekil 14/C1). Ayrıca bazı hücrelerin nekrotik ve apoptotik görünümüne sahip olduğu görüldü.

4.4.2.35 yaş üstü, gebe olmayan deneklerin kümulus hücrelerinin ultrastrüktürel analiz bulguları

35 yaş altı gebe olmayan kontrol grubundaki deneklerden alınan kümulus hücreleri, 35 yaş altındaki gebe kontrol grubundaki deneklerin kümulus hücreleri ile kıyaslandığında hücre ve nükleus zarı bütünlüklerinin korunduğu, yine bazı hücrelerde daha fazla olmamakla birlikte yağ damlacıklarının görüldüğü ancak şekil değişikliğine uğramış ve krista hasarı oluşmuş mitokondrilerle beraber biraz daha sayısı artmış apoptotik görünümlü hücre bulgularına rastlanmıştır (Şekil 14/A2).

Polikistik over sendromu kümulus hücrelerinde de hücre ve nükleus zarı bütünlüğünü koruyan hücreler olmakla birlikte bazı hücrelerin zarlarının bozulduğu görüldü. Daha çok sayıda hücrenin nükleus zarında, invaginasyon olduğu saptandı. 35 yaş altına göre sitoplazmalarında biraz daha fazla sayıda çeşitli büyüklüklerde yağ damlacıklarını taşıyan hücrelerin sayısında da artış görüldü. Buna ek olarak, sitoplazmalarında değişik büyüklüklerde otofajik vakuol taşıyan bu hücrelerin sayısının içerdikleri otofajik vakuol sayısı ile birlikte arttığı görüldü (Şekil 14/B2). Buna ek olarak, apoptotik görünüme sahip hücrelerin ve hücre kalıntılarının da daha fazla artmış olduğu görüldü (Şekil 14/B2).

Açıklanamayan kadın infertilitesi gruplarının kıyaslamasında ise hücre ve nükleus zarlarının bütünlüğünü korunduğu, nükleus zarlarında invaginasyon olan hücreler ile sitoplazmalarında çeşitli boyutlarda vakuoller içeren hücrelerin vakuol sayısı ile birlikte biraz daha arttığı görüldü (Şekil 14/C2). Ayrıca, sitoplazmalarında biraz daha fazla olmakla birlikte değişik büyüklüklerde yağ damlacıkları içeren hücrelerin arttığı saptandı (Şekil 14/C2). Nekrotik ve apoptotik görünüme sahip hücrelerin sayısında da 35 yaş altına göre biraz daha fazla artış görüldü (Şekil 14/C2).



Şekil 14. Kümulus hücrelerinin geçirimli elektron mikrograf değerlendirmeleri.

35 yaş altı gebe A1. Kontrol grubu (Erkek faktörü), (Orjinal büyütme x7500); B1. PKOS grubu, (Orjinal büyütme x7500); C1. AKİ grubu, (Orjinal büyütme x7500). **35 yaş üstü gebe olmayan** A2. Kontrol grubu (Erkek faktörü), (Orjinal büyütme x7500); B2. PKOS grubu, (Orjinal büyütme x10k); C2. AKİ grubu, (Orjinal büyütme x5000). **mi:**Mitokondri, **ov:**Otofajik vakuol, **n:**Nükleus, **ha:**Hücre artığı, **ac:** Apoptotik cisim, **yd:** Yağ damlacığı, (→): Nekrotik hücre.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda klinikte yumurta kapasitesini belirlemede ve yumurtalığa bağlı hastalıkların teşhisinde yaygın kullanılan ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda güvenilirlik sınırları ile ilgili şüphe duyulan AMH'na alternatif olabilecek ve/veya AMH sonuçlarını da güvenilirlik sınırları içine çekebilecek yeni bir belirteç olarak oositlerden salınan, gonadatropinlerden etkilenmeyen, menstrual sikluslarda seviyeleri değişmeyen, primordiyal foliküllerden oosit oluşumunu teşvik eden MK proteini, açıklanamayan infertilite olgularının serum ve folikül sıvıları ile kümulus hücrelerinde, sağlıklı bireyler ve PKOS olguları ile kıyaslayarak incelendi.

Polikistik over sendromu hiperandrojenizm, anovülasyon, insülin rezistansı (İR) ve obezite ile karakterize edilen üreme çağındaki kadınlarda % 6-8 oranında görülme sıklığı ile kronik anovülasyon infertilitesinin en sık sebebinin oluşturmaktadır (Shi et al., 2012; Franks et al., 1995). Mevcut çalışmada PKOS grubu, PKOS tanı ve tedavisinde altın parametre olarak kabul edilen yüksek AMH seviyesi ve yapılan ön çalışmalarda yüksek MK seviyesi nedeniyle pozitif kontrol grubu olarak kullanıldı.

Vücut kitle indeksi değerlerinin, kontrol grupları ile AKİ hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan çok az derecede azalmaya sahip olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Orouhi et al., 2018). Bu çalışmalarda olduğu gibi mevcut çalışmada AKİ grubu VKİ değerinin, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı olmayan şekilde biraz daha az olduğu saptandı.

Lutenizan hormon/Folikül stimulan hormon oranı değerlendirildiğinde *Wiveko et al. 'un (2014)* yaptığı çalışmada FSH düzeyi PKOS hastalarında kontrollere kıyasla anlamlı derecede düşük bulundu. Çalışmamızda, *Wiveko et al. 'un (2014)* yaptığı çalışma ile uyumlu olarak PKOS grubunda en düşük FSH düzeyi saptandı. *Pellat et al. (2007)* yaptığı çalışmaya göre, FSH'nin AMH üretimi ve granüloza hücrelerinde AMH'nin mRNA ekspresyonu üzerine bir etkisi olmadığı görülmüş ancak *Piouka et al. (2009)* yaptığı çalışmada PKOS hastalarında FSH uygulamasından sonra AMH'de % 30'a kadar belirgin bir azalma olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada ise en yüksek AMH değeri PKOS'lu hastalarda bulunduğu için *Pellat et al. 'un (2007)* yaptığı çalışmanın verileri ile uyumlu olarak FSH'nin AMH seviyeleri üzerine etkisi olmadığı sonucuna varıldı. AKİ ve EF'de LH/FSH oranları kıyaslanıldığı zaman her iki gruba ait değerler arasında istatistiksel

olarak anlamlı olmayan küçük bir fark görüldü, ancak AKİ ile PKOS arasında istatistiksel olarak anlamlı büyük bir fark saptandı. *Kaya ve ark. 'nın (2019)* yaptığı çalışmada da AKİ ve PKOS gruplarındaki LH/FSH değerlendirmelerinin sonuçları çalışmamızla uyumlu bulundu.

Das et al. 'un (2008), PKOS'un anovülatuar döngüleri sırasında, GH'lerinde aromataz ekspresyonunun artışına yönelik düzenlemesinin başarısız olması ve foliküler mikroçevrede 17-Beta östradiol (E2) konsantrasyonunda da artışlar olması baz alarak EF ve PKOS karşılaştırmalı yaptığı çalışmada (Das et al., 2008), östrojen seviyeleri EF'ye göre PKOS'da yüksek bulunmuştur ve bunun nedenin de östrojen reseptörlerinde meydana gelen mutasyonlar olduğu gösterilmiştir. Mevcut çalışmada da *Das et al. 'un (2008)* yaptığı çalışma ile uyumlu olarak benzer veriler elde edilmiş, en yüksek östrojen seviyesi PKOS grubunda saptanmıştır. Mevcut çalışmada, AKİ grubunun E2 seviyeleri ile EF grubu seviyeleri arasındaki fark çok yüksek olmasa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu verilemiz, *Kaya ve ark. (2019)* yaptığı çalışmada da E2 bulguları ile de aynı şekilde birebir uyumluluk göstermektedir.

Tiroid hormonları over fonksiyonunu yüksek PRL ve değişmiş GnRH sekresyonu ile doğrudan ve dolaylı olarak etkilemektedir. Tiroid fonksiyon bozukluğu olan kadınlarda over yetersizliği yaygındır (Murto et al, 2013). Serum PRL seviyelerinin yükselmesi, pulsatil GnRH salgılanması ve FSH ve LH salınımının inhibisyonu üzerindeki sınırlayıcı etkisinin bir sonucu olarak adet bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir (Murto et al, 2013). Ayrıca, hiperprolaktineminin, ovulatör fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olduğu ve hem hipotiroidizm hem de hiperprolaktineminin infertilitede çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Murto et al, 2013). Serum TSH düzeyi yüksek olan infertil kadınların, TSH düzeyi normal olan kadınlardan daha düşük gebelik oranlarına sahip oldukları daha önceki yayınlarda gösterilmiştir (Murto et al, 2013). AKİ grubunun, kontrol grubuna göre yüksek TSH seviyelerine sahip olduğu *Orouhi et al. (2018)* tarafından gösterilmiştir. *Orouhi et al.'un (2018)* yaptığı aynı çalışmada infertilite'nin nedeni olan yüksek PRL değerleri de araştırılmış, iki grup arasında belirgin bir fark bulunamamıştır. *Kaya ve ark. 'nın (2019)* PKOS, EF ve AKİ ile yaptığı çalışmada en düşük PRL seviyesi PKOS'da ve en yüksek PRL seviyesi ise EF'de görülmüştür. Aynı çalışmada TSH seviyeleri de değerlendirilmiş en düşük TSH seviyesi PKOS'da görülürken en yüksek TSH seviyesi ise AKİ'den az bir farkla EF'de saptanmıştır. Mevcut

çalışmamızda ise en yüksek ve en düşük PRL düzeyi sırasıyla AKİ'de ve EF'de saptanmıştır. Bu çalışmanın verileri *Orouhi et al. (2018)* ve *Kaya ve ark. (2019)* verileri ile uyumlu değildir. TSH ile ilgili de yine *Kaya ve ark. (2019)*'nın ait veriler ile uyumlu olmayan veriler mevcut çalışmamızda elde edilmiştir. Buna göre mevcut çalışmamızda en yüksek TSH seviyesi PKOS'da saptanırken en düşük TSH seviyesi EF'de saptanmıştır.

Erkek faktör vakaları ile kıyaslanan FSH'ı yüksek olan PKOS'lu hastalarda sİNH B seviyelerinin de yüksek olduğu Rosencrantz et al.'un (2010) yaptığı çalışmada gösterildi. Mevcut çalışmamızda en düşük sİNH B verileri PKOS grubunda saptanırken, en yüksek sİNH B seviyeleri AKİ grubunda saptandı. Çalışmamızın verileri *Rosencrantz et al.'un (2010)* çalışması ile uyumlu bulunmadı.

Primordiyal germ hücrelerinin (PGH) farklılaşmasından sonra, dişi fetüslerde oosit gelişimi başlar. İlk olarak, proliferatif PGH, tek tabaka foliküler epitel/GH'lerin ile birlikte primer foliküllerle sarılmış, oogonyaya farklılaştıkları yeni oluşan genital kabartıya doğru göç eder. Daha sonra, oogonia primer oositleri oluşturmak için mayoza girer, burada primer foliküllerin antrum içermeyen stratifiye GH'leri ile birlikte görülen sekonder foliküller haline gelir (McLaughlin and McIver, 2009). Daha sonra, sekonder foliküller proliferatif kübik şekilli GH'lerinin tam bir tabakası ile karakterize edilen, foliküler antruma sahip üçüncül foliküllere gelişir (Picton 2001). GH'leri foliküler gelişim boyunca çoğalmaya devam eder ve teka tabakası, foliküle bağımsız bir kan desteği sağlamak için gelişir (Young and McNeilly, 2010). Antral ile ilgili olarak, türlere bağlı değişmekle birlikte foliküller 200-500 µm arasında bir çapa ulaştığında bir kavite oluşur (Picton et al., 1998). Bu kavite, foliküler sıvı (FS) ile doldurulur (Sutton et al., 2003). Post-natal yaşamda oositler, ovülasyona, büyümeye, olgunlaşmaya gider stoklama mRNA'ları, proteinler, metabolik substratlar ve organeller oluşturur.

Over folikülojenezi düzenleyici ekstra ve yumurtalık faktörleri arasında işlemin doğru şekilde sürdürülmesi için dengenin sabit tutulmasını gerektirir. Oojenez büyük ölçüde bu faktörlerin özellikle de FS'de bulunanların işlevine bağlıdır. Bu faktörler arasındaki ilişkide değişiklikler anormal sonuçlanabilir folikülojenez ve düşük kaliteli oositler (Resende et al., 2010). Bu faktörler arasındaki ilişkideki değişiklikler anormal folikülojeneze neden olur ve düşük kaliteli oositlerin oluşumu ile sonuçlanabilir (Resende et al., 2010). FS, ovaryumun kortikal kısmında

yer alan bazı teka kılcal damarları ile bağlantılı kan akımı ve folikül içindeki hücre tabakaları-özellikle granüloza hücreleri olmak üzere iki yolla oluşturulur (Rodgers, 2010; Hennet ve Combelles, 2012). Doğal yumurtlama anında, oosit ile uterus tüpüne doğru çok büyük miktarda FS atılır (Wilding et al., 2006). FS'da oksijen, tamponlayıcı moleküller, karbonhidratlar, amino asitler, büyüme faktörleri (EGF, EGF-benzeyen, TGF- α), reaktif oksijen türleri (ROT), anti-apoptotik faktörler, yağ asitleri, hormonlar (FSH, LH, GH, hCG, progesteron ve östradiol), sitokinler, antikoagulantlar, elektrolitler, enzimatik-enzimatik olmayan antioksidanları (E vitamini, katalaz ve melatonin) içerir (Hsieh, Zamah, Conti, 2009; Resende et al., 2010; Hennet & Combelles, 2012; Shaaker et al., 2012). Foliküler sıvının bileşimi oositin biyokimyasal ortamını oluşturur ve daha sonra embriyo kalitesini belirler (Stracquadiano et al., 2017).

Serum ve FS ile yapılan çalışmalarda test edilen parametrelerle ilgili farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Stracquadiano et al. tarafından yapılan PKOS hastalarında yapılan bir çalışmada serum AMH düzeyleri ile FS AMH düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Stracquadiano et al., 2017). Bunların dışında *Bednarska-Bednarska-Czerwinska et al.*'un (2019) $AMH \geq 0.7$ ng/mL olan infertil hastalarda yaptığı çalışmada FS'da AMH ve D vitamin düzeyleri arasındaki korelasyon araştırılmış ve 30 ng/ml'ye kadar olan seviyelerde aralarında negative lineer korelasyon bulunmuştur. Bu konsantrasyondan sonra ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan pozitif korelasyon bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada serum AMH ve FS AMH düzeyleri tüm deney gruplarında birbirleri ile pozitif korelasyon gösterdi. En yüksek sAMH düzeylerine sahip PKOS grubunda fsAMH düzeyleri de en yüksek düzeyde saptandı. Aynı durum en düşük sAMH düzeylerine sahip AKİ'de de görüldü.

Bolat ve ark. 'nın (2016), yaptığı 25-40 yaş arasında olan infertil hastalarda yaptığı çalışmada klinik gebelik ile serum ve FS AMH düzeyleri arasındaki ilişki araştırılmış ve FS AMH düzeylerinin klinik gebelikle korelasyonu olmadığı serum AMH düzeylerinin ise gebelikle korelasyonu olduğu sonucuna varılmıştır. Mevcut çalışmamız, serum ve FS AMH ile klinik gebelik yönünden değerlendirildiğinde ise *Bolat ve ark. 'nın (2016)* yaptığı araştırmanın tersine hasta gruplarının sAMH ve fsAMH düzeyleri ile klinik gebelik arasında pozitif korelasyon saptandı.

Bersinger et al'un (2011), yaş ortalaması 35.3 olan konvansiyonel gonadotropin ile uyarılmış IVF siklusa giren ile yaş ortalaması 34.2 olan naturel IVF siklusa giren % 65'i erkek faktör, % 11'i tubal faktör ve % 4'ü AKİ tanısı konmuş hastaların serum ve FS'larındaki 13 tane sitokin düzeyini karşılaştırmıştır. IL-4, TNF- α , Aktivasyon ile regüle olan eksprese ve sekrete edilen normal T hücresi. (RANTES), eotaksin ve interferon-gama tarafından indüklenen protein-10 konsantrasyonlarının FS'da serumdan daha düşük; IL-6,-8,-10,-18, monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), vaskular endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve lösemi inhibe edici faktör (LIF) seviyeleri de serumdakinden daha yüksek olduğunu saptamıştır (Bersinger et al., 2011).Yapılan literatür araştırmasına göre AKİ'deki serum ve FS'daki bir sitokin olarak da değerlendirilen MK düzeyleri ile PKOS'daki FS MK düzeyleri ile defa bu çalışmada incelendi. PKOS serum MK düzeyleri yine tarafımdan yapılan bir çalışmada incelenmiş ve MK ile AMH düzeylerinin birbiri ile pozitif korelasyon göstererek çok yüksek çıktığı sonucu saptanmıştı. MK düzeyleri mevcut çalışmada incelendiğinde PKOS grubunun serum ve folikül sıvılarındaki MK düzeyinin AMH düzeylerinde olduğu gibi en yüksek, AKİ grubunda ise yine AMH düzeylerinde olduğu gibi en düşük olduğu saptandı.

Aynı çalışmada, bu belirteçlerin çoğunun serumdaki konsantrasyonunu, uyarılmış IVF sikluslarında naturel siklus gruplarından daha fazla arttığı, ancak foliküler sıvıda bu artışın olmadığı saptanmış (Bersinger et al., 2011), bu veriler ışığında foliküler savunma sisteminin gonadotropin stimülasyonundan etkilenmediği, foliküler hormon konsantrasyonlarının eksojen gonadotropinler tarafından etkilendiğini ancak bunun foliküler sitokinler için geçerli olmadığı sonucuna araştırmacılarca varılmıştır. Bu çalışma ile paralel olarak mevcut çalışmada MK düzeyleri incelendiğinde gonadotropin stimülasyonundan etkilenmediği sonucuna varılmıştır.

Foliküler immün süreçlerin, over stimülasyonundan bağımsız olarak yüksek serum/FS konsantrasyon oranları gösteren ortak interlökinler, MCP-1, VEGF veya LIF tarafından düzenlenmediğini *Bersinger et al.'un (2011)* yaptığı aynı çalışmada gösterilmiştir. Buna ek olarak, serumdaki birkaç sitokin seviyesindeki farklılığın, embriyo implantasyonu için uygun olan folikül dışındaki ortamı, iltihaplanma bulunan implantasyon için daha az elverişli bir ortama doğru değiştirilebileceğini gösterebileceğini savunmuşlardır (Bersinger et al., 2011). İnflamasyonu bulunan

hastalar, mevcut çalışmada AKİ grubuna dahil edilseydi bu grupta MK düzeyleri belki yüksek bulunabilirdi.

Foliküler gelişim ve atrezi fetüste başlar. Yumurtalık folikülleri, yumurtalıklarda üretilen yapılar olup hormonların ve oositlerin üretimi olmak üzere iki temel işlevi vardır. Antral foliküller bu fonksiyonları, farklı bir bazal laminaya üzerinde bulunan granuloza hücrelerinin (GH'ler) iç duvarı üzerinden düzenler. Yumurtalık folikülleri, granuloza öncesi hücreler veya GH'leri ile çevrili oositlerden oluşur. Özel hücre dışı matriksi nedeniyle, epitel tabakası bağ dokusundan ayrılır. Sonuç olarak, bu matriks GH'lerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını etkiler (Zhou et al., 2019). Yumurtalık folikülleri, oositler üretebilir veya foliküler atrezi olarak bilinen apoptozun dahil olduğu bir işlemle parçalanabilir.

Foliküler atrezi, yumurtalık foliküllerinin bozulmasına işaret eder ve kadınların yaşamı boyunca görülür (Zhou et al., 2019). Sonunda birçok folikül korpus luteumda gelişirken, büyük çoğunluğu da (% 99) foliküler atreziye uğrar (Zhou et al., 2019). Foliküler atrezi, ağırlıklı olarak GH'lerinin apoptozisine dayanan hormonal olarak düzenlenen bir apoptotik süreçtir (Zhou et al., 2019). Bu haliyle, GH apoptozinin artık yaygın bir foliküler atrezi mekanizması olduğu düşünülmektedir. Foliküler atrezi, folikül gelişimi için faydalı olan FSH tarafından da inhibe edilir. Folikül bir kez geliştiğinde, östrojen salgılar, bu da yüksek seviyelerde FSH salgılarını azaltır (Zhou et al., 2019). Bu nedenle, foliküler gelişim ve atrezinin hormonal düzenlenmesi eşik bağımlı bir mekanizmadır. Foliküler atrezi TNF- α , Fas ligand, TNF ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL), APO-3 ligand, PFG-5 ligand reseptörleri olmak üzere hücre ölümünde yer alan birçok ligand-reseptör sistemi ile de ilişkilendirilmiştir (Zhou et al., 2019).

Buna göre foliküler atrezinin gereksiz bir işlem olmadığı ve kadınların sağlıklı bir üreme sürecini sürdürmesi için kesinlikle gerekli olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Son çalışmalara göre, GH'lerinin apoptoz ve foliküler atreziyi düzenleyememesi, hormon türbülansı ve kemoterapiye dirençli kanserlerin gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Zhou et al., 2019). Yakın tarihli bir çalışmada, otofagozomların birikmesinin, Bcl-2'nin azalmış ekspresyonu ve ardından kaspazların aktive olmasıyla GH'lerin apoptotik hücre ölümünü indüklediğini göstermiştir. Bu bulgular otofajinin çoğunlukla GH'lerinde ortaya çıktığını ve bunun foliküler atreziye yol açtığını göstermektedir (Zhou et al., 2019).

Otofaji, hücrelerin gereksiz veya işlevsiz bileşenlerinin doğal olarak ortadan kaldırılması için çok önemlidir. Proteinler, lipidler, nükleotidler, mitokondri ve peroksisomlar gibi organeller gibi sitoplazmik bileşenler, bu işlem ile parçalanır ve geri dönüştürülür böylece hücre metabolizması korunur (Zhou et al., 2019). Otofaji ayrıca, bakteri ve virüs gibi yabancı maddeleri degradasyon için lizozoma iletir ve ayrıca enflamatuvar yanıtları düzenler (Zhou et al., 2019). Normal hücre fonksiyonlarının yürütülmesi için otofaji gereklidir. Otofaji, çok çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik roller oynar. Diğer hücre işlemleriyle karşılaştırıldığında otofaji, over foliküler gelişimi ve atrezisinde benzersiz işlevler gösterir. Otofajinin, makrotofaji, mikrotofaji ve şaperon aracılı otofaji dahil olmak üzere birkaç farklı türü vardır. Makrotofaji, parçalanması hedeflenen sitoplazmik bileşenlerin, hücrenin geri kalanından otofagozom olarak bilinen çift membranlı bir vezikül içinde izole edildiği klasik otofaji mekanizmasıdır (Zhou et al., 2019). Otofagozom, daha sonra lizozomlarla kaynaşır ve içerikler sonunda parçalanarak ve geri dönüştürülür.

Hastalıklarda, otofaji her zaman bir yandan hücre hayatta kalma stressine adaptif yanıtı veren, diğer yandan hücre ölümü ve morbiditeyi destekleyen iki ucu keskin bir kılıç olarak tanımlanmıştır (Zhou et al., 2019). Aşırı açlık koşullarında bile, otofajinin enerji üretim mekanizması olduğu gösterilmiştir. Hücre bileşenlerinin parçalanmasıyla, otofaji enerji seviyelerini koruyarak hücrenin hayatta kalmasını sağlar (Zhou et al., 2019). Birçok çalışma otofajinin enerji, immünite, farklılaşma, proliferasyon, hücre ölümü ve üremenin düzenlenmesi ile stresse karşı koruma dahil olmak üzere birçok farklı işleve sahip olduğunu göstermektedir (Zhou et al., 2019)

Otofaji, apoptoz ve nekroz gibi diğer hücre işlemlerden fizyolojik olarak çok farklıdır. Apoptoz, karyopiknozis ve DNA fragmentasyonunu içeren aktif ve programlanmış hücre ölüm sürecini içerir, ancak bu durum sitoplazmik organellerde değişiklik yapmaz. Nekroz ise plazma zarı yırtılması, hücre içi içeriğin kaybı ve ardından iltihabi sinyallerin salınması ile sonuçlanan çevresel bozulmaların neden olduğu pasif hücre ölümünü içerir (Zhou et al., 2019). Bununla birlikte, otofaji ve fagofor oluşumunun başlamasından sonra, otofagozomlar hücre matriksde birikir ve bozulmaya geçmeden önce lizozomlarla birleşirler (Zhou et al., 2019). Bunun yanında, otofaji ve apoptoz arasında çeşitli interaktif benzerlikler vardır: her iki işlem de çeşitli stress uyarıları ile aktive edilir ve çeşitli paylaşılan moleküller

tarafından düzenlenir. Foliküler atrezi, doğumdan hemen sonra yumurtalıklarda otofaji ile indüklense de, takip eden günlerde apoptozis foliküler atreziye katılır (Zhou et al., 2019).

Çalışmamızda geçirimli elektron mikrograflarının değerlendirilmesinde kontrol grubu olan erkek faktöründe 35 yaş altı bireylerde az ve 35 yaş üstü bireylerde ise daha fazla çeşitli büyüklüklerde yağ damlacıkları görülmüştür. Bu yağ damlacıklarının görülmesi bazı hücrelerde bozulmuş yağ metabolizması trafiği ya da bazı hücrelerde ekzositoz ile hücre dışına salınım yapan hücrelerin varlığı şeklinde değerlendirildi. Elektron mikrograflarında, 35 yaş altındaki bireylerde az, 35 yaş üstü bireylerde ise daha fazla apoptotik hücreler görülmüştür. Bu durum, ara kademe olmaksızın direkt apoptozun gerçekleştiğini bize göstermiştir. Özellikle 35 yaş üstü grupta hasarlı mitokondrilerin görülmesi (Kang et al., 2018) buradaki apoptotik mekanizmanın tipinin intrinsic (İç, Mitokondriyel) apoptoz olduğunu düşündürmektedir. Buna ek olarak, akım sitometride de yüksek olmayan apoptotik hücre oranları saptanmıştır. *Matos et al'un (2009)* bu olgularda kümulus ooforus hücreleri ile yaptıkları çalışmada, kültüre ettikleri bu hücreleri Sudan III/IV boyası ile boyadıklarında 3. ve 15. gün arasında yağ damlacıklarını tespit etmişlerdir. 3. günden 15. güne doğru ilerlendiğinde bazı hücrelerde bu damlacıkların kaybolduğu bazı hücrelerde ise daha seyrekleştiği ve boyutlarının küçüldüğü saptanmıştır. *Matos et al. (2009)* bu verilere göre, bu damlacıkların steroidojeneze ait olabileceği sonucunu çıkarmışlardır.

Bu çalışmada diğer gruplarla kıyaslandığında PKOS grubunda kümulus hücresi sitoplazmalarında çok belirgin değişik büyüklüklerde otofajik vakuoller görüldü. 35 yaş altındaki PKOS grubundaki bireylerde otofajik vakuoller daha az iken, 35 yaş üstündeki bireylerde bu vakuollerde artış olduğu görüldü. PKOS grubunda, TEM değerlendirmesinde de hem 35 yaş altı hem de üstü bireylerin kümulus hücrelerinde apoptotik hücrelerin diğer gruplara göre daha fazla görülmesi ve akım sitometrik analizler değerlendirildiği zaman gruplar arasında en yüksek apoptotik hücre oranının yine PKOS grubunda saptanması otofaji-apoptoz ilişkisini düşündürmektedir.

Polikistik over sendromu olguları ile daha önce yapılan çalışmalarda, mevcut çalışmanın otofaji-apoptoz ilişkisi üzerine olan verilerini desteklemektedir. *Li et al.'un (2019)*, anovülatuar PKOS hastaları ile yaptığı çalışmada hiperandrojenizm ile

granuloza hücreleri arasındaki ilişkiyi incelemiş ve PKOS oluşumunda androjen indükleyici otofajinin rolü olduğunu göstermiştir. Bazı çalışmalar otofagozom birikiminin, granuloza hücrelerinin apoptotik hücre ölümüne neden olabileceğini ve granuloza hücrelerinin apoptozisinin artmasının PKOS'da anovülasyon ve steroidojenez neden olabileceğini göstermiştir (Bas et al., 2011; Anderson and Lee, 1997). Otofajinin, adipoz disfonksiyonu ile ilişkili olduğunu ve obezitede sistemik insülin duyarlılığının düzenlenmesinde önemli bir role sahip olması otofajinin PKOS gelişiminde bir faktör olarak yer alabileceğini göstermektedir (Maixner et al., 2016). *Dai et al. (2006)* yaptığı çalışmada ilk defa otofajinin insan yumurtalık dokusunda aktiflendiği gösterildi. Bu çalışmada EGFR, ERBB2, FOXO1, MAPK1, NFKB1, IGF1, TP53 ve MAPK9'I içeren potansiyel otofajiye bağlı gen ağının, PKOS'da otofaji aktivasyonundan sorumlu olabileceği sonucuna varıldı.

Otofaji, apoptotik bir sürecin parçası olabileceği belli koşullarda sağkalım için bir araç olarak da değerlendirilebilir. TEM değerlendirilmesinde sağlıklı morfolojiye sahip hücrelerin görülmesi ve akım sitometri analizlerinde de düşük oranda da olsa canlı hücrelerin saptanması verinin bu şekilde yorumlanması da destekler niteliktedir. Bu durum otofaji-apoptoz ve otofaji-sağkalım olmak üzere bu iki durumun farklı hücrelerde aynı zaman aralığında görülmesi olarak da değerlendirilebilir.

Normal granuloza hücreleri ile PKOS'da granuloza hücrelerinin proliferasyonunun kıyaslayıp PKOS granuloza hücrelerinin proliferasyonunun çok yüksek olduğunu saptayan birçok çalışma olduğu gibi aralarında belirgin bir fark olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Liu et al., 2016; Takayama et al., 1996). *Liu et al. (2016)*, PKOS'lu bireylerin kümulus hücrelerinin genetik profillerini çıkardıklarında proliferasyondan sorumlu genlerin GV oositlerde arttığını, bunun da sağlıklı bireylerde karşılaşılan immatürasyondan daha fazlasına neden olduğunu saptamışlardır.

Bazı PKOS vakaları ile yapılan çalışmalarda kümulus hücre sayısının artmış olduğu saptansa da bunun yumurta sayısının fazlalığı ile orantılı bir sayı olduğu sonucuna varan çalışmalar mevcuttur (Revelli et al., 2009; Garg et al., 2016). Çalışmamızda oosit başına düşen ortalama kümulus hücre sayısı değerlendirildiğinde, kümulus hücre sayısının, kontrol grubuna göre yüksek olduğu

görüldü. Ancak diğer çalışmaların tersine bu çalışma da hücre sayısının fazlalığının yumurta sayısı ile bağlantısı olmadığı görüldü.

Çalışmamızda, AKİ grubunun TEM değerlendirilmesinde 35 yaş altında az sayıda hücrede, 35 yaş üstündeki hücrelerde de ise daha fazla hücrede olmak üzere sayısı artmış farklı büyüklüklerde yağ damlacıklarına rastlandı. Bu yağ damlacıklarının görülmesi bazı hücrelerde bozulmuş yağ metabolizması trafiğini ya da bazı hücrelerde ekzositoz ile hücre dışına salınım yapan hücrelerin varlığı şeklinde değerlendirildi. Erkek faktöründe *Matos et al. 'un (2009)* yaptığı çalışma ile paralel değerlendirildiğinde bunun steroidojenezin bir parçası olduğu sonucuna varmanın mümkün olduğu görülmektedir.

Bozulmuş yağ metabolizması, otofaji olarak da değerlendirilebileceğinden TEM değerlendirilmesinde görülmemesine rağmen “Açıklanamayan infertilite (unexplained infertility), idiopatik infertilite (idiopathic infertility), otofaji (autophagy), kadın (female, woman, women)” anahtar sözcükleri ile yapılan literatür araştırmasında sadece bir çalışmaya rastlanmamıştır. *Delcour et al.'un (2019)* yaptığı bu çalışmada, yumurtalık foliküllerinin erken tükenmesi ve FSH yüksek plazma seviyeleri, primer over yetersizliğine bağlı kısırlık vakalarında otofajinin bozulduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın ise açıklanamayan infertilite olgusu ile ilgili hiçbir bağlantısı yoktur.

Anahtar sözcüklerde otofaji yerine apoptoz (apoptosis) eklendiğinde ise birçok yayın çıkmaktadır. Çalışmamızda TEM değerlendirmelerinde özellikle 35 yaş altında orta düzeyde apoptotik ve nadir olmakla birlikte nekrotik hücre ölümleri gözlemlerken, 35 yaş üstü bireylerin kümulus hücrelerinde bu oranın arttığı, yüksek düzeye ulaştığı görüldü. Otofajik vakuole rastlanmamış olması bir ara süreçten geçiş olmaksızın direkt apoptotik sürecin başladığını bize göstermektedir. Bu açıklamayı destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. *Lee et al. (2001)*, 40 yaş ve üstü açıklanamayan infertilite hastalarının ile tubal faktör hastalarının kümulus hücreleri ile yaptığı çalışma da kümulus apoptozunun açıklanamayan infertilite hastalarında yüksek olduğunu bunun ise fertilizasyon oranını ve toplanan yumurta sayısını düşürdüğünü gösterdi. Bunu destekleyen diğer bir çalışma *İdil ve ark. (2004)* tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada da yaş ortalaması 32, yaş aralığı 20-37 olan açıklanamayan infertilite hastalarının granuloza hücreleri, tubal faktör hastalarının granuloza hücreleri ile kıyaslanmıştır ve bu çalışma sonunda açıklanamayan

infertilite hastalarının yüksek apoptotik hücre oranına sahip olduğu sonucuna varılmıştır (İdil ve ark., 2004). Açıklanamayan infertilite grubunda nadir olarak gözlemlenen nekrotik hücre ölümü ile ilgili bu veriyi destekleyen daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Kümülus hücre sayılarına bakıldığı zaman kontrol hücre grubuna göre hücre sayısında çok düşük oranda da olsa istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir.

Midkinin kanserde tedavilerinde anti-apoptotik etki gösteren gösteren bir protein olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Sabancı ve ark., 2014; Ergüven ve ark., 2016). Ergüven ve ark. (2011), MK'nin bir hücrede gerçekleşen otofajiyi ya otofajik hücre ölümüne ve sonra apoptoza ya da sağkalıma yöneltebileceğini göstermiştir. Bu noktada mevcut çalışmada PKOS grubunda görülen en yüksek apoptotik hücre yüzdesi, ona direnç olarak eksprese edilen en yüksek MK düzeyi ile ilişkilendirilebilir. Büyüme faktörü kimliğiyle anti-apoptotik ve proliferatif etki gösteren MK, PKOS'daki en yüksek hücre sayısı ile de açıklanabilir. AKİ'de saptanan 2. yüksek apoptoz oranı ve 2. yüksek MK düzeyleri, en düşük apoptoz oranı ve MK seviyesi saptanan erkek faktör ile PKOS verileri birlikte değerlendirildiğinde MK'nın anti-apoptotik etkisi ve proliferatif etkisine yönelik yorumu güçlendirmektedir. MK'nın kümulus proliferasyonuna etkisi daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Ikeda et al., 2006).

Ayrıca, AMH'nın primordiyal folikülden oosit oluşumunu engellemek adına yaptığı inhibisyon etkisine karşı yönde oosit oluşumuna teşvik etmesi de bu apoptozu engellemek adına proliferatif etkisini gösteren bir etkidir. Oosit sayısının yüksek AMH değerine sahip PKOS'lu hastalarda yüksek çıkması yüksek MK değerleri ile de ilişkilendirilebilir. Mevcut çalışmada gruplar klinik gebelik görülen ve görülmeyen olarak da kıyaslandığında gebelik görülmeyen hastaların serum ve FS AMH ve MK düzeyi, gebelik saptananlara göre daha yüksek saptandı. Bu da serum ve FS AMH ve MK seviyelerinin klinik gebelik ile pozitif korelasyona sahip olduğunu bize gösterdi. Gebelik görülmeyen tüm gruplar 35 yaş ve altı, 35 yaş üstü olmak üzere değerlendirildiğinde ise 35 yaş ve altı gruplardaki AMH ve MK düzeyleri, 35 yaş üstü gruplara göre daha yüksek çıktı. Bu durum ise, yaşa bağlı yumurta sayısında azalma ile ilişkilendirildi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sağlıklı bireylerin ve açıklanamayan infertilite teşhisi konmuş bireylerin yumurtalık rezervlerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesinde, değişkenlerden çok daha az oranda etkilenebilecek ve/veya AMH gibi başka bir belirteci destekleyip onun doğruluk payını artırarak tanı, tedavi ve izleme aşamalarının belirsizlikten ve yanlış değerlendirmelerden (Yalancı pozitif-yalancı negatif) kurtarabilecek, klinikte güvenilir ve yaygın biçimde kullanılabilir, maliyeti az, ulusal ve uluslararası alanda kabul görebilecek yeni bir belirtecin araştırılması açısından çalışmamızın hem literature hem de pratikte kliniğe faydalı olacağı görüşündeyiz. Bu çalışmaya göre kısaca aşağıdaki sonuçlar listelenebilir:

Bu çalışmada ilk defa,

1. AKİ hastalarının serum ve folikül sıvılarında büyüme faktörü ve sitokin olan MK araştırıldı. MK proteininin AMH gibi erkek faktöre göre AKİ seviyeleri birbirine yakın olduğundan AKİ olgularının tanı ve tedavisinde yeni bir belirteç olarak kabul edilemeyeceği sonucuna varıldı.
2. PKOS hastalarının FS'lerinde MK proteini seviyeleri incelendi. Daha önce tarafımdan serumda yapılan çalışmaya paralel olarak serumda olduğu olduğu gibi en yüksek MK seviyeleri bu grupta saptandı. Serumun yanında FS'daki MK'nın PKOS olgularının tanı ve tedavisinde yeni bir belirteç olarak kabul edilebileceği sonucuna varıldı.

7. KAYNAKÇA

Anderson, E., Lee, G.Y. (1997), The polycystic ovarian (PCO) condition: apoptosis and epithelialization of the ovarian antral follicles are aspects of cystogenesis in the dehydroepiandrosterone (DHEA)-treated rat model. *Tissue Cell.*,29,171–189.

Aras, Y., Erguven, M., Aktas, E., Yazihan, N., Bilir A. (2016), Antagonist activity of the antipsychotic drug lithium chloride and the antileukemic drug imatinib mesylate during glioblastoma treatment in vitro. *Neurol Res.* ,38(9),766-74.

Ata, B., Seyhan A., Seli, E. (2019), Diminished ovarian reserve versus ovarian aging: overlaps and differences. *Curr Opin Obstet Gynecol.*,31(3),139-147.

Bas, D., Abramovich, D., Hernandez, F., Tesone, M. (2011), Altered expression of Bcl-2 and Bax in follicles within dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovaries in rats. *Cell Biol Int.* ,35(5),423–429.

Bednarska-Czerwińska, A., Olszak-Wąsik, K., Olejek, A., Czerwiński, M., Tukiendorf, A.A. (2019), Vitamin D and Anti-Müllerian Hormone Levels in Infertility Treatment: The Change-Point Problem. *Nutrients.* ,11(5). pii: E1053.

Bersinger, N.A., Günthert, A.R., McKinnon, B., Johann, S., Mueller, M.D. (2011), Dose-response effect of interleukin (IL)-1 β , tumour necrosis factor (TNF)- α , and interferon- γ on the in vitro production of epithelial neutrophil activating peptide-78 (ENA-78), IL-8, and IL-6 by human endometrial stromal cells. *Arch Gynecol Obstet.* ,283(6),1291-6.

Bolat, S.E, Ozdemirci, S., Kasapoglu, T., Duran, B., Goktas, L., Karahanoglu, E. (2016), The effect of serum and follicular fluid anti-Mullerian hormone level on the number of oocytes retrieved and rate of fertilization and clinical pregnancy. *North Clin Istanb.* ,3(2),90-96.

Bradford, M.M. (1976), A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* , 72, 248–254.

Broer, S.L., Broekmans, F.J., Laven, J.S., Fauser, B.C. (2014), Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update.*,20(5),688-701.

Casadei, L., Manicuti, C., Puca, F., Madrigale, A., Emidi, E., *et al.* (2013), Can anti-Müllerian hormone be predictive of spontaneous onset of pregnancy in women with unexplained infertility? *J Obstet Gynaecol.*,33(8),857-61.

Cohen, J., Chabbert-Buffet, N., Darai, E. (2015), Diminished ovarian reserve, premature ovarian failure, poor ovarian responder--a plea for universal definitions. *J Assist Reprod Genet.*,32(12),1709-12.

Coskun, B., Dilbaz, B., Karadag, B., Coskun, B., Tohma, Y.A., Dur, R., Akkurt, M.O. (2018), The role of anti-Mullerian hormone in predicting the response to clomiphene citrate in unexplained infertility. *Taiwan J Obstet Gynecol.*,57(5),713-717.

Coticchio, G., Dal Canto, M., Fadini, R., Mignini Renzini, M., Guglielmo, M.C., *et al.* (2016), Ultrastructure of human oocytes after in vitro maturation. *Mol Hum Reprod.*,22(2),110-8.

Dai, L.C., Xu, D.Y., Yao, X., Min, L.S., Zhao, N., *et al.* (2006), Construction of a fusion protein expression vector MK-EGFP and its subcellular localization in different carcinoma cell lines. *World J Gastroenterol.*,12(47),7649-53.

Das, M., Djahanbakhch, O., Hacıhanefiöglu, B., Sarıdoğan, E., İkrām, M., *et al.* (2008), Granulosa cell survival and proliferation are altered in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.*, 93(3), 881–887.

Delcour, C., Amazit, L., Patino, L.C., Magnin, F., Fagart, J., *et al.* (2019), ATG7 and ATG9A loss-of-function variants trigger autophagy impairment and ovarian failure. *Genet Med.*, 21(4), 930-938.

Dewailly, D., Andersen, C.Y., Balen, A., Broekmans, F., Dilaver, N., *et al.* (2014), The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Hum Reprod Update.*, 20(5),370-85. Erratum in: *Hum Reprod Update.*, 20(5),804.

di Clemente, N., Jamin, S.P., Lugovskoy, A., Carmillo, P., Ehrenfels, C., *et al.* (2010), Processing of anti-Müllerian hormone regulates receptor activation by a mechanism distinct from TGF- β . *Mol Endocrinology.*,24(11),2193-2206

Dixit, S.G., Ghatak, S., Singh, P., Bhattacharya, S. (2018), Estrogen receptor, progesterone receptor and CD8+ expression in endometrium of women of unexplained infertility. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.*,47(10),533-537.

Erguven, M., Bilir, A., Yazihan, N., Ermis, E., Sabanci, A., *et al.* (2011), Decreased therapeutic effects of noscapine combined with imatinib mesylate on human glioblastoma in vitro and the effect of midkine. *Cancer Cell Int.*,11(1),18.

Erguven, M., Oktem, G., Kara, A.N., Bilir, A. (2016), Lithium chloride has a biphasic effect on prostate cancer stem cells and a proportional effect on midkine levels. *Oncol Lett.*,12(4),2948-2955.

Esnafoglu, E., Cirrik, S. (2018), Increased serum midkine levels in autism spectrum disorder patients. *Int J Neurosci.*,128(7),677-681.

Fernández-Calle, R., Vicente-Rodríguez, M., Pastor M., Gramage E., Di Geronimo B., *et al.* (2018), Pharmacological inhibition of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase β/ζ (PTPRZ1) modulates behavioral responses to ethanol. *Neuropharmacology.*, 137,86-95.

Franks, S. (1995), Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.*,333,853–861.

Garg, D., Tal, R. (2016), The role of AMH in the pathophysiology of polycystic ovarian syndrome. *Reprod Biomed Online.*,33,15-28.

Grynnerup, A.G., Løssl, K., Pilsgaard, F., Lunding, S.A., Storgaard, M., *et al.* (2019), Prediction of the lower serum anti-Müllerian hormone threshold for ovarian stimulation prior to in-vitro fertilization using the Elecsys® AMH assay: a prospective observational study. *Reprod Biol Endocrinol.*,17(1),11.

Güngör, C., Zander, H., Effenberger, K.E., Vashist, Y.K., Kalinina, T., *et al.* (2011), Notch signaling activated by replication stress-induced expression of midkine drives epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance in pancreatic cancer. *Cancer Res.*,71(14),5009-19.

Herawati, S. (2019), Anti-Mullerian Hormone (AMH) as a Novel Marker for Ovarian Function: A Review. *Bali Med J.*, 8 (2), 384-390.

Herradon, G., Ezquerra, L., Nguyen, T., Silos-Santiago, I., Deuel, T.F. (2005), Midkine regulates pleiotrophin organ-specific gene expression: evidence for transcriptional regulation and functional redundancy within the pleiotrophin/midkine developmental gene family. *Biochem Biophys Res Commun.*,333(3),714-21.

Hirota, Y., Osuga, Y., Nose, E., Koga, K., Yoshino, O., *et al.* (2007), The presence of midkine and its possible implication in human ovarian follicles. *Am J Reprod Immunol.*,58(4),367-73.

Idil, M., Cepni, I., Demirsoy, G., Ocal, P., Salihoğlu, F., Senol, H., Elibol, F., ve ark. (2004), Does granulosa cell apoptosis have a role in the etiology of unexplained infertility? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*,112(2),182-4.

Ikeda, S., Saeki, K., Imai, H., Yamada, M. (2006), Abilities of cumulus and granulosa cells to enhance the developmental competence of bovine oocytes during in vitro maturation period are promoted by midkine; a possible implication of its apoptosis suppressing effects. *Reproduction.*,132(4),549-57.

Ikeda, S., Yamada, M. (2014), Midkine and cytoplasmic maturation of mammalian oocytes in the context of ovarian follicle physiology. *Br J Pharmacol.*,171(4),827-36.

Jones, D.R. (2014), Measuring midkine: the utility of midkine as a biomarker in cancer and other diseases. *Br J Pharmacol.*,171(12),2925-39.

Kadomatsu, K., Kishida, S., Tsubota, S. (2013), The heparin-binding growth factor midkine: the biological activities and candidate receptors. *J Biochem.*,153(6),511-21.

Kahraman, S., Çetinkaya, C.P., Çetinkaya, M., Tüfekçi, M.A., Ekmekçi, C.G., ve ark. (2018), Is there a correlation between follicle size and gene expression in cumulus cells and is gene expression an indicator of embryo development? *Reprod Biol Endocrinol.*,16(1),69.

Kang ,W., Ishida, E., Yamatoya, K., Nakamura, A., Miyado, M., *et al.* (2018), Autophagy-disrupted LC3 abundance leads to death of supporting cells of human oocytes. *Biochem Biophys Rep.*,15,107-114.

Kang, Y.H., Cho, M.H., Kim, J.Y., Kwon, M.S., Peak, J.J., Kang, S.W., *et al.* (2016), Impaired macrophage autophagy induces systemic insulin resistance in obesity. *Oncotarget.*,7824),35577–35591.

Kaplan, F., Comber, J., Sladek, R., Hudson, T.J., Muglia, L.J., *et al.* (2003), The growth factor midkine is modulated by both glucocorticoid and retinoid in fetal lung development. *Am J Respir Cell Mol Biol.*,28(1),33-41.

Kaya, C., Alay, İ., Babayeva, G., Gedikbaşı, A., Ertaş Kaya, S., Ekin, M., ve ark. (2019), Serum Kisspeptin levels in unexplained infertility, polycystic ovary syndrome, and male factor infertility. *Gynecol Endocrinol.*,35(3),228-232.

Kishida, S., Mu, P., Miyakawa, S., Fujiwara, M., Abe, T., *et al.* (2013), Midkine promotes neuroblastoma through Notch2 signaling. *Cancer Res.*,73(4),1318-27.

Kruszyńska, A., Słowińska-Srzednicka, J. (2017), Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause. *Prz Menopauzalny.*,16(2),47-50.

Lee, K.S., Joo, B.S, Na, Y.J., Yoon, M.S., Choi, O.H., *et al.* (2001), Cumulus cells apoptosis as an indicator to predict the quality of oocytes and the outcome of IVF-ET. *J Assist Reprod Genet.*,18(9),490-8.

Li, D., You, Y., Bi, F.F., Zhang, T.N., Jiao, J., *et al.* (2018), Autophagy is activated in the ovarian tissue of polycystic ovary syndrome. *Reproduction.*,155(1),85-92.

Li, X., Qi, J., Zhu, Q., He, Y., Wang, Y., *et al.* (2019), The role of androgen in autophagy of granulosa cells from PCOS. *Gynecol Endocrinol.*, 1-4.

Liu, Q., Li, Y., Feng, Y., Liu, C., Ma, J., *et al.* (2016), Single-cell analysis of differences in transcriptomic profiles of oocytes and cumulus cells at GV, MI, MII stages from PCOS patients. *Sci Rep.*,6,39638.

Maixner, N., Bechor, S., Vershinin, Z., Pecht, T., Goldstein, N., *et al.* (2016), Transcriptional dysregulation of adipose tissue autophagy in obesity. *Physiology (Bethesda)*,31(4),270–282.

Matos, L., Stevenson, D., Gomes, F., Silva-Carvalho, J.L., Almeida, H. (2009), Superoxide dismutase expression in human cumulus oophorus cells. *Mol Hum Reprod.*,15(7),411-9.

Maxia, N., Uccella, S., Ersetigh, G., Fantuzzi, M., Manganini, M, *et al.* (2018), Can unexplained infertility be evaluated by a new immunological four-biomarkers panel? A pilot study. *Minerva Ginecol.*,70(2),129-137.

McLaughlin, E.A., McIver, S.C. (2009), Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development. *Reproduction.*,137(1),1-11 .

Minegishi, T., Karino, S., Tano, M., Ibuki, Y., Miyamoto, K. (1996), Regulation of midkine messenger ribonucleic acid levels in cultured rat granulosa cells. *Biochem Biophys Res Commun.*,229(3),799-805.

Muramatsu, H., Zou, P, Kurosawa, N., Ichihara-Tanaka, K., Maruyama, K., *et al.* (2006), Female infertility in mice deficient in midkine and pleiotrophin, which form a distinct family of growth factors. *Genes Cells.*,11(12),1405-17.

Muramatsu, T., Kadomatsu, K. (2014), Midkine: an emerging target of drug development for treatment of multiple diseases. *Br J Pharmacol.*,171(4),811-3.

Muramatsu, T. (2002), Midkine and pleiotrophin: two related proteins involved in development, survival, inflammation and tumorigenesis. *J Biochem.*,132(3),359-71.

Muramatsu, T. (2014), Structure and function of midkine as the basis of its pharmacological effects. *Br J Pharmacol.*,171 (4),814-26.

Orouji Jokar, T., Fourman L.T., Lee, H., Mentzinger, K., Fazeli, P.K. (2018), Higher TSH Levels Within the Normal Range Are Associated With Unexplained Infertility. *J Clin Endocrinol Metab.*,103(2),632-639.

Pellatt L., Hanna L., Brincat M., Galea R., Brain H. (2007), Whitehead S., Mason H. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab.*, 92(1), 240-5.

Pigny, P., Jonard, S., Robert, Y., Dewailly, D. (2006), Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.*, 91(3), 941-5.

Piouka, A., Farmakiotis, D., Katsikis, I., Macut, D., Gerou, S., *et al.* (2009), Anti-Mullerian hormone levels reflect severity of PCOS but are negatively influenced by obesity: relationship with increased luteinizing hormone levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 296(2), E238-43.

Picton, H., Briggs, D., Gosden, R. (1998), The molecular basis of oocyte growth and development. *Mol Cell Endocrinol.*,145 (1-2),27-37

Picton, H.M. (2001), Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology.*,55,1193-1210.

Revelli, A., Delle Piane, L., Casano, S., Molinari, E., Massobrio, M., *et al.* (2009), Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. *Reprod Biol Endocrinol.*, 7,40.

Rosencrantz, M.A., Wachs, D.S., Coffler, M.S., Malcom, P.J., Donohue, M., *et al.* (2010), Comparison of inhibin B and estradiol responses to intravenous FSH in women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Hum Reprod.*,25(1),198-203.

Rienzi, L., Ubaldi, F., Iacobelli, M., Minasi, M.G., Romano, S., *et al.* (2005), Meiotic spindle visualization in living human oocytes. *Reprod Biomed Online.*,10(2),192-8.

Stracquadiano, M., Ciotta, L., Palumbo, M.A. (2018), Relationship between serum anti-Mullerian hormone and intrafollicular AMH levels in PCOS women.. *Gynecol Endocrinol.*,34(3),223-228.

Revelli, A., Delle Piane, L., Casano,, S., Molinari E., Massobrio, M., *et al.* (2009), *Reprod Biol Endocrinol.*, 7,40.

Rigon, C., Andrisani, A., Forzan, M., D'Antona, D., Bruson, A., *et al.* (2010), Association study of AMH and AMHRII polymorphisms with unexplained infertility. *Fertil Steril.*,94,1244-8.

Sabancı, P.A., Ergüven, M., Yazıhan, N., Aktaş, E., Aras, Y., *et al.* (2014), Sorafenib and lithium chloride combination treatment shows promising synergistic effects in human glioblastoma multiforme cells in vitro but midkine is not implicated. *Neurol Res.*,36(3),189-97.

Salehi, E., Aflatoonian, R., Moeini, A., Yamini, N., Asadi, E., *et al.* (2017), Apoptotic biomarkers in cumulus cells in relation to embryo quality in polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet.*, 296(6),1219-1227.

Serinkan Cinemre, F.B., Cinemre, H., Karacaer, C., Aydemir, B., Nalbant, A., *et al.* (2016), Midkine in vitamin D deficiency and its association with anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies. *Inflamm Res.*,65(2),143-50.

Shen, W., Park, B.W., Toms, D., Li, J. (2012), Midkine promotes proliferation of primordial germ cells by inhibiting the expression of the deleted in azoospermia-like gene. *Endocrinology.*,153,3482-92.

Shi, Y., Zhao H., Shi, Y., Cao, Y, Yang, D., *et al.* (2012), Genome-wide association study identifies eight new risk loci for polycystic ovary syndrome. *Nat Genet.*,44,1020–1025.

Su, Z., Lv X., Liu, Y., Zhang, J., Guan, J., *et al.* (2016), Circulating midkine in children with Henoch-Schönlein purpura: Clinical implications. *Int Immunopharmacol.*,39,246-250.

Sutton, M.L., Gilchrist, R.B., Thompson, J.G. (2003), Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. *Hum Reprod Update.*,9,35-48

Svensson, S.L., Pasupuleti, M., Walse, B., Malmsten, M, Mörgelin, M., *et al.* (2010), Midkine and pleiotrophin have bactericidal properties: preserved antibacterial activity in a family of heparin-binding growth factors during evolution. *J Biol Chem.*

Tafvizi, F., Masomi, M. (2016), Comparison of Serum Leptin Level in Women with Unexplained Infertility and Fertile Women in Iran. *J Obstet Gynaecol India.*,66,466-70.

Takayama, K., Fukaya, T., Sasano, H., Funayama, Y., Suzuki, T., *et al.* (1996), Immunohistochemical study of steroidogenesis and cell proliferation in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.*, 11, 1387–1392

Tal, R., Seifer, D.B. (2017), Ovarian reserve testing: a user's guide. *Am J Obstet Gynecol.*,217(2),129-140.

Tanriverdi, G., Denir, S., Ayla, S. Bilir, A., Oktar, H., *et al.* (2013), Notch signaling pathway in cumulus cells can be a novel marker to identify poor and normal responder IVF patients. *J Assist Reprod Genet.*,30(10),1319-26.

Vander Borgh, M., Wyns, C. (2018), Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem.*,62,2-10.

Wang, F., Niu, W.B., Kong, H.J., Guo, Y.H., Sun, Y.P. (2017), The role of AMH and its receptor SNP in the pathogenesis of PCOS. *Mol Cell Endocrinol.*,439,363-368.

Wiweko, B., Maidarti, M., Priangga, M.D., Shafira, N., Fernando, D., *et al.* (2014), Anti-mullerian hormone as a diagnostic and prognostic tool for PCOS patients. *J Assist Reprod Genet.*, 31(10),1311-6.

Xu, C., Zhu, S., Wu, M., Han, W., Yu, Y. (2014), Functional receptors and intracellular signal pathways of midkine (MK) and pleiotrophin (PTN). *Biol Pharm Bull.*,37(4),511-20.

Yamamoto, H., Yamashita, Y., Saito, N., Hayashi, A., Hayashi, M., *et al.* (2017), Lower FOXO3 mRNA expression in granulosa cells is involved in unexplained infertility. *J Obstet Gynaecol Res.*, 43(6),1021-1028.

Yao, X., Tan, Z., Gu, B., Wu, R.R., Liu, Y.K., Dai, L.C., *et al.* (2010), Promotion of self-renewal of embryonic stem cells by midkine. *Acta Pharmacol Sin.*,31(5),629-37.

Young, J.M., McNeilly, A.S. (2010), Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction.*,140,489-504

Zhao, S.L., Zhang, Y.J., Li, M.H., Zhang, X.L., Chen, S.L. (2014), Mesenchymal stem cells with overexpression of midkine enhance cell survival and attenuate cardiac dysfunction in a rat model of myocardial infarction. *Stem Cell Res Ther.*,5(2),37.

Zhou, J., Peng, X., Mei, S. (2019), Autophagy in Ovarian Follicular Development and Atresia. *Int J Biol Sci.*,15(4),726-737.

8. EKLER

8.1. İntihal Raporu

İNTRASİTOPLAZMİK SPERM ENJEKSİYONU UYGULAMALARINA GİREN AÇIKLANAMAYAN KISIRLIK TEŞHİSİ KONAN HASTALARDA, YUMURTALIK KAPASİTESİNİN VE YUMURTA KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE YENİ BİR BELİRTEÇ			
ORJİNALLİK RAPORU			
%4 BENZERLİK ENDEKSİ	%2 İNTERNET KAYNAKLARI	%1 YAYINLAR	%3 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi		%1
2	www.cellmid.com.au İnternet Kaynağı		<%1
3	Submitted to Istanbul Aydın University Öğrenci Ödevi		<%1
4	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi		<%1
5	rba.elsevier.es İnternet Kaynağı		<%1
6	www.cpa-apc.org İnternet Kaynağı		<%1
7	Submitted to Trakya University Öğrenci Ödevi		<%1

8	www.medischcentrumhuisartsen.be İnternet Kaynağı	<%1
9	Ari, Mustafa, Mehmet KOKACYA, mit Copoglu, Erhan Yengil, Yuksel Kivrak, Musa Sahpolat, and Birsen Budak. "Stress reaction, anxiety and depression after bomb attacks in Reyhanli in Syria-Turkey border", Anatolian Journal of Psychiatry, 2015. Yayın	<%1
10	www.sporbilim.com İnternet Kaynağı	<%1
11	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
12	Submitted to Dokuz Eylül Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
13	www.perinataldergi.com İnternet Kaynağı	<%1
14	Da Li, Yue You, Fang-Fang Bi, Tie-Ning Zhang, Jiao Jiao, Tian-Ren Wang, Yi-Ming Zhou, Zi-Qi Shen, Xiu-Xia Wang, Qing Yang. "Autophagy is activated in the ovarian tissue of polycystic ovary syndrome", Reproduction, 2018 Yayın	<%1
15	www.ijbs.com İnternet Kaynağı	<%1

16	Submitted to Istanbul Medipol Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1	
17	Submitted to Ankara University Öğrenci Ödevi	<%1	
Alıntıları çıkart	Kapat	Eşleşmeleri çıkar	Kapat
Bibliyografyayı Çıkart	Kapat		

8.2. Etik Kurul Kararı

T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Tarih: 26.04.2017 Toplantı Sayısı:5	Karar No: 2017/5-1 Sorumlu Araştırmacı Doç.Dr.Mine Ergüven'in planladığı 'İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulamalarına giren açıklanamayan kısırlık teşhisi konan hastalarda yumurtalık kapasitesinin ve yumurta kalitesinin değerlendirilmesinde yeni bir belirteç olarak serum midkin protein düzeylerinin anti-Müllerian hormon düzeyleri ile birlikte araştırılması' konulu araştırma incelendi, yapılan inceleme sonucunda araştırmanın etik yönden uygun olduğuna karar verildi.
--	--

ÜYELER

Adı soyadı	Alanı	Bölümü	Katılım	İmza
Prof.Dr.Tülay İrez	Temel Tıp Bilimleri	Histoloji ve Embriyoloji	Etik kurul Başkanı	<i>Katılmış</i>
Prof.Dr.Fatma Çelik	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Beslenme ve Diyetetik	Üye	<i>Fatma Çelik</i>
Doç.Dr.Leman Şenturan	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Hemşirelik	Etik Kurul Başkan Yardımcısı	<i>L. Şenturan</i>
Doç.Dr.Şölen Himmetoğlu	Tıp Fakültesi Temel Bilimler	Tıbbi Biyokimya	Raportör	<i>Şölen Himmetoğlu</i>
Yrd.Doç.Dr.Ayşe Tuğba Ceyhan Duman	Eğitim Fakültesi	Zihin Engelliler	Üye	<i>Ayşe Tuğba Ceyhan Duman</i>
Yrd.Doç.Dr.Belen Şirinoğlu Çapan	Diş Hekimliği Fakültesi	Pedodonti	Üye	<i>Belen Şirinoğlu Çapan</i>

9.ÖZGEÇMİŞ

9.1. Özgeçmiş

Ünvanı, Adı-Soyadı: Doç. Dr. Mine ERGÜVEN, Biyokimya Uzmanı (Ph.D, Doçent) ve Klinik Embryoloji (M.Sc).

Doğum Tarihi: 21 Temmuz 1979

Öğrenim Bilgileri

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Fen Fakültesi Biyoloji-Genetik Mühendisliği Kümesi	İstanbul Üniversitesi	1997-2001
Y. Lisans	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi Biyokimya Programı	İstanbul Üniversitesi	2001-2004
Y. Lisans	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embryoloji Klinik Embryoloji Programı	Biruni Üniversitesi	2016-2019
Doktora	Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya Programı	İstanbul Üniversitesi	2004-2009
Doçentlik	Sağlık Bilimleri Alanı-Biyokimya	Yüksek Öğretim Kurumu	12 Mart 2015

Çalışma Alanları: Kanser (Rahim, Beyin Tümörü, Lösemi, Prostat), Kısırlık-Tüp Bebek, Kök Hücre (Organ yapılandırılması), Kanser Kök Hücresi, Biyoyumluluk, Hücre ve Doku Kültürü, Gıda raf ömrü uzatılması, Gıda Takviyeleri, Biyosensör, İlaç Tasarımı-Nanoteknoloji.

Teknikler: Hücre ve Doku Kültürü, Biyokimya Testleri, Moleküler Biyoloji ve Genetik Uygulamaları, Elektron Mikroskopisi (TEM, SEM), Histolojik Boyama Teknikleri ve İmmunohistokimya.

1.Yüksek Lisans Tez Başlığı ve Tez Danışman(lar)ı

Tez Başlığı: Suramin'in C6 gliomada telomeraz aktivitesi üzerine etkisi.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nuriye AKEV-İstanbul Üniversitesi

2. Yüksek Lisans Tez Başlığı (özeti ekte) ve Tez Danışman(lar)ı

Tez Başlığı: İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulamalarına giren açıklanamayan kısırlık teşhisi konan hastalarda, yumurtalık kapasitesinin ve yumurta kalitesinin değerlendirilmesinde yeni bir belirteç olarak serum midkin protein düzeylerinin anti-müllerian hormon düzeyleri ile birlikte araştırılması

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Tülay İrez-Biruni Üniversitesi

Doktora Tezi/S.Yeterlik Çalışması/Tıpta Uzmanlık Tezi Başlığı ve Danışman(lar)ı

Tez Başlığı: İmatinibin indometazin, lityum, selisiklib ve noskapin ile kombinasyonunun T98G insan glioblastoma hücrelerine etkisinin in vitro incelenmesi.

Tez Danışmanları:

1.Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nuriye AKEV-İstanbul Üniversitesi

2.Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ayhan BİLİR-İstanbul Üniversitesi

Yabancı Dil Bilgileri

Dil	Sınav	Yıl/Dönem	Puan
İngilizce	ÜDS	2010-Sonbahar	78.75

Akademik Görevler

Ünvan	Görev Yeri	Göreve Başlama Yılı	Görev Bitiş Yılı
Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2001	2009
Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (Proje Görevlendirilmesi)	2007	2009
Yardımcı Doçent	Yeni Yüzyıl Üniversitesi Mimarlık Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği 2547 sayılı kanununun 13/b-4 maddesi gereğince Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda görevlendirme	2010	2013
Yardımcı Doçent	İstanbul Aydın Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği 2547 sayılı kanununun 13/b-4 maddesi gereğince Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde görevlendirme	2013	2014
Yardımcı Doçent	İstanbul Aydın Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği	2014	2015
Doçent	İstanbul Aydın Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği, 2547 sayılı kanununun 13/b-4 maddesi gereğince Tıbbi Laboratuvar Teknikleri'nde görevlendirme.	Mart 2015	2016
Doçent	İstanbul Aydın Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar Teknikleri 2547 sayılı kanununun 13/b-4 maddesi gereğince Biyomedikal Mühendisliği'nde görevlendirme.	Ocak 2016	Mayıs 2016
Doçent	İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya	Mayıs 2016	Ocak 2017
Doçent	İstanbul Aydın Üniversitesi Patoloji Laboratuvar Teknikleri-2547-13/b-4 Gıda Teknolojisi görevlendirme	Ocak 2017	-

Yönetilen Tezler

Derece	Öğrenci Adı- Soyadı	Tez Başlığı	Mezuniyet Yılı	Diğer Danışmanlar
Doktora	Sinem Kuru*	Lipoteikoik asitin kalsiyum-silikat içerikli simanlar ile inaktivasyonunun dental pulpa kök hücrelerinde hücre ölüm mekanizmalarına etkisi	2016	Prof. Dr. Elif Sepet
Tıpta Uzmanlık	Tolga Dünder*	Beyin tümörlerinde hiperoksijenizasyonun neovaskularizasyona etkisi	2013	Dr. Hakan Seyithanoğlu- Bezm-i Alem Vakıf Üniversitesi
Yüksek Lisans	Kübra Çiğirim*	Kadmiyumun korpus luteum üzerine etkisi	2011	Prof. Dr. Mustafa Taşyürekli- İstanbul Üniversitesi
Yüksek Lisans	Afsoon Saeidi	Gojiberry'nin kadın kısırlığında kullanılan gıda takviyeleri ile etkilerinin incelenmesi	2017	Doç. Dr. Mine Ergüven
Yüksek Lisans	Zülküf Yılmaz	Melatonin takviyesinin gojiberry meyvesi ile etkisinin incelenmesi	2017	Doç. Dr. Mine Ergüven

* Yukarıda bahsi geçen öğrencilerin tezlerinde 2. Danışman sıfatıyla görev yapılmıştır.

Verilen Dersler

Ders Adı	Akademik Yıl	Dönem	Teorik Ders Saati	Uygulama Ders Saati	Öğrenci Sayısı	Açıklama
Bilgisayar Uygulamaları Dersi	2010-2011	Güz	1	2	103	Lisans
Bilgisayar Uygulamaları Dersi	2010-2011	Bahar	1	2	40	Lisans
Bilgisayar Uygulamaları Dersi	2011-2012	Güz	1	2	222	Lisans
Bilgisayar Uygulamaları Dersi	2011-2012	Bahar	1	2	60	Lisans
Biyokimya	2011-2012	Bahar	3	0	16	Lisans
Genel Kimya	2012-2013	Güz	3	2	27	Lisans
Biyokimya	2012-2013	Güz	2	0	70	Lisans
Biyokimya	2012-2013	Güz	1	0	27	Yüksek Lisans
Tıbbi İngilizce	2012-2013	Güz	1	0	60	Lisans
Biyokimya ve Organik Kimya	2012-2013	Bahar	2	0	22	Lisans
Biyokimya I	2013-2014	Güz	4	0	37	Lisans
Biyokimya II	2013-2014	Güz	4	0	37	Lisans
Biyokimya	2013-2014	Güz	2	0	59	Lisans

Ders Adı	Akademik Yıl	Dönem	Teorik Ders Saati	Uygulama Ders Saati	Öğrenci Sayısı	Açıklama
Tıbbi İlk Yardım	2013-2014	Güz	1	2	59	Lisans
Kanser Biyokimyası	2013-2014	Güz	2	0	2	Yüksek Lisans
Biyokimya	2013-2014	Güz	2	0	15	Lisans
Biyokimya	2013-2014	Güz	2	0	63	Önlisans
Biyokimya	2013-2014	Güz	2	0	79	Önlisans
Gıda ve Sağlık	2013-2014	Bahar	2	0	94	Lisans
Biyomalzemeler	2013-2014	Bahar	3	0	78	Lisans
Sunum Teknikleri I	2013-2014	Bahar	2	0	56	Lisans
Moleküler Biyoloji ve Genetik	2013-2014	Bahar	2	0	24	Lisans
Bitirme Projesi II	2013-2014	Bahar	1	0	9	Lisans
Bitkisel Yağ Teknolojisi	2013-2014	Bahar	2	0	54	Lisans
Genetics in Dentistry	2013-2014	Bahar	2	0	19	Lisans
Stem Cells and Clinical Applications	2013-2014	Bahar	2	0	19	Lisans
Moleküler Biyoloji ve Genetik	2013-2014	Bahar	2	0	20	Lisans
Stokiyometri	2013-2014	Yaz	6	0	17	Lisans

Ders Adı	Akademik Yıl	Dönem	Teorik Ders Saati	Uygulama Ders Saati	Öğrenci Sayısı	Açıklama
Beslenme	2014-2015	Güz	2	0	48	Lisans
Sunum Teknikleri-II	2014-2015	Güz	2	0	36	Lisans
Biyokimya	2014-2015	Güz	2	0	30	Lisans
Nutrition	2014-2015	Güz	2	0	2	Lisans-Erasmus
Bitirme Projesi-I	2014-2015	Güz	0	6	9	Lisans
Biyokimya	2014-2015	Güz	6	0	50	Lisans
Kanser Biyokimyası	2014-2015	Güz	2	0	2	Yüksek Lisans
Gıda Güvenliği	2014-2015	Bahar	3	0	8	Yüksek Lisans
Moleküler Biyoloji ve Genetik	2014-2015	Bahar	2	0	40	Lisans
Bitirme Projesi-II	2014-2015	Bahar	0	6	9	Lisans
Genetics in Dentistry	2014-2015	Bahar	2	0	33	Lisans
Stem Cells and Clinical Applications	2014-2015	Bahar	2	0	33	Lisans
Klinik Biyokimya	2014-2015	Bahar	2	0	16	Lisans
Isı ve Kütle Aktarımı	2014-2015	Yaz	4	0	17	Lisans
Araştırma Metotları	2015-2016	Güz	1	0	39	Lisans
Biyokimya	2015-2016	Güz	3	0	8	Yüksek

Ders Adı	Akademik Yıl	Dönem	Teorik Ders Saati	Uygulama Ders Saati	Öğrenci Sayısı	Açıklama
						Lisans
Biyokimya I-II	2015-2016	Güz	6	0	143	Lisans
General Chemistry	2015-2016	Güz	2	2	169	Lisans
Gıda ve Sağlık	2015-2016	Güz	2	0	255	Lisans
İleri Biyokimya	2015-2016	Güz	3	0	2	Doktora
Kök Hücre ve Klinik Uygulamaları	2015-2016	Bahar	2	0	38	Lisans
Diş Hekimliğinde Genetik	2015-2016	Bahar	2	0	38	Lisans
Klinik Biyokimya	2015-2016	Bahar	2	0	26	Lisans
Halk Sağlığı	2015-2016	Bahar	3	0	5	Yüksek Lisans
Moleküler Biyoloji ve Genetik	2015-2016	Bahar	2	0	9	Lisans
Tıbbi Biyokimya	2016-2017	Güz	2	2	60	Lisans
Biyokimya I-II	2016-2017	Güz	4	2	120	Lisans
Kimya	2016-2017	Güz	2	0	73	Ön Lisans
Teknik İngilizce	2016-2017	Güz	3	0	47	Lisans
Kök Hücre ve Klinik Uygulamaları	2016-2017	Bahar	2	2	120	Lisans
Klinik Biyokimya	2016-2017	Bahar	2	0	28	Lisans

Ders Adı	Akademik Yıl	Dönem	Teorik Ders Saati	Uygulama Ders Saati	Öğrenci Sayısı	Açıklama
Biyokimya	2016-2017	Bahar	2	0	53	Lisans
Biyokimya	2016-2017	Bahar	2	0	44	Lisans
Biyokimya I-II	2017-2018	Güz	4	0	130	Lisans
Biyokimya	2017-2018	Güz	2	0	96	Lisans
Kimya	2017-2018	Güz	0	2	38	Ön Lisans
Biokimya	2017-2018	Yaz	0	4	8	Lisans
Biyokimya I-II	2018-2019	Güz	4	0	125	Lisans
First Aid and Health Knowledge	2018-2019	Güz	0	2	32	Ön Lisans
Kimya	2018-2019	Güz	0	2	81	Ön Lisans
Biyokimya	2018-2019	Bahar	2	0	58	Lisans
Biyokimya	2018-2019	Bahar	2	0	9	Lisans
Dış Hekimliğinde Genetik	2018-2019	Bahar	2	0	99	Lisans
Kök Hücre ve Klinik Uygulamaları	2018-2019	Bahar	0	2	106	Lisans
Tıbbi Biyokimya	2018-2019	Bahar	2	0	29	Lisans
Klinik Biyokimya	2018-2019	Bahar	2	0	89	Lisans
Gıda Toksikolojisi	2018-2019	Bahar	3	0	1	Yüksek Lisans

Projelerde Yaptığı Görevler

- 1.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no:T988/06102006. Doktora tezi. Proje Yürütücüsü
- 2.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Yüksek Lisans tezi. Proje Yürütücüsü.
- 3.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: BYP1900. Yardımcı Araştırmacı.
- 4.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: BYP2936. Yardımcı Araştırmacı.
- 5.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: UDP 2841. Yardımcı Araştırmacı.
- 6.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: UDP 10913. Yardımcı Araştırmacı.
- 7.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: BYP 17175. Yardımcı Araştırmacı.
- 8.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: BYP 8644. Yardımcı Araştırmacı.
- 9.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: YÖP 2877. Yardımcı Araştırmacı.
- 10.TÜBİTAK. SBAG.Proje no: 108S037. Yardımcı Araştırmacı.
- 11.TÜBİTAK. SBAG BMBF-4, Proje no: 108S262. Yardımcı Araştırmacı.
- 12.Kurum desteği alınmamıştır. Çok merkezli çalışma: Memorial Hastanesi (Prof. Dr. Semra Kahraman), İstanbul Tıp Fakültesi (Prof. Dr. Ayhan Bilir), Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (Prof. Dr. Tülay İrez). AMH ve midkin ilişkisinin kısırlıkta araştırılması. Proje Yöneticisi. (Tamamlandı)
- 13.TÜBİTAK. SBAG BMBF-4, Proje no: 110S435.Seçici siklooksijenaz-2 (cox-2) inhibitörü nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç selekoksibin nanopartiküllerinin hazırlanması ve antikanser etkisinin araştırılması. Yardımcı Araştırmacı. (Tamamlandı)
- 14.Kurum desteği alınmamıştır. Çok merkezli çalışma: CEU Universidad San Pablo Farmakoloji Bölümü Prof. Dr. Gonzalo Herradón-Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul Aydın Üniversitesi. İlaçların bağımlılık yapma mekanizmaları. Proje Yöneticisi. (Tamamlandı)
- 15.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: 28773. Yardımcı Araştırmacı (Tamamlandı)

- 16.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: 420 19.Yardımcı Araştırmacı (Tamamlandı)
- 17.İ.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje no: UDP 28777. Yardımcı Araştırmacı (Tamamlandı).
- 18.Kurum desteği alınmamıştır. Çok merkezli çalışma: Angiosidin ve midkin ilişkisi. Proje Yöneticisi. (Tamamlandı) 2013-2014
- 19.TÜBİTAK. SBAG BMBF-4, Proje no: 115S431 Yardımcı Araştırmacı. Kabul Tarihi: 10.07.2015 (Tamamlandı)
20. TÜBİTAK 2232, Yardımcı Araştırmacı, 2017 (Tamamlandı)

İdari Görevler

- 1.Öğrenci Dekan Yardımcısı: Ekim 2011-Ekim 2012
- 2.Eğitim Koordinasyon Birimi Üyeliği: Ekim 2012
- 3.Lisans Program Komisyonu Üyeliği: Ocak-Nisan 2012
- 4.İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dekan Yardımcısı: 2013
- 5.İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Odyoloji Bölüm Kurucusu ve Bölüm Başkanı: 2013
- 6.İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi AKTS/ Erasmus Koordinatörü: 2013
- 7.İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Müfredat Komisyon Üyesi: 2013
- 8.İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Fakültesi Fakülte ve Yönetim Kurulu Üyesi, Komisyon Kurulu Üyelikleri: 2015-2018
9. Müdek Komisyon Üyeliği: 2015-2016
10. Biyomedikal Mühendisliği Müfredat Kurul Üyeliği: 2016
11. Mühendislik Fakültesi web sitesi koordinatörlüğü:Ocak-Eylül 2016
12. Euroanket üyeliği (Prof. Dr. Hasan Saygın koordinatörlüğünde):2016
13. Gıda Mühendisliği Aksiyon Planı- (Dr. Mustafa Aydın ve Prof. Dr. Hasan Saygın koordinatörlüğünde)

14. Mühendislik Fakültesi Kalite Kontrol Elçiliği: 2014-2017

Bunun dışında ERASMUS soru hazırlama kurul üyeliği (Tıbbi Biyoloji, Kimya), Mühendislik Fakültesi YÖK Denetim Dosyaları Hazırlanması, Prof. Dr. Ahmet Metin Ger koordinatörlüğünde İAÜ Stratejik Plan Hazırlama Üyeliği.

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler

1. Moleküler Kanser Araştırma Derneği (MOKAD)
2. Hücre Ölümü Araştırma Derneği (HOAD)
3. The European Association for Cancer Research (EACR)
4. Türk Biyokimya Derneği (TBD)
5. Klinik Embriyoloji Derneği (KED)
6. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)
7. American Society for Reproductive Medicine (ASRM)

Ödüller

1. TÜBİTAK-Beyin Araştırmaları Derneği (TÜBİTAK-BAD) 2002 yılı Aventis Proje Destek Ödülü: Suramin'in glioblastoma multiforme'de telomeraz aktivitesi üzerine etkisi. II. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, 16-20 Nisan 2003, Bursa.
2. En Başarılı Sözlü Sunum Ödülü: Suramin'in C6 glioma hücreleri üzerinde apoptotik ve antiapoptotik etkileri: telomeraz. Uluslararası katılımlı 1. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu, 12-15 Mart 2006, Uludag-Bursa.
3. Genç Araştırmacı Bursu (Young Investigator Scholarship): Handshaking of imatinib mesylate with lithium chloride and medroxyprogesterone acetate in the treatment of human endometrial adenocarcinoma cell line Ishikawa. Multidisipliner Araştırma Sempozyumu, 24-27 Şubat 2008, Bursa-Uludağ.
4. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi: 2008 yılında bilime yapılan katkı ödülü.
5. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi: 2010 yılında bilime yapılan katkı ödülü.
6. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi: 2011 yılında bilime yapılan katkı ödülü.

7. IFCC WorldLab Istanbul 2014 Türk Biyokimya Derneği Bursları Turkish Biochemical Society Bursaries, 22-26 Haziran 2014, İstanbul.
8. Türk Biyokimya Derneği-Malatya Laboratuvar Yönetimi Sempozyumu: Kalite-Standardizasyon-Akreditasyon Roche Kayıt Bursu, 16-18 Ekim 2014, Malatya.
9. Dr. Akın Sabancı ile birlikte TURNOG “Nöroonkolojik Cerrahi Bilimsel Araştırmayı Teşvik Ödülü” 2014.
10. Spandidos Yayınlarından Hakemlik Ödülü “Certificate of Excellence in Reviewing Reviewer reward certificate from Spandidos Publications for submission reference 202721 and for their important contribution to the quality of our publication Molecular Medicine Reports on 22/03/2018.”, 2018.
11. Imagine Tomorrow - Entrepreneurship & Innovation Competition, 27-28 Şubat 2019, İstanbul Lütfi Kırdar, ICEC- Başvuran 200 proje arasından ilk 20 dereceye girip 13. olup İstanbul İAÜ TTPYO’da 1 sene Ofis Destek Ödülü.

9.2. Eserler Listesi

A. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- A1. Ergüven Mine, Bilir Ayhan, Altug Tuncay, Aktar Fadime, Akev Nuriye (2007). Suramin increased telomerase activity in the c6 glioma/wistar experimental brain tumor model. *Int J BiomedSci.*, 3(2):104-11.
- A2. Ergüven Mine, Akev Nuriye, Özdemir Aysegül, Karabulut Ebru, Bilir Ayhan (2008). The inhibitory effect of suramin on telomerase activity and spheroid growth of C6 glioma cells., 14(8):BR165-73.A
- A3. Bilir Ayhan, Ergüven Mine, Öktem Gülperı, Özdemir Aysegül, Uslu Atilla, Aktas Esin, Bonavida Benjamin (2008). Potentiation of cytotoxicity by combination of imatinib and chlorimipramine in glioma. *Int J Oncol.*, 32(4):829-39.
- A4. Kurt, Seven Bahri Ülkü, Tuna Sevilcan, Ergüven Mine, Solakoglu Seyhun (2009). Iron (III) and nickel (II) template complexes derived from benzophenone thiosemicarbazones. *Journal of Coordination Chemistry*, 62 (13): 2172-2181.

- A5.** Bilir Ayhan, Ergüven Mine, Yazıhan Nuray, Aktas Esin, Öktem Gülperi, Sabancı Akın (2010). Enhancement of vinorelbine-induced cytotoxicity and apoptosis by clomipramine and lithium chloride in human neuroblastoma cancer cell line SH-SY5Y. *Journal of Neuro-Oncology*, 100(3), 385-395.
- A6.** Serbetçi Tuba, Demirci Betül, Güzel Çağla Bozkurt, Kültür Sükran, Ergüven M, Baser Kemal Hüsnü Can (2010). Essential oil composition, antimicrobial and cytotoxic activities of two endemic *Stachys cretica* subspecies (Lamiaceae) from Turkey. *Natural Product Communications*, 5(9):1369-74.
- A7.** Ergüven Mine, Yazıhan Mine, Aktas Esin, Sabancı Akın, Li Chiang, Oktem G, Bilir A (2010). Carvedilol in glioma treatment alone and with imatinib in vitro. *International Journal of Oncology*, 36(4).
- A8.** Çankaya Abdülkadir Burak, Erdem Mehmet Alı, Arzu Pınar Erdem, Ergüven Mine, Buket Aybar, Kasapoglu Çetin, Bılır Ayhan (2011). Evaluation of light-emitting diode (LED-660 nm) application over primary osteoblast-like cells on titanium surfaces: an in vitro study. *Int J Med Sci*. 8(7):584-93.
- A9.** Ergüven Mine, Bilir Ayhan, Yazıhan Nuray, Ermis Ezgi, Sabancı Akın, Aktas Esin, Aras Yavuz, Alpman Vehbi (2011). Decreased therapeutic effects of nescapine combined with imatinib mesylate on human glioblastoma in vitro and the effect of midkine. *Cancer Cell International*, 11(1), 18.
- A10.** Tezer Murat, Bakkaloglu Hüseyin, Ergüven M, Bilir A, Kadioğlu Ates (2011). Smooth muscle morphology in the nipple-areola complex., *Journal of Morphological Sciences*, 28 (3):171-175.
- A11.** Bilir Ayhan, Ergüven Mine, Ermis Ezgi, Sencan Mine, Yazıhan Nuray (2011). Combination of imatinib mesylate with lithium chloride and medroxyprogesterone acetate is highly active in Ishikawa endometrial carcinoma in vitro. *Journal of Gynecologic Oncology*, 22(4), 225.
- A12.** Sabancı Pulat Akın, Aras Yavuz, Aydoseli Aydın, Sencer Serra, Sencer Altay, Ergüven Mine, İzgi Nail (2012). A thrombosing, giant, distal posterior cerebral artery aneurysm in a newborn infant. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, 10(1), 50-55.

A13. Ergüven Mine, Bilir A, Yazıhan Nuray, Korkmaz Seval, Aktas Esin, Ovalıoğlu Cem, Dündar Tolga, Seyithanoğlu Hakan (2012). Imatinib mesylate decreases the cytotoxic effect of roscovitine on human glioblastoma cells in vitro and the role of midkine. *Oncology Letters, Oncol Lett.*, 3(1):200-208.

A14. Tuncer Safa, Demirci Mustafa, Schweikl Helmut, Ergüven Mine, Bilir Ayhan, Kara Tuncer Aysun (2012). Inhibition of cell survival, viability and proliferation by dentin adhesives after direct and indirect exposure in vitro. *Clinical Oral Investigations*, 16(6), 1635-1646.

A15. Gelincik Aslı, Aydın Fıfız, Özerman Bilge, Ergüven Mine, Aydın Salih, Bilir Ayhan, Genç Sema, Eroglu Hacer, Çolakoglu Bahattin, Erden Sacide, Büyüköztürk Suna (2012). Enhanced nerve growth factor expression by mast cells does not differ significantly between idiopathic and allergic rhinitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 108(6), 396-401.

A16. Atalay Belir, Aybar Buket, Ergüven Mine, Emes Yusuf, Bultan Özgür, Akça Kıvanç, Yalçın Serhat, Baysal Ugur, Issever Halim, Çehreli Murat Cavit, Bilir Ayhan (2013). The Effects of Pulsed Electromagnetic Field (PEMF) on Osteoblast-Like Cells Cultured on Titanium and Titanium-Zirconium Surfaces. *Journal of Craniofacial Surgery*, 24(6), 2127-2134.

A17. Emes Yusuf, Akça Kıvanç, Aybar Buket, Yalçın Serhat, Çavusoglu Yeliz, Baysal Ugur, Issever Halim, Atalay Belir, Vural Pervin, Ergüven Mine, Çehreli Murat Cavit, Bilir Ayhan (2013). Low-level laser therapy vs. pulsed electromagnetic field on neonatal rat calvarial osteoblast-like cells. *Lasers in Medical Science*, 28(3), 901-909.

A18. Ayla Sule, Bilir Ayhan, Soner Burak Ç, Yılmaz Dilsiz Özlem, Ergüven Mine, Öktem Gülperi (2014). Notch Signaling-related Therapeutic Strategies With Novel Drugs in Neuroblastoma Spheroids. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 36(1), 37-44.

A19. Melike Güner, Gülgün Yener, Mine Ergüven, Ecem Karaman, Utku (2014). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers of celecoxib for topical application-preparation, characterization and drug penetration through rat skin. *Current Nanoscience*, 10, 532-542.

- A20.** Sabancı Pulat Akın, Ergüven Mine, Yazıhan Nuray, Aktas Esin, Aras Yavuz, Civelek Erdiñç, Aydoseli Aydın, İmer Murat, Gürtekin Mehmet, Bilir Ayhan (2014). Sorafenib and lithium chloride combination treatment shows promising synergistic effects in human glioblastoma multiforme cells in vitro but midkine is not implicated. *Neurological Research*, 36 (3), 189-197.
- A21.** Yorulmaz H, Ozkok E, Erguven M, Ates G, Aydın I, Tamer S (2015). Effect of simvastatin on mitochondrial enzyme activities, ghrelin, hypoxia-inducible factor 1 α in hepatic tissue during early phase of sepsis. *Int J Clin Exp Med*, 8:3640-50.
- A22.** Topçuoğlu Nursen, Laçın Çağdas Çağlar, Ergüven Mine, Bilir Ayhan, Sütlüoınar Nurhayat, Külekçi Güven (2015). Antibacterial effect of Kenger Gum on mutans Streptococci and its cytotoxic effect on the 3T3 fibroblast cell line. *Oral Health Prev Dent.*,13(2):157-62.
- A23.** Yavuz Aras, Pulat Akın Sabancı, Serdar Kabataş, Gökhan Duruksu, Cansu Subaşı, Mine Erguven, Erdal Karaöz (2016). The Effects of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cell Transplantation During The Acute And Subacute Phases Following Spinal Cord Injury. *Turkish Neurosurgery*,26(1):127-39.
- A24.** Yavuz Aras, Mine Ergüven, Esin Aktas, Nuray Yazıhan, Ayhan Bilir (2016). Antagonist activity of the antipsychotic drug lithium chloride and the antileukemic drug imatinib mesylate during glioblastoma treatment in vitro. *Neurol Res.*,38(9):766-74.
- A25.** Ergüven Mine, Öktem Gülperi, Kara Ali Nail, Bilir Ayhan (2016). Lithium chloride showed biphasic effect on prostate cancer stem cells and midkine levels were proportionally changed to this effect” *Oncol Lett.* 12:2948-2955.
- A26.** Mucuk G, Sepet E, Erguven M, Ekmekçi O, Bılır A (2017). 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) stimulates odontoblastic differentiation of human dental pulp-stem cells in vitro. *Connect Tissue Res.* 58:531-541.
- A27.** Özkök E, Yorulmaz H, Ateş G, Aydın I, Ergüven M, Tamer Ş (2017). The impact of pretreatment with simvastatin on kidney tissue of rats with acute sepsis. *Physiol Int.* 104:158-170.

A28. Melike Üner, Gülgün Yener, Mine Ergüven (2019). Design of colloidal drug carriers of celecoxib for use in treatment of breast cancer and leukemia. Materials Science and Engineering: C, Volume 103, 109874.

B. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında (Proceedings) Basılan Bildiriler

B1. M. Ergüven, A. Bilir, 12th World Congress on Advances in Oncology and 10 th International Symposium on Molecular Medicine kongre ve sempozyumu dahilinde,bildiri kitapçığındaki "Striking Chemotherapy Agents: Crosstalk with imatinib mesylate and carvedilol and clomipramine at C6 glioma cell spheroids" 69-69 pp.,Hersonissos, Girit, Yunanistan, Ekim, 2007.

B2.A. Bilir, M. Ergüven, N. Yazıhan, Ehrlich II-2nd World Conference on Magic Bullets konferansı dahilinde , "" , bildiri kitapçığındaki "Two Passengers on the cancer road:Clomipramine and lithium chloride", 155-155 pp.,Nürnberg, Almanya, Ekim, 2008.

B3.M. Ergüven, Z. Yazıcı, M. Kula, S. Solakoglu, A. Bilir, 13th World Congress on Advances in Oncology and 11th International Symposium on Molecular Medicine kongre ve sempozyumu dahilinde , "" , bildiri kitapçığındaki "Crosstalk of cell cycle and lipid composition on antineoplastic agent induced autophagic vacuoles with multilamellar bodies", 69-69 pp.,Hersonissos, Girit, Yunanistan, Ekim, 2008.

B4.M. Ergüven, A. Bilir, H. Şenol, S. Şahmay, T. Irez., American Society of Reproductive Medicine's 64th Annual Meeting kongresi dahilinde, "Fertil Steril", bildiri kitapçığındaki "The crosstalk between human cumulus cells and ICSI success", 226-226 pp.,San Francisco, CA, Amerika Birleşik Devletleri, Kasım, 2008

B5.A. Bilir, M. Ergüven, 2nd International Liver Symposium sempozyumu dahilinde , "Cell&Tissue Biology Research", bildiri kitapçığındaki "Multicellular hepatocyte spheroid cultures and their place in biocompatibility tests", 17-17 pp.,Isparta, Türkiye, Mayıs, 2009.

B6. N. Yazihan, M. Erguven, E. Akcil, A. Bilir, E. Ermis, M. Kocak, The Federation of European Physiological (FEPS) konferansı dahilinde, "FEPS 2009 Book of abstracts", bildiri kitapçığındaki "Synergic cytotoxic effect of Imatinib mesylate and glibenclamide in human glioblastoma cell line.", 245-245 pp.,Ljubljana, Slovenya, Kasım, 2009.

B7.A. Bilir, M. Erguven, A. Zilan, G. Oktem, S. Korkmaz, M. Korkmaz, 16th International Biomedical Science and Technology Symposium konferansı dahilinde , "", bildiri kitapçığındaki "Evaluation and comparison of in vitro biocompatibility of poly (glycolic acid) and poly (lactide-co-glycolide acid) on maturespheoids of tumorigenic and non-tumorigenic cell lines.", 75-75 pp.,İstanbul, Türkiye, Eylül-Ekim, 2010.

B8.M. Erguven, N. Yazihan, A. Sabanci, E. Ermis, M. Senyurek, A. Bilir, 35th FEBS Congress Molecules of Life kongresi dahilinde , "The FEBS Journal", bildiri kitapçığındaki "Imatinib mesylate plus lithium chloride failed to treat glioblastoma in vitro: the effect and mechanism of midkine", 141-141 pp.,Gothenburg, İsveç, Haziran-Temmuz, 2010 .

B9.M. Erguven, N. Yazihan, E. Ermiş, E. Aktaş, A. Bilir, Cell Cycle Regulators/Inhibitors&Cancer sempozyumudahilinde, "Cell Cycle Regulators/Inhibitors&Cancer", bildiri kitapçığındaki "Selisiclib (Roscovitine ®) decreases the cytotoxicity of imatinib mesylate (Gleevec ®) in T98G human glioblastoma cells", 31-31 pp.,Viyana, Avusturya, Şubat, 2011.

B10.N. Yazihan, M. Erguven, A. L. Baş, E. Ermiş, A. Bilir, M. Kaçar Koçak, E. Akcil, E. Baloglu, H. Mairbeurl, Turkish-Federation of European Physiological Societies (FEPS) kongresi dahilinde , "Acta Physiologica Congress-Special symposia", bildiri kitapçığındaki "Dexamethasone supresses Klebsiella Pneumoniae induced cytokine production and midkine expression in rat lungs.", 39-39 pp.,İstanbul, Türkiye, Eylül , 2011..

B11.M. Erguven, N. Yazihan, A. Bilir, Turkish-Federation of European Physiological Societies (FEPS) kongresi dahilinde , "Acta Physiologica Congress-Special symposia", bildiri kitapçığındaki "Midkine signalling: From embryogenesis to disease", 38-38 pp.,İstanbul, Türkiye, Eylül, 2011.

B12. M. Erguven, T. Irez, S. Kahraman, C. Pirkevi, D. Erkal, A. Bilir, 2nd Excellence in Midkine Research Conference konferansı dahilinde , "" , bildiri kitapçığındaki "Midkine and anti-mullerian hormone", 13-13 pp.,İstanbul, Türkiye, Haziran, 2012.

B13N. Yazıhan, M. Erguven, E. Ermiş Kaya, M. Kacar Kocak, E. Aktas, E. Akcil, A. Bilir, Third Midkine Symposium sempozyumu dahilinde , "" , bildiri kitapçığındaki "ATP dependent channel blocker glibenclamide synergistically potentiates cytotoxic effect of imatinib mesylate in human glioblastoma cell line via decreasing drug resistance and midkine levels", 16-16 pp.,Kyoto, Japan, Nisan, 2014.

B14.A. Bilir, G. Öktem, A.N. Kara, M. Ergüven, Third Midkine Symposium sempozyumu dahilinde , "" , bildiri kitapçığındaki "Midkine levels are changed in direct proportion to biphasic lithium chloride in prostate stem cells in vitro", 17-17 pp.,Kyoto, Japonya, 21-23 Nisan, 2014.

B15. P.A. Sabancı, M. Ergüven, N. Yazıhan, E. Aktaş, Y. Aras, E. Civelek, A. Aydoseli, M. Imer, M. Gürtekin, A. Bılır, IFCC Worldlab İstanbul 2014 kongresi dahilinde . "Sorafenib and lithium chloride combination treatment shows promising synergistic effects in human glioblastoma multiforme cells in vitro but midkine is not implicated." 96-96 pp.,İstanbul, Türkiye, 22-26 Haziran, 2014.

B16. Ergüven M, The 19th World Congress on Advances in Oncology and 17th International Symposium on Molecular Medicine kongre ve sempozyumu dahilinde, bildiri kitapçığındaki "The prognostic and diagnostic significance of midkine levels in cancer from the side of cancer stem cells.", 535-535 pp., Atina, Yunanistan, 9-11 Ekim, 2014.

B17. M. Ergüven, N. Özsoy, E. Aktaş, L. Bitiş, T. Taşkın, A. Bilir International Conference on Natural Products for Cancer Prevention and Therapy" konferansı dahilinde bildiri kitapçığındaki "Trachystemon orientalis has anticancer activity which is highly induced by rhizomes on endometrial cancer in vitro", İstanbul, Türkiye, 31 Ağustos-2 Eylül 2015.

B18. Mine Ergüven, Melike Üner, Gülgün Yener. Celecoxib-loaded solid lipid nanoparticles show promising effects for the treatment of breast cancer in vitro. 3rd International BAU Drug Design Congress, Bahçeşehir University Beşiktaş Campus, İstanbul, Türkiye, 1-3/10/2015.

- B19.** ESEW, Barcelona 2015, 16-19 Eylül 2015, Endodontics: Where biology and technology merge. *International Endodontic Journal*.
- B20.** M. Ergüven, Fourth Midkine Symposium sempozyumu dahilinde, "", bildiri kitapçığındaki "Indomethacin decreases midkine levels in glioblastoma", 17-17 pp.,Budapeşte, Macaristan, 28-30 Nisan, 2016.
- B21.** İ. Aydın, M. Ergüven, E. Aktaş, A. Kadioğlu, F. Bener, A. Bilir. The application of 3-methyladenine with lithium chloride increases the detrimental effects of lithium chloride on sperm number and motility. 3-8 Temmuz 2016, 158 pp, Helsinki, Finlandiya.
- B22.** Ergüven, M., Yazihan , N., Aktas, E., Bilir, A. (2016). Indomethacin increased telomerase activity in the treatment of glioblastoma in vitro. *FEBS J*, 283: P-02.02.2-001. doi:10.1111/febs.13806.
- B23.** M Ergüven, T. Irez, S. Kahraman, C. Pirkevi, G. Dundar, A. Bilir. New additional biomarker proposal for the diagnosis of polycystic ovary syndrome through serum midkine cut-off value with anti-Müllerian hormone in Turkish population: a prospective study. The 33rd Annual Meeting of ESHRE, Human Reproduction, Volume 32, Suppl1, p691, Cenevre, İsviçre, 2017.
- B24.** M. Ergüven, M. Uner, E.F. Karaman, G. Yener. Novel solid lipid nanoparticle design of celecoxib as a potent treatment strategy for leukemia and its' underlying mechanism. 42ND Febs Congress, From Molecules to Cells and Back, 10-14 Eylül 2017, Kudüs, İsrail.
- B25.** Afsoon Saeidi, Mine Ergüven. Prekonsepsiyonel gıda takviyesi (Fertilovit®Plus), kültürde lösemi hücre çoğalmasını apoptoz ile durdurdu (Preconceptional dietary supplement (Fertilovit®Plus) inhibits leukemia cell proliferation via apoptosis in vitro). Uluslararası Biyokimya Kongresi 2017, 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, SS-011, Turkish Journal of Biochemistry Supplement, 18-23 Eylül 2017, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

B26. Zulkuf Yılmaz, Nurten Ozsoy, Mine Ergüven. Gojiberry'nin melatonin ile kullanımını, kültürde lösemi tedavisinde sinerjistik etki gösterdi. (The use of Gojiberry with melatonin shows synergistic effect at the treatment of leukemia in vitro.) Uluslararası Biyokimya Kongresi 2017, 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, SS-073, Turkish Journal of Biochemistry Supplement, 18-23 Eylül 2017, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

B27. Mine Ergüven, Tülay İrez, Semra Kahraman, Caroline Pirkevi, Gökçe Dünder, Ayhan Bilir. Midkin polikistik over sendromunda yeni bir yumurtalık rezervi belirteci olarak kabul edilebilir mi? Prospektif çalışma (Can midkine be accepted as a new ovary reserve biomarker at the polycystic ovary syndrome? A prospective study) Uluslararası Biyokimya Kongresi 2017, 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, PS3-07, Turkish Journal of Biochemistry Supplement, 18-23 Eylül 2017, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

B28. Mine Ergüven, Tülay İrez. Midkine has a predictive role for ovarian reserve evaluation at the polycystic ovary syndrome except for unexplained infertility. ASRM 2018 Scientific Congress & Expo, p-543, Fertility&Sterility, 6-10 Ekim 2018, Denver, Kolorado, Amerika.

B29. Haniyeh Behrouzizad, Mine Ergüven, Ayhan Bilir. Goji berry, L-karnitinin kronik myeloid lösemide inhibisyon etkisini artırdı. TBD Uluslararası Biyokimya Kongresi 2018//29.Ulusal Biyokimya Kongresi, Turkish Journal of Biochemistry Supplement, P449, 26-30 Ekim 2018, Hilton, Bodrum Türkbükü, Muğla, Türkiye.

C1. Yazılan Ulusal / Uluslararası Kitaplar

C1.1. A. Bilir, M. Ergüven, L. Tapul, Genel Embriyoloji ve Histoloji Uygulama/Teknikler Kitabı (Hücre Kültürü Teknikleri Bölümü),113-128 pp.,Türkiye, Nobel Tıp Kitapevi, 2012.

C2. Yazılan Ulusal / Uluslararası Kitaplardaki Bölümler

C2.1.A. Bilir, M. Ergüven, E. Hayat, Tumors of the Central Nervous System, Volume 1 (Drug-resistant glioma: Treatment with imatinib mesylate and chlorimipramine),249-258 pp.,Hollanda, Springer, 2011.

C2.2.A. Bilir, M. Ergüven, M. Garami, A. L. Abujamra, Management of CNS Tumors (Midkine Signaling in Glioblastoma: a Novel Developmental Drug Target?),59-74 pp.,Amerika Birleşik Devletleri, Intech, 2011.

C2.3.M. Ergüven, A. Bilir, M. Ergüven, T. Muramatsu, A. Bilir, Midkine: From Embryogenesis to Pathogenesis and Therapy (Midkine in glioblastoma with the modulator role switching autophagy to cell death or cell survival),283-303 pp.,Hollanda, Springer, 2012.

C2.4. M. Ergüven, A. Bilir, M. Erkan, T. İrez , Gelişim Biyolojisi (Evrimsel Değişimin Gelişimsel Mekanizmaları),683-711 pp.,Türkiye, Nobel Tıp Kitapevi, 2013.

C2.5. M. Ergüven, T. Lichtor, Evolution of the Molecular Biology of Brain Tumors and the Therapeutic Implications (Aquaporin, Midkine and Glioblastoma),355-376 pp.,Amerika Birleşik Devletleri, Intech, 2013.

C2.6T. İrez, M. Ergüven, T. İrez, İn-Vitro Fertilizasyon (Hücre ve moleküler biyolojinin yeniden değerlendirilmesi),1-18 pp.,Türkiye, Nobel Tıp Kitapevi, 2014.

C2.7. M. Ergüven, E. Choy, Osteosarcoma: Symptoms, Diagnosis and Treatment Options (Promising Therapeutic Approaches for Osteosarcoma Targeting Midkine),75-93 pp.,Amerika Birleşik Devletleri, Nova Science Publishers, Inc., 2014.

C2.8.A. Bilir, M. Ergüven. Junqueira's Temel Histoloji Atlas Kitap, Bölüm 17 Solunum Sistemi, 343-363 pp, Nobel Tıp Kitapevi, 2015.

C2.9. M. Ergüven, BRS Biochemistry, Molecular Biology, and Genetics, Bölüm 7 Yağ ve Etanol Metabolizması, İstanbul Tıp Kitapevi, 2019 (Basım Aşamasında)

C.Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

D1.Ş.B. Demiray, Ş. Ayla, F. Oltulu, T. Çavuşoğlu, Ö. Akarca, Ö.Y. Dilsiz, M. Ergüven, G. Öktem, A. Bilir (2011). MDAH-2774 over kanser kök hücrelerinde kemoterapi sonrası apoptotik etkilerin incelenmesi., Ege Tıp Dergisi, 103-109.

D2.A. Bilir, M. Ergüven, A. Zilan, G. Öktem, S. Korkmaz, M. Korkmaz (2011). Evaluation and comparison of in vitro biocompatibility of poly (glycolic acid) and poly (lactide-co-glycolide acid) on mature spheroids of tumorigenic and non-tumorigenic cell lines., Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi/Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 31: 1-14.

D3.A.P. Erdem, N. Aksakallı, H. Kurt, C. Isler, M.A. Erdem, M. Ergüven, E. Sepet (2012). Management and long-term follow up of a case with different dental alterations of dentin dysplasia., Türkiye Klinikleri Diş Hekimliği Bilimleri Dergisi,18, 230-236.

E. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında (Proceedings) Basılan Bildiriler

E1.M. Ergüven, A. Bilir, F. Aktar, S. Tuna, N. Akev, 1. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi konferansı dahilinde, "1. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi ", bildiri kitapçığındaki "Artan dozda suramin uygulamasının sıçan C6 glioma hücrelerindeki etkilerinin kültürde araştırılması", 457-458 pp., İstanbul, Türkiye, Nisan, 2005.

E2.M. Ergüven, A. Bilir, T. Altuğ, S. Tuna., F. Aktar, N. Akev, Uluslararası katılımlı 1. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu konferansı dahilinde , "Uluslararası katılımlı 1. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu ", bildiri kitapçığındaki "Suramin'in C6 glioma hücreleri üzerinde apoptotik ve antiapoptotik etkileri: Telomeraz", 109-109 pp.,Uludag-Bursa, Türkiye, Mart, 2006.

E3.G. Öktem, S. Uslu, A. Uysal, A. Bilir, M. Ergüven, Ç. Çal, Multidisipliner Araştırma Sempozyumu konferansı dahilinde , "Multidisipliner Araştırma Sempozyumu ", bildiri kitapçığındaki "Kanser kök hücresi ve notch yolağında umut veren ortak embriyonik dönem inhibisyonu", 67-67 pp.,Uludag-Bursa, Türkiye, Şubat, 2008.

E4.M. Ergüven, N. Yazıhan, E. Ermiş, A. Sabancı, A. Bilir, XXII. Ulusal Biyokimya Kongresi konferansı dahilinde , "Türk Biyokimya Dergisi", bildiri kitapçığındaki "Glioblastoma Tedavi Yolunda Noskapin ve Imatinib Mesilat Kombinasyonu ve Yeni Kemoterapi Direnç Faktörü Olarak Midkin", 99-99 pp.,Eskişehir, Türkiye, Ekim, 2010.

E5.Ciğirim K., Ergüven M., Taşyürekli M., Arslan M., Karabulut E., Bilir A, Uluslararası katılımlı 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi konferansı dahilinde , "Uluslararası katılımlı 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi ", bildiri kitapçığındaki "Kadmiyumun korpus luteum üzerine etkisi", 108-108 pp.,Kemer, Türkiye, Ekim, 2011.

E6.A. Bilir, M. Ergüven, I. Hücre Ölümü Araştırma Teknikleri Teorik Kursu konferansı dahilinde , "Dokuz Eylül Üniversitesi Yayınları", bildiri kitapçığındaki "Apoptotik Hücre Ölümü ve Mekanizmaları", 29-41 pp.,İzmir, Türkiye, Kasım, 2011.

E7.M. Ergüven, T. İrez, S. Kahraman, C. Pirkevi, D. Erkal, A. Bilir, 5. Ulusal Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite Kongresi konferansı dahilinde , "5. Ulusal Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite Kongresi", bildiri kitapçığındaki "The relationship between midkine and anti-mullerian hormone in patients with poor ovary reserve and polycystic ovary syndrome", 136-136 pp.,Çeşme, Türkiye, Eylül , 2012.

E8.A. Bilir, M. Ergüven, II. Hücre Ölümü Araştırma Teknikleri Teorik Kursu konferansı dahilinde , "Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Yayınları No:212", bildiri kitapçığındaki "Apoptotik Hücre Ölümü ve Mekanizmaları", 25-37 pp.,Eskişehir, Türkiye, Kasım, 2012 .

E9.M. Ergüven, A. Bilir, IV. Multidisipliner Kanser Araştırma Kongresi konferansı dahilinde , "IV. Multidisipliner Kanser Araştırma Kongresi", bildiri kitapçığındaki "Yeni kanser belirteci olarak midkin proteini", 3-3 pp.,Bursa, Türkiye, Aralık, 2011

E10.M. Ergüven, G. Öktem, A.N. Kara, A. Bilir, 25. Ulusal Biyokimya Kongresi konferansı dahilinde , "Türk Biyokimya Dergisi", bildiri kitapçığındaki "Lityum klorür, Prostat Kanser Kök Hücre ve Midkin Proteini", 80-80 pp.,İzmir, Türkiye, Eylül, 2013.

E11. M. Ergüven, M. Gürtekin, A. Bilir, Uluslararası Katılımlı 1. Hücre Ölümü Araştırma Kongresi konferansı dahilinde , "Uluslararası Katılımlı 1. Hücre Ölümü Araştırma Kongresi Özet Kitabı", bildiri kitapçığındaki "Survival or death: Lithium chloride", 41-41 pp.,Çeşme, Türkiye, Ekim-Kasım, 2013.

E12. A. Bilir, M. Gürtekin, M. Ergüven, Uluslararası Katılımlı 1. Hücre Ölümü Araştırma Kongresi Özet Kitabı konferansı dahilinde , "Uluslararası Katılımlı 1. Hücre Ölümü Araştırma Kongresi ", bildiri kitapçığındaki "Midkin ve tedavideki rolü", 39-39 pp.,Çeşme, Türkiye, Ekim-Kasım, 2013.

E13. Ergüven M, Uçan O. N., Bilir a. Laboratuvar Yönetimi Sempozyumu: Kalite-Standardizasyon-Akreditasyon. "Angiosidinin susturulması insan endometrium kanseri hücre kültürlerinde midkin seviyelerini artırdı" Türk biyokimya dergisi özel sayı (cilt 39), Malatya, Türkiye, Ekim, 2014.

E14. Ergüven M, Irez T, Kahraman S, Pirkevi C, Bilir A. Serum midkin proteini seviyeleri, anti-Müllerian Hormon ile birlikte polikistik over sendromu tanısında kullanılabilir mi?" Harbiye Askeri Müze ve Kültür Sitesi Komutanlığı, 6. İstanbul Üniversitesi Kadın Doğum Günleri, İstanbul, Türkiye, 9-11 Aralık 2016.

E15. Buğra Özen, Elif Bahar Tuna Ince, Yusufhan Yazır, Elif Sözen, Hakan Darıcı, Hakkı Sunay, Mine Ergüven TheraCal LC®, a calcium silicate-based biomaterial, decreased dental pulp stem cell proliferation in vitro. International Association of Paediatric Dentistry Regional Meeting&23th Congress of Turkish Society of Paediatric Dentistry, 12-14 Ekim 2018.

F. Patentler

F1. Buluş Sahipleri: Melike Güner, Gülgün Yener, Mine Ergüven, Başvuru no: 2014/03578.

F2. Buluş Sahibi: Mine Ergüven, Başvuru no:2019/04609.

F3. Buluş Sahibi: Mine Ergüven, Başvuru no:2019/02582.

F4. Buluş Sahibi: Mine Ergüven, Tülay İrez, Başvuru no:2019/03631.

F5. Buluş Sahibi: Mine Ergüven, Başvuru no:2019/02583.

7 patent başvuru hazırlık aşamasındadır.

G. Kitap Editörlüğü

G1.M. Ergüven, T. Muramatsu, A. Bilir (Eds), Midkine:From Embryogenesis to Pathogenesis and Therapy, 336 pp., Dordrecht, Hollanda, Springer, 2012.

H. Diğer Yayınlar

H1.M. Erguven, Target Meeting 1st World Molecular&Cell Biology online conference dahilinde Target Meeting Conference Handbook kitapçığındaki "Newly pronounced, but old cancer biomarker: Midkine", Sözlü sunum no: 34, elektronik pdf 40 pp., İnternet, 16-18 Şubat 2012.

H2.M. Erguven, T. Irez, S. Kahraman, C. Pirkevi, D. Erkal, A. Bilir, Target Meeting 2nd World Molecular&Cell Biology online/internet/webinar konferansı dahilinde "Target Meeting Conference Handbook kitapçığındaki "Midkine and Anti-Mullerian Hormone", Sözlü sunum no: 46, elektronik pdf 21 pp., İnternet, 5-8 Şubat 2013.

H3.M. Ergüven, G. Öktem, A.N. Kara, A. Bilir, TM's 3rd World Molecular & Cell Biology Online Conference dahilinde Target Meeting Conference Handbook kitapçığındaki "Prostate cancer stem cell, midkine protein and lithium chloride", Sözlü sunum no:44; elektronik pdf 47 pp., İnternet, 25-28 Şubat 2014.

I.Sertifikalar

I1.TÜBİTAK-GMBAE tarafından düzenlenen "Hücre Biyolojisi Laboratuvarı" ve "Enzim Moleküler Genetiği Laboratuvarı" stajı ; 2 Temmuz-7 Eylül 2001; Gebze, İstanbul.

I2. İstanbul Üniversitesi DETAE Genetik Anabilim Dalı tarafından düzenlenen "Klinisyenler için Moleküler Genetik Kursu"; 23-24 Ocak 2003; İstanbul, Türkiye.

I3. SPSS Türkiye tarafından düzenlenen "SPSS ile İstatistiğe Giriş Eğitimi"; 22-24 Eylül 2004; İstanbul, Türkiye.

I4.Türk Moleküler Tıp Derneği tarafından düzenlenen 1. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi Hücreden Klinik Uygulamaya çerçevesinde "Proteomik Kursu"; 16-19 Nisan 2005; İstanbul, Türkiye.

I5. Türk Moleküler Tıp Derneği tarafından düzenlenen 1. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi Hücreden Klinik Uygulamaya çerçevesinde "Kök Hücre Kursu"; 16-19 Nisan 2005; İstanbul, Türkiye.

I6.İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu ile Deney Hayvanları Etik Kurulu ile Deney Hayvanları Araştırma ve Üretim Laboratuvarı tarafından düzenlenen “Deney Hayvanları Uygulama ve etik Kursu”; İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Üretim Laboratuvarı; 06-07 Eylül 2005; İstanbul, Türkiye.

I7.TUBİTAK Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü tarafından “İleri Moleküler Hücre Biyolojisi Teknikleri Uygulamalı Eğitim Kursu”; 12-16 Eylül 2005; İstanbul, Türkiye.

I8.İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embryoloji Anabilim Dalı tarafından düzenlenen “Hücre kültürü ve İmmünohistokimya Eğitimi”; Kasım 2002-Mart 2006, İstanbul, Türkiye.

I9.İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri çerçevesinde “Tıpsal Araştırma Yöntem Bilimi ve Biyoistatistiksel Değerlenme Kursu”; İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kütüphanesi Yeni Profesörler Kurul Salonu; 07 Aralık 2005; İstanbul, Türkiye.

I10.Leica Microsystems tarafından düzenlenen “Introduction to Confocal Microscopy and its application” başlıklı kurs; 18 Ekim 2006; İstanbul, Türkiye.

I11.İstanbul Üniversitesi DETAE İmmunoloji tarafından düzenlenen “XIII. Uygulamalı Flow Sitometri Eğitimi”; 11-15 Haziran 2007; İstanbul, Türkiye.

I12.Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ile Tıp Fakültesinin düzenlemiş olduğu “Apoptozis, Hastalıklarla ilişkisi ve Güncel Belirleme Yöntemleri”; 07-08 Aralık 2006; İzmir, Türkiye.

I13.İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Anabilim Dalı Tüp Bebek Ünitesi tarafından düzenlenen “İnseminasyon ve Semen Analizi Kursu”; 01 Haziran 2008, İstanbul, Türkiye.

I14.Abant İzzet Baysal Üniversitesi 2010 yılı destek programı kapsamında T.C. Doğu Marmara Kalkınma Ajansı tarafından düzenlenen “Moleküler Araştırmalar Alanında Eğitimcilerin Eğitimi”; 01 Ocak 2010, Abant, Bolu.

I15.27-30 Ekim 2010 tarihli 22. Ulusal Biyokimya Kongresi kapsamında düzenlenen “Yöntem Geçerliliğini Kanıtlama (Metod Validasyon) Kursu”; 27 Ekim 2010, Anemon Hotel, Eskişehir, Türkiye.

I16.İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embryoloji Anabilim Dalı tarafından düzenlenen “Hücre kültürü ve İmmünohistokimya Kursu”; 11-12 Mart 2010, İstanbul, Türkiye.

I17.28 Eylül-02 Ekim 2016 tarihli 1. Uluslararası Katılımlı Kök Hücre Araştırmaları Kongresi kapsamında düzenlenen “Mezenkimal Kök Hücre Uygulamalı Kursu”; 27 Eylül 2011, Güral Sapanca Hotel, Sapanca, Türkiye.

I18.Türk Biyokimya Derneği İstanbul Şubesi tarafından düzenlenen “ Bilimsel Çalışmalarda İstatistiğin Rolü: Bilinmesi Gereken Yöntemler ve Uygulama Alanları” kursu; 26-27 Mart 2012, İstanbul, Türkiye.

I19.PGDIS (Unisense FertiliTech A/S, Danimarka) tarafından düzenlenen 08-11 Mayıs 2013 Twelfth International Conference on Preimplantation Genetic Diagnosis kongre öncesi “Time lapse imaging and blastocyst culture for embryo selection kursu; 08 Mayıs 2013, İstanbul, Türkiye.

I20.Avrasya Üniversiteler Birliği (EURAS) 1. Uluslararası Yükseköğretimde İşbirliği Konferansı; 09-10 Mayıs 2013, İstanbul, Türkiye.

I21.KOSGEB Uygulamalı Girişimcilik Eğitimi; 06 Nisan 2013-04 Mayıs 2013, İstanbul, Türkiye.

I22.TÜRKAK tarafından düzenlenen “TS EN ISO 15189 Tıbbi Laboratuvarlar- Kalite ve Yeterlilik için özel şartlar standardı” eğitimi; 2-3 Eylül 2013; İzmir, Türkiye.

I23.Türk Biyokimya Derneği Laboratuvar Yönetimi Sempozyumu kapsamında Kalite-Standardizasyon-Akreditasyon Kursu; 16-18 Ekim 2016; İnönü Üniversitesi, Turgut Özal Kongre ve Kültür Merkezi, Malatya, Türkiye.

I24.Geleceğe Yatırım: Biyobanka projesi kapsamında düzenlenen “Biyobankalamada Laboratuvar Süreçleri Kursu; 27-28 Mayıs 2016; İstanbul Üniversitesi, İstanbul Kongre ve Kültür Merkezi, İstanbul, Türkiye.

I25.Geleceğe Yatırım: Biyobanka projesi kapsamında düzenlenen “Biyobankalamada Veri Analizi Yöntemleri Kursu; 30-31 Mayıs 2016; İstanbul Üniversitesi, İstanbul Kongre ve Kültür Merkezi, İstanbul, Türkiye.

I26. Klinik Araştırmalar Derneği, Temel İyi Klinik Uygulamalar Kursu ve İleri İyi Klinik Uygulamalar Kursu; Temmuz 2016, Uzaktan Eğitim Programları, İstanbul, Türkiye.

I27. Stem Cells (Kök Hücre) kursu. The 33rd Annual Meeting of ESHRE, Cenevre, İsviçre, 2017.

I28. LC-MS Kütle Spektrometresi kursu. Uluslararası Biyokimya Kongresi 2017, 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, Turkish Journal of Biochemistry Supplement, 23 Eylül 2017, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

I29. Biyosensör kursu. Uluslararası Biyokimya Kongresi 2017, 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, Turkish Journal of Biochemistry Supplement, 18 Eylül 2017, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

I30. Aselsan BioCube İstanbul Girişimcilik Programı, 8 Ocak-26 Şubat 2019, İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

J. Eğitimci Olarak Yer Aldığı Kurslar

J1. Süleyman Demirel Üniversitesi tarafından 20-22 Mayıs 2009 tarihleri arasında 2ND International Liver Symposium adlı karaciğer kongresinde yer alan Hücre Kültürü Kursu.

J2. Abant İzzet Baysal Üniversitesi tarafından düzenlenen “Moleküler Araştırmalar Alanında Eğitimcilerin Eğitimi”; 19-21 Ocak 2011; Abant, Türkiye.

K. Katılımcı Olarak Katılan Toplantılar

K1. Klinik Embriyoloji Derneği tarafından düzenlenen Klinik Embriyoloji Derneği II. Kongresi; 23-25 Eylül 2011; Dalaman Sarıgerme, Türkiye.

K2. Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın düzenlediği “Programlı Hücre Ölümü: Güncel Yaklaşımlar” başlıklı sempozyum; 28 Aralık 2011; İstanbul, Türkiye.

K3. Zeynep Kamil XXX Jinekoloji Patoloji Kongresi, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 06-08 Haziran 2012; İstanbul, Türkiye.

K4. PGDIS tarafından düzenlenen, Twelfth International Conference on Preimplantation Genetic Diagnosis; 08-11 Mayıs 2013; İstanbul, Türkiye.

K5. Sabancı Üniversitesi tarafından 22 Ekim 2014'de Minerva Han'da düzenlenen Karaköy Otofaji Sempozyumu; İstanbul, Türkiye.

K6. Sabri Ülker Gıda Araştırmaları Enstitüsü Vakfı tarafından düzenlenen 3. Beslenme ve Sağlıklı Yaşam Zirvesi; 07 Mayıs 2015; İstanbul, Türkiye.

K7. Klinik Embriyoloji Derneği'nin düzenlediği "3. Uluslararası Klinik Embriyoloji Derneği Kongresi"ne 8-10 Mayıs 2015 tarihleri arasında davetli olarak katılmıştır.

K8. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mine ERGÜVEN, İstanbul Büyükşehir Belediyesi'nin 29-31 Mayıs 2015 tarihinde düzenlediği Hal İstanbul Gelecek Tasarım Projesi Karar Konferansı'na davetli olarak katılmış, Süt ve Süt Ürünleri üzerine oluşturulan kurulun grup sözcüsü seçilmiş Belediye üyelerine, akademisyen ve sektör temsilcilerine sunum yapmıştır.

K9. Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği (TJOD) İstanbul Şubesi tarafından 15 Ocak 2017'de İstanbul Harbiye Askeri Müzesi düzenlenen Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite Toplantısı; İstanbul, Türkiye.

L. Düzenlenen Toplantılar ve Kurslar

L1. "2nd Excellence in Midkine Research Conference" adlı uluslararası biyokimya konferansı. İstanbul Üniversitesi Rektörlük Binası Doktora Salonu, 28-30.06.2012, İstanbul.

L2. Figes A.Ş eğitim sorumlusu Nazlı Şahanlıoğlu tarafından ücretsiz olarak YYU Mühendislik Mimarlık Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği 2. Sınıf öğrencilerine 07.05.2012 tarihinde 09:00-17:00 saatleri arasında senato odasında verilen "Matlab'ın Temelleri Kursu".

L3. Figes A.Ş eğitim sorumlusu Nazlı Şahanlıoğlu tarafından ücretsiz olarak YYU Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği 2. Sınıf öğrencilerine 18.05.2012 tarihinde 10:00-13:00 saatleri arasında senato odasında verilen "Simulink Kursu".

L4. YYU Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği 2. Sınıf öğrencilerine Yıldız Teknik Üniversitesi (Davutpaşa Kampüsü) Biyomühendislik Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Adil Allahverdiyev "Biyomedikal mühendisliğinin

patent amaçlı kullanımı hakkında” 20.04.2012 tarihinde bir saat ders anlatıp ve tüm laboratuvarları gezdirmiştir.

L5. İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde düzenlenen Prof. Dr. Ayhan Bilir'in katılımıyla “Kanser Kök Hücreleri ve Tedavideki Önemi” 10 Nisan 2013 gerçekleşti.

L5. İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde Bahçeci Direktörü Embriyolog Dr. Necati Fındıklı'nın katılımıyla 6 Kasım 2013'de Kısırlık ve Tüp Bebek konulu toplantı düzenlendi.

L6. İstanbul Aydın Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde Odyoloji Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İnci Adalı'nın katılımıyla 3 Aralık 2013'te “Ses ve Konuşma Bozuklukları” başlıklı konuşmasıdır.

L7. İstanbul Aydın Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Beyin Tümörleri ve Teknoloji konferansı D Blok Oval Salonda 18 Aralık 2014'te konuşmacıların Uzman Dr. Akın SABANCI / Beyin Cerrahisi ve Yrd. Doç. Dr. Mine ERGÜVEN / Biyokimya Uzmanı olduğu toplantı düzenlendi.

L8. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mine Ergüven koordinatörlüğünde Gıda Mühendisliği Öğrencileri ile birlikte CNR İstanbul Uluslararası Fuar Merkezi'nde 26-28 Mart 2015 tarihlerinde düzenlenen Gıda Fuarı'na gezi yapılmış, sektör temsilcileri ile görüşülmüştür.

L9. Gıda Mühendisliği 6. Öğrenci Kongresi Mütevelli Heyeti Başkan Danışmanı Sn. Prof. Dr. Ahmet Metin Ger ile Mühendislik Fakültesi Dekanı Sn. Prof. Dr. Osman Nuri Uçan ve Gıda Mühendisliği Öğretim üyesi Biyokimya Uzmanı Sn. Doç. Dr. Mine Ergüven'in ana koordinatörlüğü'nde 11 Nisan 2015 tarihinde İstanbul Aydın Üniversitesi Florya Halit Fatih Aydın Yerleşkesi'nde gerçekleştirildi.

L10. İstanbul Aydın Üniversitesi Florya Halit Fatih Aydın Kampüsü D Blok Oval Salonda Mühendislik Fakültesi Dekanı Elektrik-Elektronik Mühendisi Prof. Dr. Osman Nuri Uçan ve Gıda Mühendisliği Öğretim Üyesi Biyokimya Uzmanı Doç. Dr. Mine Ergüven'in 15 Nisan 2015'te düzenlediği “Yediklerimiz Gerçek Mi?” adlı etkinliğe İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Radyasyon Onkolojisi Bölümü Öğretim üyesi Sn. Yrd. Doç. Dr. Yavuz Dizdar konuk oldu.

L11. Prof. Dr. Osman N. UÇAN himayelerinde Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) Orta Asya Koordinatörü Yuriko Shoji, Dr. Salim Zahoueh ile birlikte 17 Nisan 2015'te Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Yüksek Lisansı Bünyesinde Doç. Dr. Mine ERGÜVEN'in verdiği Gıda Güvenliği Dersi kapsamında videokonferans yolu ile Ankara Birleşmiş Milletler Merkezi'nden "Gıda Fiyatları Değişiklikleri ve Fakirliğin Azalmasındaki Önemi" başlıklı konuşma yapmıştır.

M. Uluslararası Üniversitelerde Ders Verme Hareketliliği

M1. Doç. Dr. Mine ERGÜVEN Erasmus personel ders verme hareketliliği çerçevesinde 2-6 Kasım 2013 tarihlerinde Litvanya Vilnius Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, Tıp Fakültesi Dekan Yardımcısı Doç. Dr. Vaiva Hendrixson'nun ve Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve Vilnius Üniversitesi Hastanesi Santariskiy Kliniklerinin Laboratuvar Merkezi sorumlusu Prof. Habil. Dr. Zita Aušrelė Kučinskienė'nin katılımıyla kendi orijinal laboratuvar sonuçlarını da içeren Kanser Biyokimyası başlıklı derslerini 5 gün boyunca başarılı bir şekilde gerçekleştirdi. Doç. Dr. Mine ERGÜVEN'in bu ziyaretinin bir kısmı web sitesinde Tıp Fakültesi Dekanlığı tarafından da www.mf.vu.lt/lt/content/naujienos/prof-mine-erguven-paskaitos adresinde duyuruldu.

N. Diğer Bilimsel Faaliyetler

Doç. Dr. Mine Ergüven KOSGEB, TÜBİTAK, SAN-TEZ gibi kuruluşların proje değerlendirmelerinde de panelist, izleyici ve danışman olarak çoğu kez görev almıştır. Bunun yanında Nature dahil olmak üzere birçok dergide sayısız hakemlik yapmış, aynı süre zarfında Neurological Regeneration Research (NRR), International Journal of Food Engineering Research (2016-2017) olmak üzere birçok dergide editör ve hakem kurulunda yer almıştır.

O. Hobiler

Ayrıca bir Judoka olarak Judo eğitimlerine ve turnuvalarına da katılmaktadır. Ye İç Yaşa programında koordinatör ve radyo programcısı, Hayat Tadında (2016-2017) ve Biyopsikoyorum (2016-2017) radyo programlarında da koordinatör ve radyo programcısı olarak yer almıştır.