

**T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serkan CERİT

**POLİKİSTİK OVER SENDROMU OLAN HASTALARDA ZONULİN,
GALECTİN-3 ve SPEXİN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ve
İNSÜLİN DİRENCİ BELİRLEMEDE ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT

YOZGAT – 2020

**T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serkan CERİT

**POLİKİSTİK OVER SENDROMU OLAN HASTALARDA ZONULİN,
GALECTİN-3 ve SPEXİN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ve
İNSÜLİN DİRENCİ BELİRLEMEDE ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT

YOZGAT – 2020

Bu çalışma Bozok üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje numarası: 6601-SBE/19-310. (This work was supported by Research Fund of Bozok University. Project Number: 6601-SBE/19-310)



YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

İmza
Serkan CERİT

Doçent Doktor

Serkan CERİT

İmza

Doçent Doktor

Prof. Dr. Muhammed POLAT

İmza

Prof. Dr. Muhammed POLAT

Ana Bilim Dalı Başkanı

İmza



YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
YÖNERGE UYGUNLUK SAYFASI

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

“PKOS olan hastalarda Zonulin, Galectin-3 ve Speksin seviyelerinin değerlendirilmesi ve insülin direncini belirlemede etkinliklerinin araştırılması” adlı Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı yüksek lisans tezi, Yozgat Bozok Üniversitesi Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu’na uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Serkan CERİT
İmza

Danışman
Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT
İmza

Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT
Ana Bilim Dalı Başkanı
İmza



YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
TEZ ONAY FORMU

T.C.

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Enstitümüzün Tıbbi-Biyokimya Ana Bilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı 90110516001 öğrenci numaralı öğrencisi Serkan CERİT'in hazırladığı "PKOS olan hastalarda Zonulin, Galectin-3 ve Spexin seviyelerinin değerlendirilmesi ve insülin direnci belirlemede etkinliklerinin araştırılması" başlıklı tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri gereğince 16/10/2020 tarihinde saat: 14:30 yapılmış, tezin onayına oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Başkan : Dr.Öğr.Üyesi Ayşen CANIKLIOĞLU

Jüri Üyesi : Prof.Dr.Muhammet Fevzi POLAT

(Danışman)

Jüri Üyesi : Dr.Öğr.Üyesi Ceylan HEPOKUR

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı Enstitü Yönetim Kurulu Kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof.Dr.Yalçın ARAL
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

KYT-FRM-110/00

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

POLİKİSTİK OVER SENDROMU OLAN HASTALARDA ZONULİN, GALEKTİN-3 ve SPEKSİN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ve İNSÜLİN DİRENCİ BELİRLEMEDE ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI.

Serkan CERİT

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağındaki kadınlarda adet düzensizliği, hipperandrojenizm ve infertilite gibi çeşitli klinik semptomların görüldüğü yaygın bir durumdur. PKOS görülme sıklığı %6-10 olup, hastalık patogeneğinde insülin direnci önemlidir.

Speksin, insan endokrin ve epitel dokularında eksprese edilen yeni tanımlanmış bir peptid yapıda hormondur. Yapılan çalışmalarda, Speksin'in normal insan dokularında (endokrin ve epitel dokular) fazla miktarda eksprese edildiği görülmüştür ki bu endokrin ve diğer dokularda Speksin'in fizyolojik fonksiyonlarda etkili olabileceğine işaret etmektedir.

Zonulin, bağırsak geçirgenliğini düzenleyen ve otoimmün hastalıklarda rol oynayan ökaryotik bir proteindir. PKOS patogeneğinde artmış bağırsak geçirgenliğinin etkisi olabileceğini düşündürmektedir. PKOS olan kadınlarda insülin direnci, irritabl bağırsak sendromu ve kronik yorgunluk sendromu ile artan bağırsak geçirgenliği gibi patolojik durumlar yaygın şekilde gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda Lektin ailesinin bir üyesi olan Galektin-3'ün kanser, bağışıklık ve enflamasyonda önemli biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda obezite, metabolik bozukluk ve T2DM mekanizması hala tam olarak açıklanamamakla birlikte Galektin-3'ün etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma 41'i PKOS tanısı alan hasta ve 37'si sağlıklı olmak üzere toplam 78 kadın üzerinde yapılmıştır. Tüm bireylerin Speksin, Galektin-3 ve Zonulin düzeyleri, kolesterol, Trigliserit (TG), HDL kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca insülin dirençlerini belirlemek amacıyla Homeostatic Model Assessment for İnsülin Resistance (HOMA-IR) değerleri hesaplanmıştır.

Elde edilen veriler incelendiğinde PKOS hasta grubu ile kontrol grubu arasında Speksin, Galektin-3 ve Zonulin düzeyleri arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır. PKOS hasta grubunda Speksin seviyesi düşük, Galektin-3 ve Zonulin seviyeleri yüksek bulunmuştur. Ayrıca HOMA-IR düzeyleri de anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte gruplar arası lipid profili açısından anlamlı farklılık bulunmadı.

İnsülin direnci PKOS patogeneğinde önemli bir rol oynar. Speksin, Galektin-3 ve Zonulin seviyelerinin insülin direnci ve PKOS'u belirlemede etkileri vardır. Speksin seviyesinin düşük, Galektin-3 ve Zonulin seviyelerinin yüksek oluşu PKOS'u öngörmeye bunların yeni biyobelirteçler olarak kullanılabilceğini göstermiştir. Bununla birlikte bu parametreler arasındaki ilişkilerin daha iyi ve anlamlı ortaya çıkarılabilmesi için daha fazla sayıda gruplarla ve katılımcılarca çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: PKOS, IR, Speksin, Zonulin, Galektin-3



ABSTRACT

Master Thesis

EVALUATION OF ZONULIN, GALECTIN-3 and SPEXIN LEVELS IN PATIENTS WITH POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME AND INVESTIGATION OF THEIR EFFICACY IN DETERMINING INSULIN RESISTANCE

Serkan CERİT

Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is a common condition with various clinical symptoms such as menstrual irregularities, symptoms of hyperandrogenism, and infertility in women at the reproductive age. Its incidence is around 6-10%. When studies on PCOS are examined, it is thought that insulin resistance is also an effect on the pathogenesis of the disease.

Spexin is a newly described peptide hormone expressed in human endocrine and epithelial tissues. Studies in human tissues have shown that Spexin is overexpressed in normal human tissues (endocrine and epithelial tissues), which has shown indicated us that Spexin may affect on physiological functions in endocrine and other tissues.

Zonulin is a eukaryotic protein that regulates intestinal permeability and plays a role in autoimmune diseases. Pathological conditions such as insulin resistance, irritable bowel syndrome and chronic fatigue syndrome and with increased intestinal permeability have been widely observed in women with PCOS. This suggests that increased intestinal permeability may influence the pathogenesis of PCOS.

In conducted studies, Galectin-3, a member of the lectin family, is thought to have effect on cancer, immunity and inflammation as an important element of biological functions. In recent studies, Galectin-3 is thought to influence obesity, metabolic disorders and T2DM, but it still has not been fully understood.

This study has been conducted on 78 women, 41 of whom were diagnosed with PCOS and 37 were healthy. Spexin, Galectin-3 and Zonulin levels of all individuals, as well as cholesterol, Triglyceride (TG), HDL cholesterol and LDL cholesterol levels have been determined. Besides, Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) values have been calculated in order to determine insulin resistance.

When obtained data has been investigated, significant differences have been determined in levels of the Spexin, Galectin-3 and Zonulin between PCOS diagnosed group and control group. It has been found that, in the PCOS patient group, determined Spexin level was low, Galectin-3 and Zonulin levels were high. Also, HOMA-IR levels has been found to be significantly high. Additionally, there has not been a significant difference between the groups in terms of lipid profile.

Insulin resistance plays an important role in PCOS pathogenesis. Spexin, Galectin-3 and Zonulin are thought to be effective in determining insulin resistance and PCOS. It has been concluded that low Spexin level and high Galectin-3 and Zonulin levels can be used as new biomarkers to predict PCOS. However, it is thought that more studies should be conducted with more groups and participants in order to reveal the relationships between these parameters in a better and meaningful way.

Keywords: PKOS, IR, Spexin, Zonulin, Galectin-3

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
TEZ ONAY FORMU	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
TABLOLAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
GRAFİK DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
TEŞEKKÜR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Polikistik Over Sendromu Tarihçe ve Genel Tanımı	3
2.2. Tanı Kriterleri	3
2.3. Hiperandrojenizm (Androjen fazlalığı)	4
2.4. Kronik Anovulasyon	5
2.5. Polikistik Over	5
2.6. PKOS Patofizyolojisi.....	6
2.7. Polikistik Over ve İnsülin Direnci Arasındaki İlişki	6
2.8. Speksin	8
2.9. Zonulin	10
2.10. Galektin-3	10
3. GEREÇ ve YÖNTEM	12
3.1. Materyal.....	12
3.1.1. Tanı koyma kriterleri	12
3.1.2. Tanı dışlama kriterleri	12
3.1.3. Çalışma grubu.....	12
3.1.4. Numune toplanması ve saklanması	13
3.1.5. Vücut Kütle indeksinin hesaplanması (BMI)	13

3.1.6. İnsülin direncinin hesaplanması	13
3.1.7. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler	13
3.1.8. Otoanalizör de çalışılan testler	14
3.2. Metod.....	15
3.2.1. Elisa (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) testi yöntemi	15
3.2.2. Speksin	15
3.2.3. Zonulin	18
3.2.4. Galektin-3	20
3.3. İstatistiksel Analizi	23
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA.....	31
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	34
7. KAYNAKLAR.....	36
8. EKLER	43
EK 1. Etik Kurul İzni.....	43
9. ÖZGEÇMİŞ	45

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. PKOS tanı kriterleri	4
Tablo 2.2. Kantitatif insülin direnci ölçüm yolları	8
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	13
Tablo 3.2. Ölçülen testlerin ölçüm yöntemleri ve kullanılan cihazlar	14
Tablo 3.3. ELİSA testleri ve kullanılan cihazlar	14
Tablo 4.1. PKOS olan hasta grubu ve PKOS olmayan kontrol grubu parametrelerin karşılaştırılması.....	24
Tablo 4.2. Çalışılan parametrelerin korelasyon analizi	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Ferriman Gallwey Skorlaması.....	5
Şekil 2.2. Polikistik over ultrasonografi görüntüsü	5
Şekil 3.1. Speksin standart dilüsyon yapılması ve standart değerleri.....	17
Şekil 3.2. Zonulin standart dilüsyon yapılması ve standart değerleri.....	19
Şekil 3.3. Galetin-3 standart dilüsyon yapılması ve standart değerleri	22



GRAFİK DİZİNİ

<u>Grafik No</u>	<u>Sayfa No</u>
Grafik 4.1. Speksin Roc Eğrisi Analizi	28
Grafik 4.2. Galektin-3 Roc eğrisi analizi.....	29
Grafik 4.3. Zonulin Roc eğrisi analizi	30



KISALTMALAR DİZİNİ

ASRM	: American Society for Reproductive Medicine
CRD	: Carbohydrate Recognition Domain
DM	: Diabetes Mellitus
ECLIA	: Electrochemiluminescence immunoassay
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
ESHRE	: European Society for Human Reproduction and Embryology
HDL kolesterol	: High Density Lipoprotein Cholesterol
HOMA	: Homeostatic Model Assessment
IR	: Insulin Rezistance
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
LDL Kolesterol	: Low Density Lipoprotein Cholesterol
LH	: Lüteinleştirici hormon
PKOS	: Polikistik over sendromu
T2DM	: Type 2 Diabetes Mellitus
TG	: Trigliserid
VKİ	: Vücut kütle indeksi
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bozok üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje numarası: 6601-SBE/19-310. (This work was supported by Research Fund of Bozok University. Project Number: 6601-SBE/19-310)

Tez çalışmalarım sürecinde bilgi ve deneyimlerinden yaralandığım tez danışmanım Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT'a, tezime katkılarından dolayı Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Neziha YILMAZ'a, istatistiksel yardımları ve numunelerin toplanmasında yardımları olan Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim üyeleri Dr. Öğr. Ü. Taylan ONAT ve Dr. Öğr. Ü. Demet AYDOĞAN KIRMIZI'ya teşekkür ederim. Tez dönemimde her türlü desteği benden esiregemeyen canım aileme, bu süre zarfında anlayışıyla her zaman yanımda olan sevgili eşim Büşranur CERİT'e sonsuz teşekkür ederim.

Serkan CERİT

1. GİRİŞ

Polikistik Over Sendromu (PKOS), doğurganlık dönemlerindeki kadınların %6-10 arasında görülen ve kronik oligo-anovulasyon, hiperandrojenizm, dislipidemi, azalmış fertilitate, obezite ve polikistik overler ile karakterize heterojen yapılı bir hastalıktır (Asuncion, 2000).

PKOS hakkında yapılan çalışmalarda hastalık patogenezinde insülin direncinin etkili olduğu gösterilmiştir. (Cibula, 2002). PKOS'lu kadınlarda insülin direnci ve hiperinsülinemi, hipertansiyon, endotel fonksiyon bozukluğu ve dislipidemi gibi risk faktörleri bulunabilir. Kardiyovasküler hastalıklar düşünüldüğünde endotel fonksiyon bozukluğu ve dislipidemi önemli risk faktörlerindedir (Tsilchorozidou, 2004).

PKOS'un patofizyolojisi üzerinde en çok durulan açıklama insülin direnci mekanizmalarıdır. İnsülin direnci, yetersiz insülin etkisi ile DM, glukoz intoleransı, lipoartrofi ve insülinin aşırı salgılanması ile gelişen akantozis nigrikans, hiperandrojenizm gibi durumlara neden olur (Teede, 2010).

Speksin, insan endokrin ve epitel dokularında eksprese edilen yeni tanımlanmış bir peptid hormonudur (Porzionato, 2010). İnsan dokularında yapılan çalışmalarda, Speksin'in normal insan dokularında (endokrin ve epitel dokular) fazla miktarda eksprese edildiğinin gösterilmesi Speksin'in endokrin ve diğer dokularda ki fizyolojik fonksiyonları etkileyebileceğini gösterdi (Gu, 2015). T2DM'li hastalarda speksin seviyesi, kan şekeri ve lipit düzeyi ile ters orantılı olarak düşük bulunmuştur. T2DM, glikoz ve lipit metabolizmasında Speksin'in etkili olduğu düşünülmektedir (Gu, 2015).

Zonulin, bağırsak geçirgenliğini düzenleyen ve otoimmün hastalıkların patolojisinde rol oynayan ökaryotik bir proteindir(Wang, 2000). Moreno ve arkadaşları obez ve glikoz intoleransı olan hastalarda yaptıkları çalışmada, insülin direnci ve IL-6 artışının Zonulin seviyesi ile pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır (Moreno, 2012).

Kanser, bağışıklık ve enflamasyon gibi önemli biyolojik fonksiyonlarda etkili olduğu gösterilen (Newlaczył, 2011; Dumic, 2006; Pugliese, 2014) Galektin-3, lektin

ailesinin önemli bir üyesidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda mekanizması tam aydınlatılamasa da obezite, metabolik bozukluk ve T2DM patogenezinde de önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Pugliese, 2015).



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik Over Sendromu Tarihçe ve Genel Tanımı

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağına giren kadınlarda adet düzensizliği, hiperandrojenizm ve kısırlık gibi çeşitli klinik semptomların görüldüğü yaygın bir durumdur. PKOS görülme sıklığı 10% olup hastalık patogenezinde insülin direnci önemlidir (Goodarzi, 2011).

PKOS, daha önceki çalışmalarda ilk olarak 1935 yılında Irving F. Stein ve Michael L. Levanthal tarafından adet düzensizliği, androjenizm ve polikistik over bulunan ve bu üç özellik ile tanımlanan “Stein-Levanthal sendromu” olarak adlandırılmıştır. Bu tanıma uygun yedi olguda bilateral parsiyel over rezeksiyonu yapıldığında, adet döngülerinin normal olduğu bulunmuştur (Stein, 1935). Daha sonra klinik, hormonal, metabolik çalışmalar yapılarak altta yatan etkenler incelenmiş ve hastalığın heterojen yapıda olması nedeniyle bu tabloya “Polikistik Over Sendromu” adı verilmiştir.

PKOS olan hastaların çoğunluğunda (çalışmalara göre %30-70) PKOS’un sadece üreme fonksiyonlarını etkilemediği metabolik sistem ve insülin direnci üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur. Bu nedenle kadınlarda T2DM ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi uzun vadede önemli sağlık problemlerine yol açan bir hastalıktır (Orio, 2004).

2.2. Tanı Kriterleri

Polikistik over sendromu hiperandrojenizm, kronik anovulasyon ve ultrasonografi de polikistik overlerle karakterize bir patolojik sendromdur. (“Human Reproduction” 2004)(*Revised 2003 consensus, ...*)(2004){, 2004 #15}

2003 yılında Rotterdam da ESHRE (European Society for Human Reproduction and Embryology) ve ASRM (American Society for Reproductive Medicine) tarafından yeni tanı kriterleri belirlenmiştir. Diğer hiperandrojenemi sebepleri dışlandıktan sonra kronik anovulasyon, hiperandrojenizm ve ultrasonografide PKO (polikistik over) bulgularının herhangi ikisinin tanı koymak için yeterli olacağı belirlenmiştir (“Human Reproduction” 2004)(*Revised 2003 consensus, ...*).

Tablo 2.1. PKOS tanı kriterleri

Rotterdam ASRM-ESHRE Tanı kriterleri (2003)
1. Oligo ve/veya anovulasyon
2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm
3. Polikistik over morfolojisi (bir overde 12 adet veya daha fazla, 2-9 mm çapında follikül bulunması ve/veya over volümünün 10cm ³ 'ün üzerinde olması)

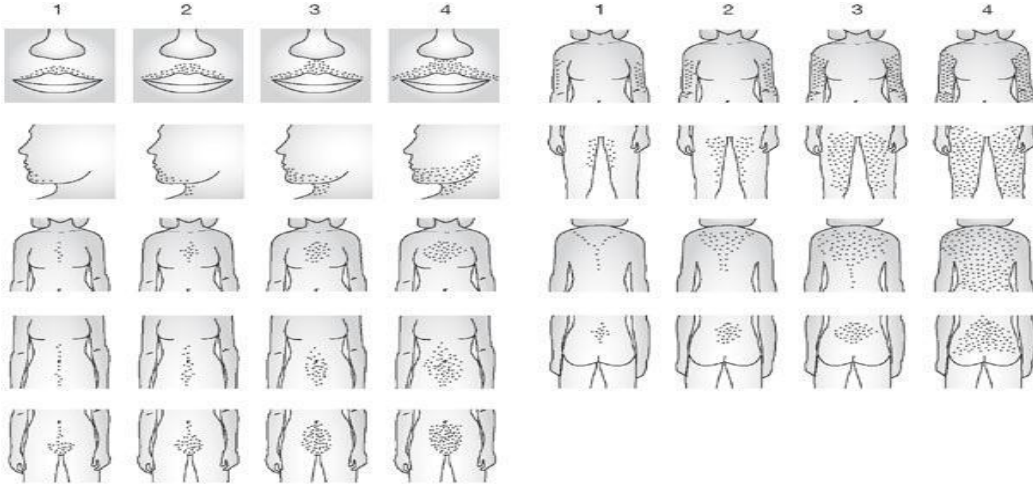
2.3. Hiperandrojenizm (Androjen fazlalığı)

Polikistik over sendromu olan hastalarda androjen seviyelerinin %60 ile %80 arasında yüksek olduğu görülmüştür (Aziz, 2006). Hiperandrojeneminin kaynağı overlerdir. İnsülin ve LH (Lüteinleştirici hormon) overlerden androjen sentezini hızlandırır.

Androjen artışının klinik semptomları genellikle, hirsütizm, akne ve alopesi olarak görülür. Hirsütizm, androjen fazlalığı için iyi bir göstergedir ama etnik çeşitlilik ve obezite gibi faktörlerden etkilenir (Hum. Reprod. 27;14-24,2012).

Hirsütizm, kadınlarda erkek tipi kıllanmanın artması ve dağılımı olarak tanımlanabilir. Hirsütizm tanısında kullanılan Ferriman Gallwey skorlaması gibi metotlarının yaygın olarak kullanılmaması, toplumlara özgü normal sınırların belirlenmemiş olması ve genetik farklıklar göstermesi hirsütizm tanısında güçlük oluşturur (Kopera, 2010).

Hirsütizm skorlaması hakkında birçok yöntem geliştirilmiştir. 1961 yılında Ferriman-Gallwey tarafından ortaya atılan skorlama, 1971 yılında Ferriman-Lorenzo tarafından geliştirilmiş ve Modifiye Ferriman Gallwey skorlaması olarak günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu skorlama yönteminde androjenlere duyarlı olarak 9 bölge (üst dudak, çene, göğüs, sırt, bel, üst kol, üst karın, alt karın ve uyluk) kıllanması derecesine göre 1-4 puan arasında değerlendirilmektedir (Şekil 2.1.). Değerlendirme sonunda 8 puan ve üzeri hirsütizm olarak kabul edilir. Ancak hirsütizm seviyesi ve dağılımı diğer hastalıklar için ayırt edici değildir (Yıldız, 2010).



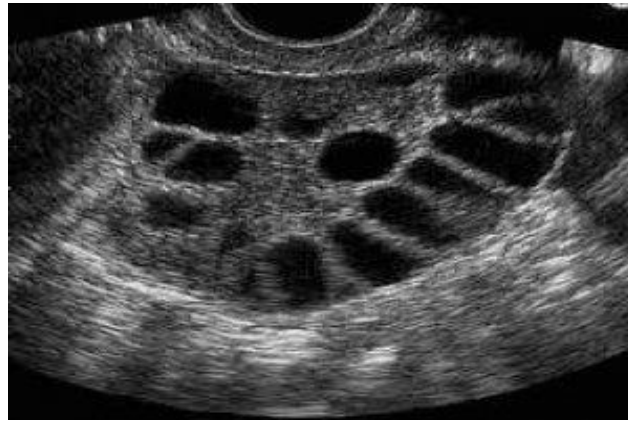
Şekil 2.1. Ferriman Gallwey Skorlaması

2.4. Kronik Anovulasyon

PKOS olan kadınların büyük çoğunluğu, oligo-amenore ve anormal uterin kanamaları görülmektedir. Adet düzensizliği, tipik olarak pubertal dönemde başlar ve ilk adet döngüsü gecikebilir. Hastaların % 20'sinde ise adetler düzenli olmasına karşın anovulasyon mevcuttur (Carmina, 1999).

2.5. Polikistik Over

Polikistik over tanısında transvajinal veya transabdominal ultrasonografi kullanılır. Foliküler fazda en az bir overde olmak üzere 12 veya daha fazla 2-9 mm çapında folikül bulunması ve/veya over hacminin artması (>10 ml) polikistik over olarak tanımlanır ("Human Reproduction" 2004)(*Revised 2003 consensus, ...*).



Şekil 2.2. Polikistik over ultrasonografi görüntüsü

2.6. PKOS Patofizyolojisi

Polikistik over sendromunun patofizyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak genetik yatkınlık veya kalıtımla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Hastalığın gelişiminde obezite ile alakalı genler, androjen biyosentez ve fonksiyonlarını düzenleyen genlerin rolünün önemli olduğu düşünülmektedir. Bu genetik yatkınlığın yanı sıra çevresel etkenlerinde katkıları vardır (Goodarzi, 2011; Diamanti, 2011).

2.7. Polikistik Over ve İnsülin Direnci Arasındaki İlişki

PKOS patofizyolojisinde insülin direncinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Tsilchorozidou, 2004; Dunaif, 1997).

İnsülin direnci, pankreasın β - hücrelerinden salınmasında, hedef hücrelerde beklenen etkinin oluşması için geçen aşamalarda meydana gelebilecek etkilerin azalması gibi tanımlanabilir. İnsüline karşı biyolojik cevap insülinin metabolik etkileri (karbonhidrat, lipit ve protein metabolizması) ve mitojenik etkilerini de (büyüme, farklılaşma, DNA sentezi, gen transkripsiyonunun düzenlenmesi) kapsamaktadır. Ekzojen ya da endojen insüline karşı bozulmuş biyolojik yanıt mevcuttur (Diamanti, 2006).

İnsülin direnci ve normal glukoz toleransının devam ettiği bu dönemde pankreas ciddi miktarda insülin salgılayarak dengelemeye çalışır. Hiperinsülinemi; artmış trigliserid seviyelerine, artmış VLDL sekresyonuna, koagulasyon bozuluklarına, artmış damar direncine, steroid hormon düzeylerinde değişikliklere, periferik kan akımında bozulmalara ve kilo artışına neden olur (Rajkhowa, 1997; Sam, 1997).

PKOS'lu kadınlarda insülin direnci artan anomalilerle ilişkilidir. İnsülin direnci geniş popülasyonlu araştırmalarda insüline bağımlı glukoz emiliminin %10-25 azalması olarak tanımlanmıştır. PKOS'lu kadınlarda %70 civarında insülin direnci görülmektedir. Prevalansı testin duyarlılığı ve özgüllüğü ile PKOS'un karışık yapısına bağlıdır ("Human Reproduction" 2004)(*Revised 2003 consensus, ...*).

PKOS hastalarının %38 - %88'inin fazla kilolu veya obez olduğu bildirilmiştir. PKOS olan obez kadınlarda insülin direnci obez olmayanlara göre daha belirgin halde

görülmektedir. Adipozite ve hastalık semptomları arasında da benzer bir ilişki vardır. Menstrüel düzensizliğin tedavisinde, fertilité ve hiperandrojenik özelliklerin düzenlenmesinde diyetin etkili olabileceği ileri sürülmektedir. PKOS hastalarının %38-%88 değer aralığında obez veya fazla kilolu oldukları gösterilmiştir (Barber, 2006).

Olguların büyük bir kısmında insülin direnci ve kompensatuar hiperinsülinemi bulunur (DeUgarte, 2005). Hipersinsülinemi, teka hücrelerinde 17 α -hidroksilaz aktivitesini uyararak ovariyen hiperandrojenizmi artırır (Moggetti, 2000). Ayrıca, LH ve IGF-1 (Insülin benzeri büyüme faktörü 1) aracılı androjen üretiminde artışa neden olur (Bergh, 1993). Insülin ve IGF-1 intertisyel hücre proliferasyonunu da uyarır. Hepatik seks hormon bağlayıcı globülin (SHBG) üretimini azaltan Hiperinsülinemi, serbest testosteron seviyesini artırarak IGF-1 bağlayan protein üretimini baskılaması sonucunda IGF-1 biyoaktivitesi artar (Balen, 2005). Folikül uyarıcı hormon (FSH) aracılı granuloza hücre farklılaşması artar, prematür folikül luteinizasyonunu destekler ve böylece granuloza hücre proliferasyonu sonucu folikül büyümesi engellenmiş olur (Franks, 1999; Willis, 1996). Granuloza hücrelerinde aşırı miktarda üretilen anti-Müllerian hormon, foliküllerdeki FSH aktivitesini antagonize eder (Knight, 2003; Pellatt, 2007). Sonuçta, foliküllerde yeterli miktarda FSH etkinliği bulunsa da, östrojen yetersiz düzeyde bulunur.(Erickson, 1992; Mason, 1994).

Başlangıçta hastalardaki tek metabolik anomallik kompensatuar hiperinsülinemidir. Olguların bir kısmında pankreas beta hücreleri, bu durumu kompanse edemez ve bozulmuş glukoz toleransı sonucunda diyabet gelişir (Dunaif, 1996).

Tablo 2.2. Kantitatif insülin direnci ölçüm yolları (Legro, 2004)

Öglisemik Hiperinsülinemik klemp	İnsülin direncini belirlemede altın standart olarak kabul edilir. Testin temel prensibi hiperinsülinemik bir ortamda normoglisemi sağlamak için verilen glukozun kullanılma hızını saptamaya dayanır.
QUICKI (Quantitative Insulin Check Index)	$=1/\{\log[\text{İNSÜLİN}(\mu\text{U/mL})] + \log[\text{GLUKOZ}(\text{mg/dL})]\}$
HOMA-IR (Homeostatis model assesment for insulin resistance)	$= [\text{İNSÜLİN}(\mu\text{U/mL}) \times \text{GLUKOZ}(\text{mg/dL})] / 405$
HOMA-B (Homeoastatis model assesment for beta cell function)	$= \% \{ [360 \times \text{İNSÜLİN}(\text{uU/mL})] / [\text{GLUKOZ}(\text{mg/dL}) - 63] \}$

2.8. Speksin

Speksin, insan endokrin ve epitel dokularında eksprese edilen yeni bir peptittir (Porzionato, 2010). Ch12 ile F39 geninin bir ürünüdür. Prepropeptid 116 amino asitten meydana gelir. Speksin 14 amino asitten oluşur (Sonmez, 2009). Hipotalamus, pons, serebral korteks, böbrek, yumurtalık, adrenal bez, tiroid, ön hipofiz ve mide gibi çeşitli fare dokularında speksin eksprese edilir. Endokrin hücrelerinde speksinin ekspresyonu speksinin endokrin faktörü olarak rol alabileceğini göstermiştir (Porzionato, 2010). İnsan endokrin dokusunda speksinin lokalizasyonu incelendiğinde adrenal bezlerde, pankreas, viseral yağ ve tiroide speksin ekspresyonu olduğu, en yüksek speksin ekspresyonunun adrenal bezlerde ve pankreasta gerçekleştiği bulundu (Gu, 2015).

Araştırmacılar, omurgalı genomlarında speksin geni ile birlikte ikinci bir speksini belirlediler ve speksin, galanın ve kisspeptid genlerinin aynı kromozomu üzerinde yakın lokalizasyonda bulunduğunu gösterdiler. Olgun peptit sekanslarının

analizi üç peptit grubu arasında sekans benzerliği olduğunu gösterdi. Gen yapısı analizi, speksinin kisspeptinden ziyade galanin ile ilişkili olduğunu gösterdi. Bir ligand-reseptör etkileşim çalışması, speksinlerin insan, ksenopus ve zebra balığı GALR2 / 3 ailesi reseptörlerini aktive ettiğini fakat GALR1'i aktive etmediğini gösterdi, bu da speksinlerin GALR2 / 3 için doğal ligandlar olduğunu düşündürmektedir (Kim, 2014). Yapılan çalışmalarda Galaninin, glikoz taşıyıcı-4'ün insüline duyarlı hücrelerin plazma membranına translokasyonunu hızlandırdığı, glikoz homeostazisini düzenlediği ve periferik dokularda insülin direncini azalttığı görülmüştür (Fang, 2013).

Speksin, galaninin GALR2'ye bağlanmasını inhibe eder, çoklu biyolojik süreçlere aracılık eder, T2DM'li obez farelerde glikoz kullanımını iyileştirir ve hepatik steatozlu farelerde ise karaciğer trigliseritini hem biyokimyasal hem de histolojik olarak önemli ölçüde tüketir. Diyetle indüklenen obezite, T2DM ve hepatik steatozlu farelerde yapılan ön çalışmalar, speksin uygulamasının bu üç durum için etkili bir tedavi olabileceğini düşündürmektedir (Hodges, 2018).

Birkaç çalışma, speksinin insülin direnci ve obezite için bir biyobelirteç olarak potansiyel rolünü araştırmıştır. Özellikle, obez insanların yağ dokusunda, speksinin ekspresyonunun aşağı regüle olduğu bulundu ve diyetin neden olduğu obezite ile sıçanlara speksinin uygulanması kilo kaybıyla sonuçlandı. T2DM hastalarda speksin düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük olduğu ve speksin düzeylerinin glisemik parametreler ve lipit parametreleri ile korele olduğu bulundu. Ayrıca, sağlıklı katılımcılarda oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında speksin düzeylerini değerlendirildiğinde speksinin kan şekeri düzeyi ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Gu, 2015). Speksin'in diyabet ve lipit metabolizmasındaki olası rolü üzerindeki umut verici sonuçları, bu konuda yeni çalışmalara yol açmıştır. Obez çocuklarda, normal kilosunda olan çocuklara kıyasla daha düşük speksin seviyeleri bulmuş ve speksinin çocukluk çağı obezitesinde potansiyel bir rol oynadığını düşündürmüştür (Kumar, 2016). Ancak son zamanlarda ergen hastalarda speksin düzeyi ile obezite ve glikoz parametreleri arasında bir ilişki olmadığı ve OGTT sırasında speksin düzeylerinde bir değişiklik bulunmadığı gösterilmiştir (Hodges, 2018). Speksinin diyabet, obezite ve insülin direncindeki rolü tartışmalıdır. Buda bize daha fazla araştırma yapılmasının önemini göstermiştir.

2.9. Zonulin

Zonulin, bağırsak geçirgenliğini tersine çevrilebilir şekilde düzenleyen ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol oynayan yeni bir ökaryotik proteindir (Wang, 2000)

PKOS olan kadınlarda insülin direnci, irritable bağırsak sendromu ve kronik yorgunluk sendromu ile artan bağırsak geçirgenliği gibi patolojik durumlar yaygın olarak gözlemlenmiştir. PCOS patogeneğinde artmış bağırsak geçirgenliğinin etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Zhang, 2015).

Zonulin bağırsak geçirgenliğine yararlı bir belirteci olarak kabul edilir (Smecuol, 2000). Zonulin, laktöz/mannitol oranı bağırsak geçirgenliği ile ilişkilidir. İnsanlarda laktuloz/mannitol testleri kullanılarak doğrulanmıştır (Sapone, 2006). Laktuloz/mannitol (La/Ma) testi gastrointestinal hastalıklarda ve yetersiz beslenmede bağırsak geçirgenliğinin saptanması için kullanılır. Test, iki şeker probunun ağızdan alınımı ile başlar, 5 saat sonra idrarda atılan miktarının belirlenmesi ile bulunur (Generoso, 2003).

Obez olan ve bağırsak sızıntısı bulunan açlık şekeri yüksek olan hastalarda serum zonulin konsantrasyonlarının yüksek olduğu bulunmuştur (Zak-Golab, 2013, Carnevale, 2017).

Obezite ve insülin direnci arasındaki ilişki araştırıldığında insülin direnci ve IL-6 gibi enflamatuar belirteçler ile pozitif korelasyon gösteren, obez ve glikoz intoleransı olan deneklerde zonulin düzeylerinin belirgin şekilde yükseldiğini bulmuşlardır (Moreno, 2012).

2.10. Galektin-3

Galektinler, ≥ 1 evrimsel korunmuş karbonhidrat tanıma alanı olan bir β -galaktozid bağlayıcı lektin ailesidir (Argüeso, 2010). Bugüne kadar memelilerde 15 adet galektin tanımlanmıştır. Tek bir CRD'ye sahip Galektinler, iki CRD'ye sahip ardışık tekrarı olan galektinler ve uzun, esnek N-terminal alanına bağlı tek bir CRD ile kimera tipi olan galektinler olmak üzere üç grupta sınıflandırılmıştır (Argüeso, 2010;

Newlacyzl, 2011). Galektin-3 tek kimera tipi galektin olup insanlarda kromozom 14 üzerinde bulunan tek bir gen olan LGALS3 tarafından kodlanan 35-kDa'lık proteindir (Newlacyzl, 2011).

1980 sonrası diyabetle yaşıyan insan sayısı 108 milyondan 422 milyona çıkmış ve 2040 yılına kadar küresel sağlık bakım maliyetlerinde 750 milyar dolarlık yük getireceği öngörülüyor (IDF, 2015). Obezite ve insülin direnci epidemik oranlara ulaşan bir hastalık olup T2DM karakteristik bir belirleyicisi olmuştur ("Organization WH" 2014) (İnternational Diabetes Federation [IDF], 2015). (IDF, 2015). T2DM, diyabet vaka sayısının % 91'lik kısmını oluşturur (IDF, 2015). Bu yüzden bu hastalığın nedenlerin belirlenme ve terapötik sistemler oluşturmak için çaba sarf edilmektedir.

Galektin-3, otoimmün veya enflamatuar, kötü huylu (habis) hastalıklarda hastalığın şiddeti ile alakalı önemli bir role sahiptir (Gao, 2013; Li, 2014; Liu ve Rabinovich, 2010). Yapılan bir çalışmada obez farelere yüksek yağlı bir diyet uygulandıktan sonra normal mamalı diyete geçilmesi, yağ dokusunda Cd11c + makrofajlarının yüksek yağlı diyet ile beslenen farelere kıyasla daha düşük seviyede Galektin-3 ekspresine etmesine neden olmuştur. Aynı zamanda, aynı sayıda yağ dokusu Cd11c + makrofajlarının korumasına rağmen diyeti değiştirilen farelerde iltihaplanma ve insülin direncinde iyileşme saptandı (Li, 2010).

Galektin-3, inflamasyon, insülin direnci ve ilave tanımlanmamış mekanizmalar aracılığı ile prediyabet ve diyabet gelişiminde kilit rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle prediyabet ve diyabetin erken teşhisinde etkili olabilecek bir biyobelirteç olduğu sonucuna varılmıştır (Yılmaz, 2015).

Galektin-3, T2DM hastalarında potansiyel koroner ateroskleroz riskini tanımlaması nedeniyle Koroner Arter Hastalığın'ın (KAH) erken müdahalesine yararlı olabilecek yeni ve umut verici biyobelirteçtir (Öztürk, 2015).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez çalışması iki aşamadan meydana gelmiştir. Birinci aşamada konuyla alakalı araştırma, hasta numunelerin toplanması ve saklanması ile verilerin toplanması sağlanmıştır. İkinci aşamada toplanan hasta numunelerinin hangi yöntemle çalışılacağı, tablolar ile grafikler oluşturulmuştur. Ayrıca istatistiksel yöntemler belirlenmiştir.

3.1.1. Tanı koyma kriterleri

Öncelikle çalışmada PKOS olan ve PKOS olmayan gruplar çalışmaya alınmıştır. PKOS olup olmadığı Rotterdam kriterlerine göre belirlenmiştir. Bu kriterlerden en az ikisine sahip hastalar çalışmaya alınmıştır.

Rotterdam kriterleri ise şunlardır.

1. Hiperandrojenizm
2. Kronik anovülasyon
3. PCO (poli kistik over)

3.1.2. Tanı dışlama kriterleri

Hiperprolaktinemi, klasik olmayan konjenital adrenal 21-hidroksilaz eksikliği, tiroid fonksiyon bozukluğu, androjen salgılayan neoplazmalar ve Cushing sendromu gibi hastalıkları dışlayarak PKOS tanısı konulmaktadır.

3.1.3. Çalışma grubu

PKOS olan hasta grubundan 41 hasta, PKOS olmayan gruptan (kontrol grubu) 37 kişi çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontrol gruplarında üreme çağındaki (18-40 yaş arası) kadınlar ve obez olmayan bireyler çalışmaya dahil edildi.

3.1.4. Numune toplanması ve saklanması

Hasta ve kontrol gruplarında bulunan katılımcıların regl dönemlerinin 3. günü ve 8 saatlik açlık sonrası ile alınan kanlar kullanıldı. Antikoagülan içermeyen tüplere aktarıldı. Alınan kanlar 5000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Serumları alınan numuneler -20 °C de saklandı.

3.1.5. Vücut Kütle indeksinin hesaplanması (BMI)

Çalışmaya alınacak olan grupların boy (m) ve kiloları (kg) ölçülerek VKİ hesaplandı.

$$\text{VKİ: (Vücut Ağırlığı (kg)/Boy uzunluğunun karesi (m}^2\text{))}$$

3.1.6. İnsülin direncinin hesaplanması

HOMA-IR: (Açlık serum glukozu(mg/dL) x açlık serum insülin (µIU/mL) / 405 formülü ile hesaplandı.

3.1.7. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Bu çalışmada Bozok Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezinde bulunan cihazlar kullanıldı.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

-
- Masaüstü santrifüj (Eppendorf, 5404, Türkiye)
 - -20 °C (Sanyo, Japonya)
 - +4 °C Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
 - Otomatik pipet seti(1-10 µL, 10-100 µL, 100-1000 µL) (Boeco)
 - Multi kanallı otomatik pipet (30-300 µL) (Boeco, Almanya)
 - ELİSA okuyucu (Elx80, Biotek, Türkiye)
 - Otoanalizör (Roche Cobas 6000, Roche-Hitachi Diagnostic, Japonya)
-

3.1.8. Otoanalizör de çalışılan testler

Otoanalizör olarak Roche Cobas 6000 C 501-E 601 marka cihaz kullanıldı. Bu cihazla serumları alınan gruplardan aşağıdaki testler çalışıldı.

Tablo 3.2. Ölçülen testlerin ölçüm yöntemleri ve kullanılan cihazlar

Test	Analiz Örneği	Ölçüm Yöntemi
Glukoz	Serum	Kolorimetrik
İnsülin	Serum	ECLIA
Total Kolesterol	Serum	Kolorimetrik
HDL Kolesterol	Serum	Kolorimetrik
LDL Kolesterol	Serum	Kolorimetrik
Trigliserid	Serum	Kolorimetrik

Tablo 3.3. ELİSA testleri ve kullanılan cihazlar

Test	Marka	Analiz Örneği	Ölçüm Yöntemi	Cihaz Adı
Speksin	Elabscience-E- EL-H5607	Serum	ELISA	Biotek Elx80
Zonulin	Elabscience-E- EL-H5560	Serum	ELISA	Biotek Elx80
Galektin-3	Elabscience-E- EL-H1470	Serum	ELISA	Biotek Elx80

3.2. Metod

3.2.1. Elisa (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) testi yöntemi

Vücudumuz bakteri, virüs, parazit gibi zararlı canlılarla ve doğal olmayan kimyasallarla mücadele etmek için antikor adı verilen savunma birimleri üretir. Her bir yabancı madde için o maddeyi tanıyacak farklı bir antikor üretilir. Bir laboratuvar tekniği olan Elisa testi, kandaki bu antikorları veya yabancı maddeleri (antijen) tespit eder. Elisa testinin direkt, indirekt ve sandviç Elisa gibi yöntemleri olmasına rağmen en sık kullanılanı sandviç elisa yöntemidir.

3.2.1.1. Elisa testinin özellikleri

- a. Sağlıklı sonuç verme oranı yüksek hassas testlerdir.
- b. Negatif gelen sonuçlar belirleyicidir. Pozitif sonuçlar için test tekrarı yada destekleyici testler yapılabilir.
- c. Elisa testi ile birçok hastalığın teşhisi konulabilir.

3.2.1.2. Elisa çalışma prensibi

Özgül antijen-antikor arasındaki reaksiyona dayanır. Bu teknikle işaretli antijen veya antikor tayin edebiliriz. İşaretli konjugatın hazırlanmasında işaretleyici olarak enzim kullanılır. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra ayırma işlemi yapılır ve ortama substrat ilave edilerek spektrofotometrik olarak enzim aktivitesi ölçülmesi esasına dayanan bir yöntemdir.

3.2.2. Speksin

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini kullandı. Bir mikro plaka 96 kuyucuktan oluşmaktadır. Bu kit içinde sağlanan mikro ELISA plakası, Human SPX'e özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler mikro ELISA plaka oyuklarına ilave edilir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra Human SPX ve Avidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş bir tespit antikoru, her mikro plaka kuyusuna art arda ilave edilir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her oyuğa ilave edilir. Sadece Human SPX,

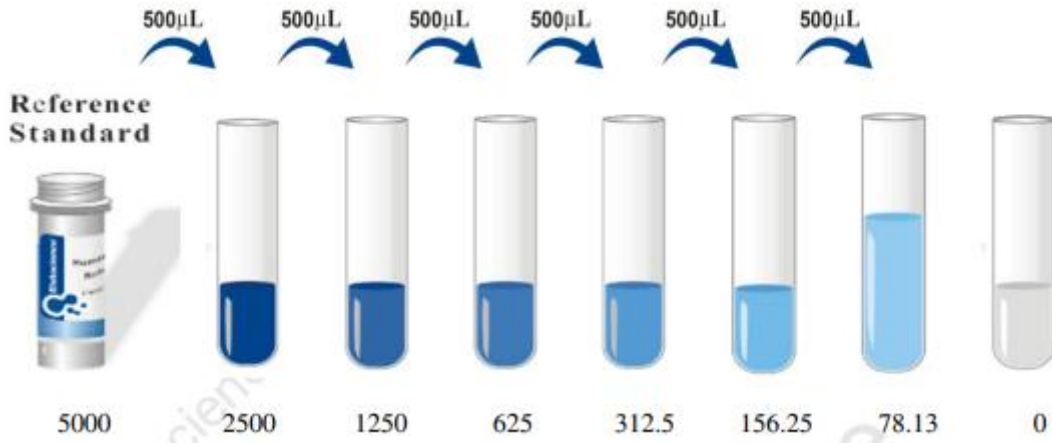
biyotiniyle tespit antikorunu ve Avidin-HRP konjugatını içeren kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisi ilave edilerek sona erdirilir ve renk sararır. Optik yoğunluk (OD) 450 nm \pm 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri İnsan SPX konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki İnsan SPX konsantrasyonu hesaplandı.

3.2.2.1. Reaktifler

1. Antikor kaplı mikrotitrasyon stripleri (8 kuyucuklu 12 adet strip)
2. Referans Standart
3. Biyotinli antikor konsantrasyonu
4. HRP konjugatı
5. Referans standart ve örnek solüsyonu
6. HRP Konjugat çözeltisi
7. Yıkama solüsyonu
8. Substrat reaktifi
9. Durdurma solüsyonu

3.2.2.2. Çalışma öncesi işlem basamakları

1. Kit 20 dk öncesi çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi.
2. **Yıkama solüsyonu hazırlama:** 30 ml concentrated wash buffer üzerine 720 ml deiyonize su eklenerek hazırlandı.
3. **Standard solüsyonu hazırlama:**
Referans Standart&Örnek Dilüent'ten 1 ml alınıp referans standart ile karıştırıldı. 10.000 g de 1 dakika santrifüj edildi.
4. 7 adet tüp hazırlandı ve etiketlendi. İçerisine 500 mikrolitre Referans Standart&Örnek Dilüent eklendi.
5. Daha sonra üzerine reference standart'tan 500 mikro litre alınarak sırasıyla dilüe edildi. 7. Tüpe dilüsyon yapılmadı. Dilüsyon aşağıdaki gibi yapılmıştır.



Şekil 3.1. Speksin standart dilüsyon yapılması ve standart değerleri

6. Biotinlenmiş antikor solüsyonu hazırlama:

Biotinlenmiş solüsyondan 120 mikrolitre alınarak biotinlenmiş Ab dilüent'e (12 ml) eklendi ve 1/100 oranında hazırlandı. Bu solüsyon 1. işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanır.

7. HRP konjugat solüsyonu hazırlama:

HRP konjugattan 120 mikrolitre alınarak HRP konjugat dilüent'e (12 ml) eklendi ve 1/100 oranında hazırlandı. Bu solüsyon 2. işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanır.

8. Substrat solüsyon: Hazır şekilde bulunur.

9. Durdurma solüsyonu: Hazır şekilde bulunur.

3.2.2.3. Test prosedürü

1. Hazırlanmış olan standartlardan ve serumlarda 100 mikrolitre alınarak sırasıyla kuyucuklara eklendi. 90 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası yıkama işlemi yapılmadı. Mikro plaka içindeki sıvılar ters çevrilerek boşaltıldı ve ikinci işleme geçildi.
2. Birinci işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanan biotinlenmiş antikor solüsyonun dan 100 mikrolitre alınarak bütün kuyucuklara eklendi. 1 saat 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonrası 350 mikrolitre wash buffer ile bütün kuyucuklar 3 defa yıkama işlemi yapıldı.

4. İkinci işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanan HRP konjugat solüsyondan 100 mikrolitre alınarak bütün kuyucuklara eklendi. 30 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrası 350 mikrolitre yıkama solüsyonu ile bütün kuyucuklar 5 defa yıkama işlemi yapıldı.
6. Yıkama sonrası bütün kuyucuklara 90 mikrolitre substrat reaktifi eklendi. 15 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
7. İnkübasyon sonrası bütün kuyucuklara 50 mikrolitre durdurucu solüsyon eklendi ve reaksiyon durduruldu.
8. 5 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri (OD) okundu.

3.2.3. Zonulin

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini kullanır. Bu kit içinde sağlanan mikro ELISA plakası, Human zonulin'e özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler mikro ELISA plaka oyuklarına ilave edilir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra Human zonulin ve Avidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş bir tespit antikorunu, her mikro plaka kuyusuna art arda ilave edilir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her oyuğa ilave edilir. Sadece Human zonulin, biyotinitle tespit antikorunu ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisi ilave edilerek sona erdirilir ve renk sararır. Optik yoğunluk (OD) 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri İnsan zonulin konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki İnsan zonulin konsantrasyonu hesaplandı.

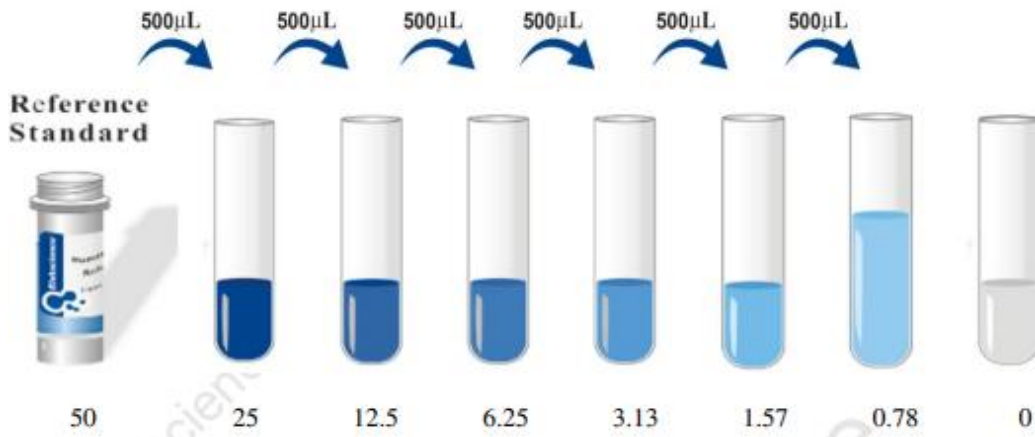
3.2.3.1. Reaktifler

1. Antikor kaplı mikrotitrasyon stripleri (8 kuyucuklu 12 adet strip)
2. Referans Standart
3. Biyotinli antikor konsantrasyonu
4. HRP konjugatı
5. Referans standart ve örnek solüsyonu

6. HRP Konjugat çözeltisi
7. Yıkama solüsyonu
8. Substrat reaktifi
9. Durdurma solüsyonu

3.2.3.2. Çalışma öncesi işlem basamakları

1. Kit 20 dk öncesi çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi.
2. **Yıkama solüsyonu hazırlama:** 30 ml concentrated wash buffer üzerine 720 ml deiyonize su eklenerek hazırlandı.
3. **Standard solüsyonu hazırlama:**
Referans Standart&Örnek Dilüent'ten 1 ml alınıp referans standart ile karıştırıldı. 10.000 g de 1 dakika santrifüj edildi.
4. 7 adet tüp hazırlandı ve etiketlendi. İçerisine 500 mikrolitre Referans Standart&Örnek Dilüent eklendi.
5. Daha sonra üzerine reference standart'tan 500 mikro litre alınarak sırasıyla dilüe edildi. 7. Tüpe dilüsyon yapılmadı. Dilüsyon aşağıdaki gibi yapılmıştır.



Şekil 3.2. Zonulin standart dilüsyon yapılması ve standart değerleri

6. Biotinlenmiş antikor solüsyonu hazırlama:

Biotinlenmiş solüsyondan 120 mikrolitre alınarak biotinlenmiş Ab dilüent'e (12 ml) eklendi ve 1/100 oranında hazırlandı. Bu solüsyon 1. işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanır.

7. HRP konjugat solüsyonu hazırlama:

HRP konjugattan 120 mikrolitre alınarak HRP konjugat dilüent'e (12 ml) eklendi ve 1/100 oranında hazırlandı. Bu solüsyon 2. işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanır.

8. **Substrat solüsyon:** Hazır şekilde bulunur.

9. **Durdurma solüsyonu:** Hazır şekilde bulunur.

3.2.3.3. Test prosedürü

1. Hazırlanmış olan standartlardan ve serumlarda 100 mikrolitre alınarak sırasıyla kuyucuklara eklendi. 90 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası yıkama işlemi yapılmadı. Mikro plaka içindeki sıvılar ters çevrilerek boşaltıldı ve ikinci işleme geçildi.
2. Birinci işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanan biotinlenmiş antikor solüsyonun dan 100 mikrolitre alınarak bütün kuyucuklara eklendi.1 saat 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonrası 350 mikrolitre wash buffer ile bütün kuyucuklar 3 defa yıkama işlemi yapıldı.
4. İkinci işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanan HRP konjugat solüsyondan100 mikrolitre alınarak bütün kuyucuklara eklendi. 30 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrası 350 mikrolitre yıkama solüsyonu ile bütün kuyucuklar 5 defa yıkama işlemi yapıldı.
6. Yıkama sonrası bütün kuyucuklara 90 mikrolitre substrat reaktifi eklendi. 15 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
7. İnkübasyon sonrası bütün kuyucuklara 50 mikrolitre durdurucu solüsyon eklendi ve reaksiyon durduruldu.
8. 5 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri (OD) okundu.

3.2.4. Galektin-3

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini kullanır. Bu kit içinde sağlanan mikro ELISA plakası, Human galektin-3'e özgü bir antikor ile önceden kaplanmıştır.

Standartlar veya numuneler mikro ELISA plaka oyuklarına ilave edilir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra Human galektin-3 ve Avidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) konjüгатına özgü biyotinlenmiş bir tespit antikorunu, her mikro plaka kuyusuna art arda ilave edilir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her oyuğa ilave edilir. Sadece Human galektin-3, biyotini ile tespit antikorunu ve Avidin-HRP konjüгатı içeren kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisi ilave edilerek sona erdirilir ve renk sararır. Optik yoğunluk (OD) 450 nm \pm 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri İnsan galektin-3 konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki İnsan galektin-3 konsantrasyonu hesaplanır.

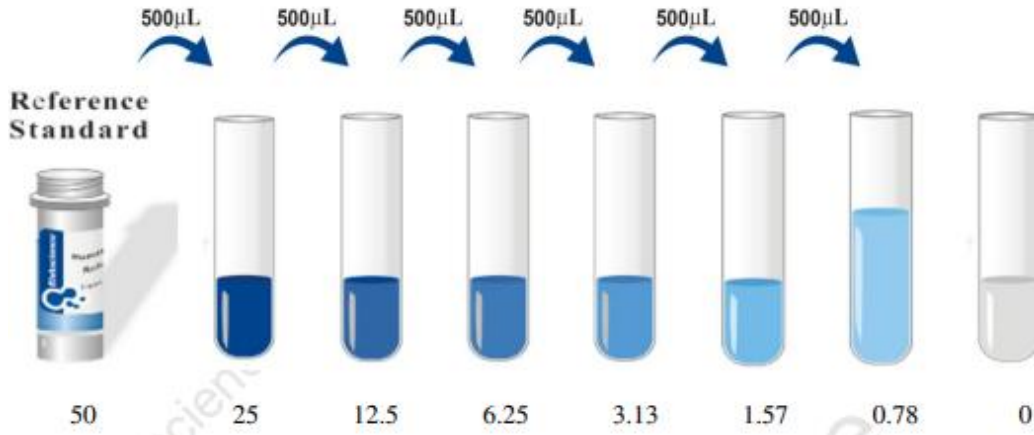
3.2.4.1. Reaktifler

1. Antikor kaplı mikrotitrasyon stripleri (8 kuyucuklu 12 adet strip)
2. Referans Standart
3. Biyotinli antikor konsantrasyonu
4. HRP konjüгатı
5. Referans standart ve örnek solüsyonu
6. HRP Konjüгат çözeltisi
7. Yıkama solüsyonu
8. Substrat reaktifi
9. Durdurma solüsyonu

3.2.4.2. Çalışma öncesi işlem basamakları

1. Kit 20 dk öncesi çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi.
2. **Yıkama solüsyonu hazırlama:** 30 ml concentrated wash buffer üzerine 720 ml deiyonize su eklenerek hazırlandı.
3. **Standard solüsyonu hazırlama:**
Referans Standart&Örnek Dilüent'ten 1 ml alınıp referans standart ile karıştırıldı. 10.000 g de 1 dakika santrifüj edildi.
4. 7 adet tüp hazırlandı ve etiketlendi. İçerisine 500 mikrolitre Referans Standart&Örnek Dilüent eklendi.

5. Daha sonra üzerine reference standart'tan 500 mikro litre alınarak sırasıyla dilüe edildi. 7. Tüpe dilüsyon yapılmadı. Dilüsyon aşağıdaki gibi yapılmıştır.



Şekil 3.3. Galektin-3 standart dilüsyon yapılması ve standart değerleri

6. Biotinlenmiş antikor solüsyonu hazırlama:

Biotinlenmiş solüsyondan 120 mikrolitre alınarak biotinlenmiş Ab dilüent'e (12 ml) eklendi ve 1/100 oranında hazırlandı. Bu solüsyon 1. işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanır.

7. HRP konjugat solüsyonu hazırlama:

HRP konjugattan 120 mikrolitre alınarak HRP konjugat dilüent'e (12 ml) eklendi ve 1/100 oranında hazırlandı. Bu solüsyon 2. işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanır.

8. Substrat solüsyon: Hazır şekilde bulunur.

9. Durdurma solüsyonu: Hazır şekilde bulunur.

3.2.4.3. Test prosedürü

1. Hazırlanmış olan standartlardan ve serumlarda 100 mikrolitre alınarak sırasıyla kuyucuklara eklendi. 90 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası yıkama işlemi yapılmadı. Mikro plaka içindeki sıvılar ters çevrilerek boşaltıldı ve ikinci işleme geçildi.

2. Birinci işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanan biotinlenmiş antikör solüsyonun dan 100 mikrolitre alınarak bütün kuyucuklara eklendi.1 saat 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonrası 350 mikrolitre wash buffer ile bütün kuyucuklar 3 defa yıkama işlemi yapıldı.
4. İkinci işlem bitimine 15 dakika öncesi hazırlanan HRP konjugat solüsyondan100 mikrolitre alınarak bütün kuyucuklara eklendi. 30 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrası 350 mikrolitre yıkama solüsyonu ile bütün kuyucuklar 5 defa yıkama işlemi yapıldı.
6. Yıkama sonrası bütün kuyucuklara 90 mikrolitre substrat reaktifi eklendi. 15 dakika 37 °C de etüvde inkübasyona bırakıldı.
7. İnkübasyon sonrası bütün kuyucuklara 50 mikrolitre durdurucu solüsyon eklendi ve reaksiyon durduruldu.
8. 5 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri (OD) okundu.

3.3. İstatistiksel Analizi

Çalışmadaki istatistiksel analizler SPSS v23.0 programı ile yapılmıştır. Gruplar arası normal dağılıma uygunluk sınamaları için Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testleri uygulanmıştır. Normal dağılıma uygunluk gösteren testler için parametrik normal dağılıma uygunluk göstermeyen testler için non-parametrik testler uygulanmıştır. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen testler için gruplar arası karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. Spearman korelasyon analizi yapılmıştır. Veriler mean \pm SD şeklinde gösterilmiştir. Tüm parametreler için anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Yapılan testlerin özgüllüğü ve duyarlılığını değerlendirmek için ROC curve analizi yapılmıştır.

4. BULGULAR

PKOS olan hastalarda Zonulin, Galektin-3 ve Speksin seviyelerinin değerlendirilmesi ve insülin direnci belirlemede etkinliklerini araştırmak için PKOS tanısı almış 41 hasta ile PKOS tanısı almamış 37 sağlıklı kadın olmak üzere toplam 78 kişi çalışmaya dahil edildi. Çalışma grubuna ait veriler Tablo 4.1’de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. PKOS olan hasta grubu ve PKOS olmayan kontrol grubu parametrelerin karşılaştırılması

Parametreler	Grup		p
	Kontrol n=37	Hasta n=41	
Yaş	26,95±4,76	26,32±3,657	0,518
Speksin(ng/ml)	0,28±0,08	0,14±0,04	0,000
Galektin-3(ng/ml)	1,97±0,24	2,60±0,36	0,000
Zonulin(ng/ml)	2,12±0,52	3,19±0,32	0,000
Homa-IR	1,94±0,92	2,50±1,19	0,022
BMI(kg/m ²)	24,57±3,39	24,80±3,74	0,773
LDL Kolesterol	92,46±34,15	103,58±27,97	0,166
HDL Kolesterol	53,46±11,67	59,71±14,68	0,006
Kolesterol	167,61±34,95	179,44±27,73	0,143
TG	86,31±39,55	98,98±57.60	0,432

PKOS hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında yaş ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

PKOS hasta grubu ile kontrol gruplarının BMI değerleri istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

PKOS hasta grubunda PKOS olmayan kontrol grubuna göre HDL kolesterol daha yüksek bulundu aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken TG, LDL

kolesterol ve total kolesterol düzeylerindeki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

PKOS hasta grubunun Speksin değeri kontrol grubundan daha düşüktü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

PKOS hasta grubunun Zonulin değeri kontrol grubundan daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

PKOS hasta grubunun Galektin-3 değeri kontrol grubundan daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

PKOS hasta grubunun HOMA-IRdeğeri kontrol grubu HOMA-IR değerinden daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

Tüm parametreler arasında korelasyon analizi yapıldı. Elde edilen bulgular Tablo 4.2'de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. Çalışılan parametrelerin korelasyon analizi

		Yaş(yıl)	Speksin(ng/mL)	Galektin-3(ng/mL)	Zonulin(ng/mL)	HOMA-IR	BMI(kg/m ²)	LDL kolesterol(mg/dL)	HDL kolesterol (mg/dL)	Total Kolesterol (mg/dL)	TG(mg/dL)
Yaş(yıl)	r	1	0,502	-0,280	-0,449	-0,243	0,003	-0,016	-0,176	0,114	0,120
	p		0,000*	0,013*	0,000*	0,032*	0,981	0,900	0,161	0,366	0,303
Speksin(ng/ml)	r	0,502	1	-0,465	-0,433	-0,001	0,036	-0,198	-0,185	0,026	0,050
	p	0,000*		0,000*	0,000*	0,993	0,756	0,116	0,141	0,838	0,665
Galektin-3(ng/ml)	r	-0,280	-0,465	1	0,766	0,349	0,369	0,120	-0,012	0,108	0,220
	p	0,013*	0,000*		0,000*	0,002*	0,001*	0,343	0,923	0,390	0,057
Zonulin(ng/ml)	r	-0,449	-0,433	0,766	1	0,429	0,482	0,240	-0,021	0,322	0,311
	p	0,000*	0,000*	0,000*		0,000*	0,000*	0,056	0,869	0,009*	0,006*
HOMA-IR	r	-0,243	-0,001	0,349	0,429	1	0,499	0,023	-0,161	0,232	0,510
	p	0,032*	0,993	0,002*	0,000*		0,000*	0,857	0,201	0,063	0,000*
BMI(kg/m ²)	r	0,003	0,036	0,369	0,482	0,499	1	0,283	-0,334	0,445	0,416
	p	0,981	0,756	0,001*	0,000*	0,000*		0,024*	0,007*	0,000*	0,000*
LDLkolesterol(mg/dL)	r	-0,016	-0,198	0,120	0,240	0,023	0,283	1	-0,031	0,710	0,040
	p	0,900	0,116	0,343	0,056	0,857	0,024*		0,807	0,000*	0,754
HDLkolesterol(mg/dL)	r	-0,176	-0,185	-0,012	-0,021	-0,161	-0,334	-0,031	1	0,197	-0,318
	p	0,161	0,141	0,923	0,869	0,201	0,007*	0,807		0,116	0,011*
Total Kolesterol(mg/dL)	r	0,114	0,026	0,108	0,322	0,232	0,445	0,710	0,197	1	0,378
	p	0,366	0,838	0,390	0,009*	0,063	0,000*	0,000*	0,116		0,002*
TG(mg/dL)	r	0,120	0,50	0,220	0,311	0,510	0,416	0,040	-0,318	0,378	1
	p	0,303	0,665	0,057	0,006*	0,000*	0,000*	0,754	0,011*	0,002*	

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, $p < 0.05$

Yaş; Speksin ile aynı yönlü orta dereceli korelasyon saptandı. Galektin-3 ve HOMA-IR ile ters yönlü zayıf bir korelasyon saptandı. Zonulin ile ters yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı. BMI, LDL kolesterol, HDL kolesterol, Total kolesterol ve TG ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p > 0,05$).

Speksin; Galektin-3 ve Zonulin ile ters yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı($p < 0,05$). HOMA-IR, BMI, LDL kolesterol, HDL kolesterol, Total kolesterol ve TG ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı($p > 0,05$).

Galektin-3; Zonulin ile aynı yönlü kuvvetli korelasyon saptandı. HOMA-IR ve BMI ile aynı yönlü ve orta dereceli bir korelasyon saptandı($p < 0,05$). LDL kolesterol, HDL kolesterol, Total kolesterol, TG ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p > 0,05$).

Zonulin; HOMA-IR, BMI, Total kolesterol ve TG ile aynı yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı. LDL kolesterol ve HDL kolesterol ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).

HOMA-IR; BMI ve TG ile aynı yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı. LDL kolesterol, HDL kolesterol ve Total kolesterol ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).

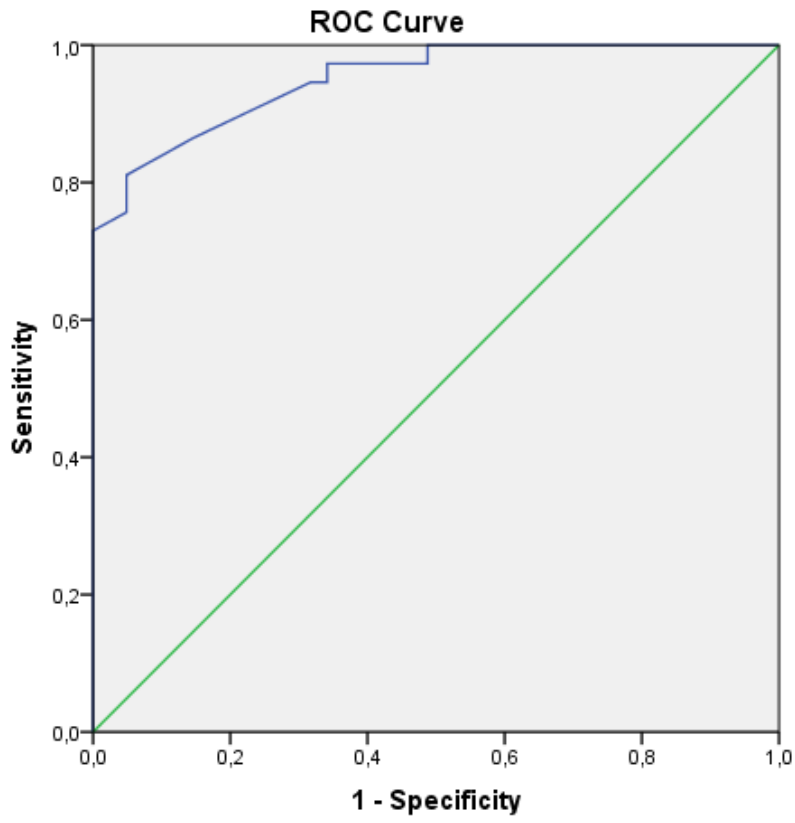
BMI; LDL kolesterol ile aynı yönlü zayıf, Total kolesterol ile TG aynı yönlü orta, HDL kolesterol ile ters yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı.

LDL; Total kolestrol ile aynı yönlü kuvvetli korelasyon gösterdi. HDL kolesterol ve TG ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı($p>0,05$)

HDL; TG ile ters yönlü orta dereceli korelasyon saptandı. Kolesterol ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı($p>0,05$)

Total Kolesterol; TG ile aynı yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı.

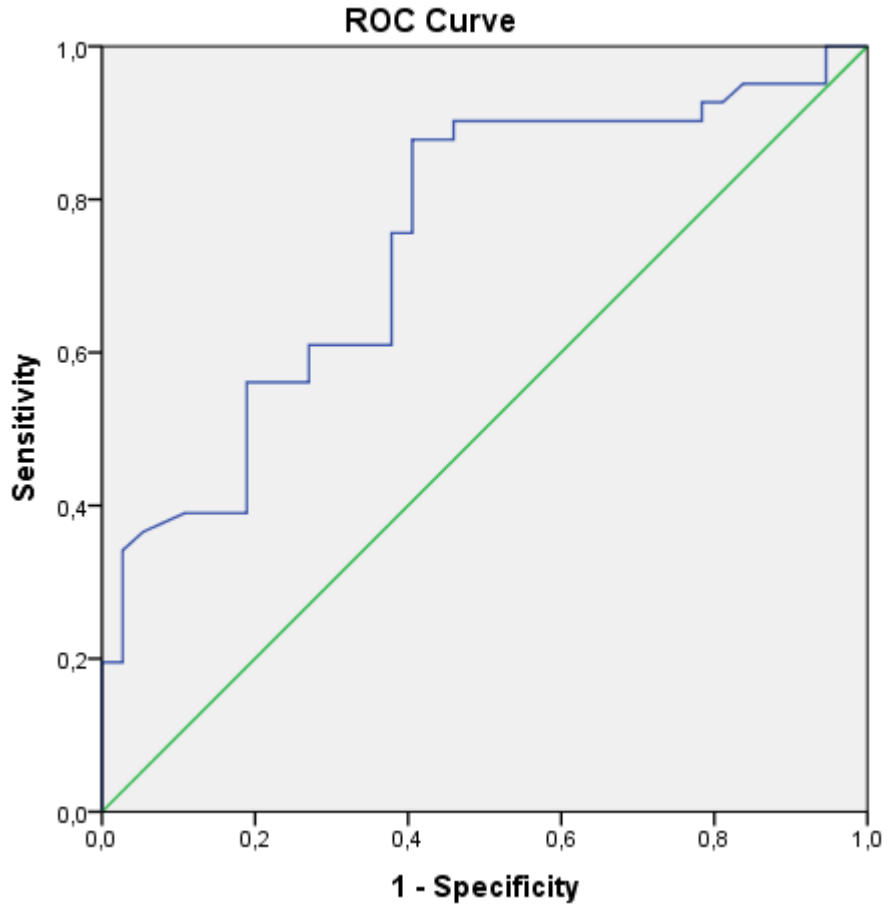
Elde edilen bulguların tanısal değeri ROC eğrisi analizi ile değerlendirildi. ROC eğrisi analizi ile yapılan değerlendirmede serum Speksin'in, Galektin-3'ün ve Zonulinin PKOS'u öngörmede tanısal değerleri olduğu görüldü.(Grafik 4.1, 4.2, 4.3)



Diagonal segments are produced by ties.

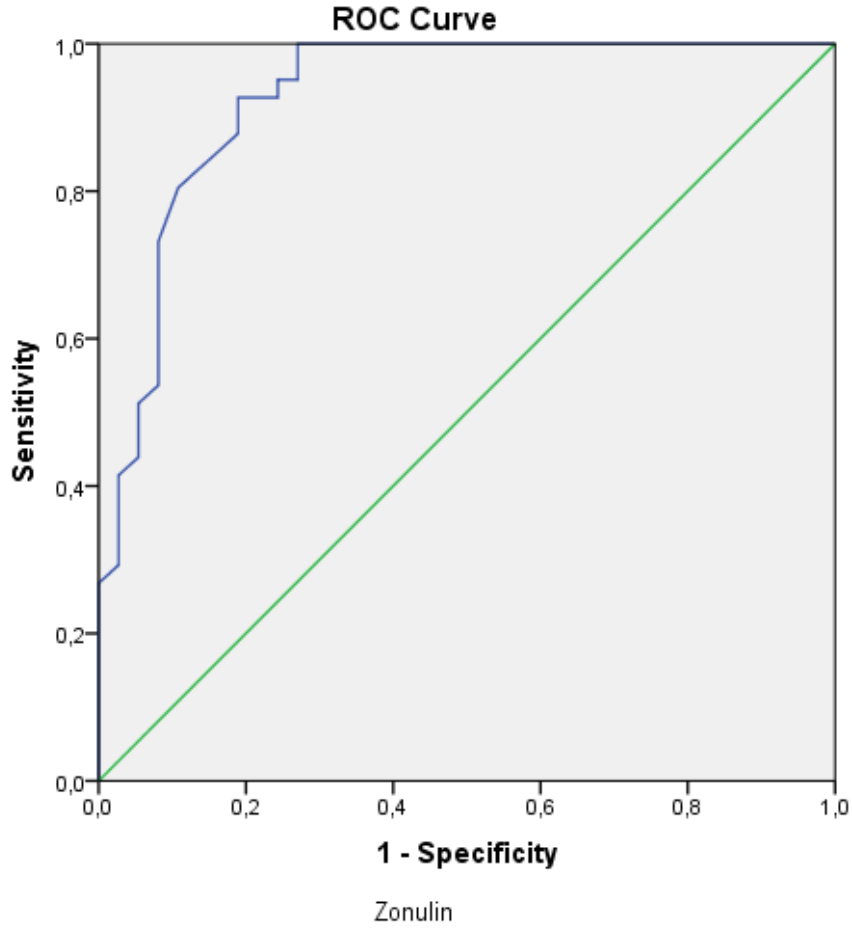
Grafik 4.1. Speksin Roc Eğrisi Analizi

Speksin'in PKOS'U öngörmeye cut-off değeri 0.21 ng/mL olarak alınırsa %86,49 sensitivite ve % 85,37 spesifik olduğu saptandı(Grafik 4.1).



Grafik 4.2. Galektin-3 Roc eğrisi analizi

ROC eğrisi analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda serum Galektin-3 PKOS'u öngörmede tanısal değeri olduğu görülmüştür. Galektin-3 PKOS'u öngörmede cut-off değeri 2,53 ng/mL olarak alındığında %60,98 sensitivite ve % 72,97 spesifik olduğu saptandı. (Grafik 4.2.)



Grafik 4.3. Zonulin ROC eğrisi analizi

ROC eğrisi analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda serum Zonulin, PKOS'u öngörmeye tanısal değeri olduğu görülmüştür. Zonulin PKOS'u öngörmeye cut-off değeri 2,91 ng/mL olarak alındığında % 80,49 sensitivite ve % 89,19 spesifik olduğu saptandı. (Grafik 4.3)

PKOS'u öngörmeye Speksin ve Zonulinin Galektin-3'e göre daha yüksek tanısal değeri olduğu görüldü.

5. TARTIŞMA

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağına giren kadınlarda adet düzensizliği, hiperandrojenizm ve kısırlık gibi çeşitli klinik semptomların görüldüğü yaygın bir durumdur. PKOS görülme sıklığı 10% olup hastalık patogenezinde insülin direnci önemlidir (Goodarzi, 2011).

Çeşitli çalışmalarda PKOS patofizyolojisinde insülin direncinin önemli rol oynadığı gösterilmiştir.(Tsilchorozidou, 2004; Dunaif, 1997). Obezite varlığında insülin direnci arasında ki ilişkinin daha kuvvetli hale geldiği bilinmektedir (Kiddy, 1990).

Bizim çalışmamızda PKOS hasta grubu HOMA-IR değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PKOS hasta grubunda HOMA-IR değerinin daha yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Bu bulgu PKOS'un insülin direncine etkisinin olduğunu destekler nitelikte idi.

Wiltgen ve arkadaşları (2009) yaptığı çalışmada PKOS'lu bireylerde LDL kolesterol ve trigliserid düzeylerinin yüksek, HDL kolesterol düzeyinin düşük olduğu; hipertansiyon, IR, koagülasyon ve fibrinolitik sistem bozukluğu gibi koroner kalp hastalığı riskini artıran faktörlerin bulunduğunu göstermişlerdir. Andrea ve arkadaşları (2014) ise yaptıkları çalışmada PCOS olan hasta grubunda TG seviyesinin daha yüksek HDL kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinin ise kontrol ve hasta grubunda benzer olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda PKOS hasta grubu ve kontrol gruplarında HDL kolesterol düzeyi yüksek bulunurken LDL kolesterol, Total kolesterol ve TG düzeyleri ise anlamlı bir fark bulunmadığı görüldü.

Bu bulgu araştırma grubunun obez olmayan ve benzer VKI'ne sahip bireylerden seçilmesinden kaynaklanabilir.

İlhan ve arkadaşları (2018) yaptığı çalışmada PKOS grubunun Speksin seviyesinin PKOS olmayan kontrol grubuna göre daha düşük seviyede olduğunu bulmuşlardır. Speksin ile HDL kolesterol arasında pozitif, HOMA-IR ile de negatif korelasyon olduğu ve Speksin'in PCOS'u öngörmeye etkili olabileceğini bulunmuştur. Bizim çalışmamızda yapılan çalışmaya benzer şekilde PKOS grubunda Speksin seviyesi PKOS olmayan kontrol grubuna göre daha düşüktü ve aradaki fark istatistiksel olarak

anlamli idi. Speksin'in HDL kolesterol ve HOMA-IR ile arasinda ise anlamli bir korelasyon saptanmadı.

Güler ve arkadaşları. (2020) yaptığı çalışmada Speksin seviyesinin PKOS grubunda PKOS olmayan kontrol grubuna göre daha düşük bulmuşlardır. Ayrıca PKOS'lu bireylerde insülin direnci, VKİ ve androjenler ile de negatif korelasyon olduğunu göstermişlerdir. PKOS olma riskinin düşük Speksin seviyesi ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da yapılan çalışmaya benzer şekilde Speksin seviyeleri PKOS'lu bireylerde PKOS olmayan kontrol grubundan daha düşük bulundu. Ancak HOMA-IR ve BMI arasında anlamli bir korelasyon saptanmadı

Bacopoulou (2018) yaptığı çalışmada Speksin düzeylerinin PKOS da etkisinin olmadığı iddia edilirken bizim yaptığımız bu çalışmada Speksin seviyeleri PKOS hasta grubunda anlamli olarak düşük bulundu.

Bu çalışmalar ile bizim çalışmamız serum Speksin düzeyinin PKOS'u öngörmeye biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ispatlar niteliktedir. Speksin düzeyinin İnsülin direnci ve VKİ ile ilişkisinin bulunmaması çalışmaların sınırlı sayıda bireylerden oluşmasından kaynaklanabileceğinden daha fazla sayıda katılımcı ile yapılacak çalışmalarla bu ilişki daha güçlü şekilde ortaya konulabilir.

Zonulin, bağırsak geçirgenliğini tersine çevrilebilir şekilde düzenleyen ve otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayan yeni bir ökaryotik proteindir (Wang, 2000). Zhang ve arkadaşları (2015) yaptığı çalışmada, PKOS hasta grubu ile PKOS olmayan kontrol grubu karşılaştırıldığında PKOS hasta grubunda serum Zonulin seviyelerinin anlamli derecede daha yüksek olduğunu ve PKOS grubunda HOMA-IR arttığını ISI değerinin ise azaldığını bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da serum Zonulin seviyesi PKOS hasta grubunda PKOS olmayan kontrol grubuna göre anlamli derecede yüksek bulundu. PKOS hasta grubu, kontrol grubu karşılaştırıldığında PKOS grubunda HOMA-IR değeri daha yüksek bulundu.

Çetin ve arkadaşları (2019) yaptıkları çalışmada serum Zonulin seviyelerinin PCOS hasta grubu ile PKOS kontrol grubu arasında benzerlik gösterdiğini; Zonulin ile Kolesterol, LDL kolesterol, TG ve HDL kolesterol arasında negatif korelasyon olduğunu buldu. Bizim çalışmamız da ise yapılan çalışmanın aksine PKOS hasta grubunda kontrol grubuna göre serum Zonulin seviyesi anlamli derecede yüksek olup

Zonulin ile HOMA-IR arasında pozitif korelasyon görülürken Zonulin ile lipid profili (Total kolesterol, LDL kolesterol, TG ve HDL kolesterol) arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü.

Bu çalışmalar ışığında bizim çalışmamız PKOS ve PKOS'lu hastaların insülin direncini öngörmeye Zonulin'nin etkisinin olabileceğini kanıtlar nitelikteydi.

Inflamasyon, insülin direnci ve bilinmeyen mekanizmalar yoluyla prediyabet ve diyabet gelişiminde kilit rol oynayan Galektin-3, prediyabet ve diyabetin erken teşhisinde etkili olabilecek biyobelirteçtir(Yılmaz, 2015) .

T. Alves ve arkadaşları (2019) yaptığı çalışmada ise Galektin-3 düzeylerinin PKOS'lu bireyler ve PKOS olmayan kontrol grupları arasında fark olmadığını ancak Galektin-3'ün HOMA-IR ve VKİ ile pozitif korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Galektin-3'ün PKOS grubunda insülin direnci ve obezite de bir etkisinin olduğu sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmanın aksine PKOS hasta grubunda Galektin-3 düzeyi PKOS olmayan kontrol grubundan daha yüksek bulundu. Galektin-3, HOMA-IR ile VKİ arasında pozitif korelasyon bulundu.

Yılmaz ve arkadaşları (2014) yaptığı çalışmada PKOS olan kadınlar ve PKOS olmayan sağlıklı bireyler karşılaştırdığında PKOS'lu kadınlarda serum Galektin-3 seviyelerinin daha yüksek olduğu ve Galektin-3 ile HOMA-IR arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur. Galektin-3'ün PKOS'u öngörmeye IR ve hiperandrojenizm yoluyla etkisinin olabileceğini göstermişlerdir. Bizim yaptığımız bu çalışmada da benzer şekilde PKOS hasta grubunda Galektin-3 seviyesi PKOS olmayan kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu. Galektin-3 ile HOMA-IR arasında pozitif korelasyon saptandı.

Bizim ve diğer araştırmacıların çalışmalarından elde edilen bulgular Galektin-3'ün PKOS'u öngörmeye ve PKOS grubunda insülin direncini değerlendirmede biyobelirteç olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

PKOS hasta grubu ile PKOS kontrol grubu karşılaştırıldığında yaş ortalamaları benzer bulundu.

PKOS hasta grubu ile PKOS kontrol grubu karşılaştırıldığında BMI değerleri benzer bulundu.

PKOS hasta grubu ile PKOS olmayan kontrol grubu arasında HDL kolesterol düzeyi yüksek bulunurken TG, LDL kolesterol ve Total kolesterol ise benzer bulundu.

PKOS hasta grubunun Speksin değeri PKOS olmayan kontrol grubunun Speksin değerinden daha düşük bulundu.

PKOS hasta grubunun Zonulin değeri PKOS olmayan grubun Zonulin değerinden daha yüksek bulundu.

PKOS hasta grubunun Galektin-3 değeri PKOS olmayan grubun Galektin-3 değerinden daha yüksek bulundu.

PKOS hasta grubunun HOMA-IR değeri PKOS olmayan grubun HOMA-IR değerinden daha yüksek bulundu.

Speksin; Galektin-3 ve Zonulin ile ters yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı. HOMA-IR, VKİ, LDL kolesterol, HDL kolesterol, Total kolesterol ve TG ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Galektin-3; Zonulin aynı yönlü kuvvetli korelasyon saptandı. HOMA-IR ve VKİ ile aynı yönlü ve orta dereceli bir korelasyon saptandı. LDL kolesterol, HDL kolesterol, Total kolesterol, TG ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Zonulin; HOMA-IR, BMI, Total kolesterol ve TG ile aynı yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı. LDL kolesterol ve HDL kolesterol ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

HOMA-IR; BMI ve TG ile aynı yönlü orta dereceli bir korelasyon saptandı. LDL kolesterol, HDL kolesterol ve Total kolesterol ile anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Çalışmamız PKOS'u ve PKOS'lu hastalarda insülin direncini belirlemede Speksin, Galektin-3 ve Zonulin'in etkinlikleri arasındaki ilişkiyi araştıran özgün bir çalışmadır.

PKOS'u öngörmeye serum Speksin seviyesinin, hasta grubunun kontrol grubundan daha düşük seviyede olması biyobelirteç olarak kullanılabilmesini destekler nitelikteydi ancak insülin direnci ile anlamlı bir ilişki kurulamaması bu araştırmanın daha çok nitelikli katılımcı ile yapılmasını gerektirmektedir.

Çalışmamızda serum Zonulin seviyesinin, hasta grubunun kontrol grubundan daha yüksek seviyede ve anlamlı bulunması Zonulin'in PKOS'u öngörmeye etkisinin olduğunu aynı zamanda insülin direncine de etkisi olduğu bulunmuştur. Zonulin PKOS'u ve PKOS'lu olan hastalarda insülin direncini belirlemede biyobelirteç olarak kullanılabilmesini gösterdi.

Çalışmamızda serum Galektin-3 seviyesinin, hasta grubunun kontrol grubundan daha yüksek seviyede ve anlamlı bulunması Galektin-3'ün PKOS'u öngörmeye etkisinin olduğunu aynı zamanda insülin direncine de etkisi olduğu bulunmuştur. Galektin-3 PKOS'u ve PKOS'lu olan hastalarda insülin direncini belirlemede biyobelirteç olarak kullanılabilmesini gösterdi.

Çalışmamızda Speksin, Zonulin ve Galektin-3 arasındaki değişimler incelendiğinde; Speksin, Zonulin ve Galektin-3 ile negatif korelasyon gösterdi. Zonulin de Galektin-3 ile pozitif korelasyon gösterdi. Dolaşımdaki Speksin seviyesinin düşüklüğü Zonulin ve Galektin-3 seviyelerinin yüksekliği PKOS'u öngörmeye bu üç parametrenin de kullanılabilmesini düşündürmüştür.

Sonuç olarak Speksin, Zonulin ve Galektin-3'ün PKOS'u belirlemede biyobelirteç olarak kullanılabilmesi ve insülin direncinin saptanmasında da faydalı olabileceği ancak bu sonucun doğrulanması için çok sayıda kişileri içeren gruplarla çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome(PCOS)*. Hum Reprod. 27; 14-24, 2012.

Andrea Porzionato, Marcin Rucinski, Veronica Macchi, Carla Stecco, Ludwik K. Malendowicz, and Raffaele De Caro. *Speksin Expression in Normal Rat Tissues*. *J Histochem Cytochem*. 2010 Sep; 58(9): 825–837.

Andrea Roe, Jennifer Hillman, Samantha Butts, Mathew Smith, Daniel Rader, Martin Playford, Nehal N. Mehta, Anuja Dokras. Decreased Cholesterol Efflux Capacity and Atherogenic Lipid Profile in Young Women With PCOS. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 99, Issue 5, 1 May 2014, Pages E841–E847, <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3918>

Argüeso P, Panjwani N. Focus on molecules: *Galektin-3*. *Exp Eye Res*. 2011;92:2–3. doi: 10.1016/j.exer.2010.11.009.

Aslı Guler, İsmail Demir. *Decreased levels of speksin are associated with hormonal and metabolic disturbance in subjects with polycystic ovary syndrome*. <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1737660>

Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(7):2434-8.

Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF. Androgen Excess Society. *Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a guideline*. *J Clin Endocrinol Metab*. 91; 4237-4245, 2006.

Balen AH, Conway GS, Homburg R, Legro RS. Polycystic Ovary Syndrome. A Guide to Clinical Management (Taylor & Francis, London, 2005).

Barber TM, McCarthy MI, Wass J a H, Franks S. Obesity and polycystic ovary syndrome. *Clinical endocrinology*. 2006;65(2):137-45.

Bergh C, Carlsson B, Olsson JH, Selleskog U, Hillensjö T. Regulation of androgen production in cultured human thecal cells by insulin-like growth factor I and insulin. *Fertil Steril*. 59; 323–331, 1993.

Carmina E, Lobo RA. Do hyperandrogenic women with normal menses have polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril*. 71;319-22, 1999.

Carnevale R, Pastori D, Nocella C, Cammisotto V, Baratta F, Del Ben M, Angelico F, Sciarretta S, Bartimoccia S, Novo M. *Low-grade endotoxemia, gut permeability and platelet activation in patients with impaired fasting glucose*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2017;27:890–895. doi: 10.1016/j.numecd.2017.06.007.

Cibula D. Prediction of Insulin Sensitivity in Nonobese Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(12):5821-5825.

DeUgarte CM, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril*. 83; 1454–1460, 2005.

Diamanti-Kandarakis E, Christakou CD, Kandaraki E and Economou NF. Metformin: an old medication of new fashion: evolving new molecular mechanisms and clinical implications in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*. 162; 193–212, 2010.

Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Molecular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Trends in molecular medicine*. 2006;12(7):324-32.

Dunaif A, Finegood DT. Beta-cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 81; 942-947, 1996.

Dunaif a, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential

mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 1995;96(2):801-10.

Dunaif a. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocrine reviews*. 1997;18(6):774-800.

Erickson GF, Magoffin DA, Garzo VG, Cheung AP, Chang RJ. Granulosa cells of polycystic ovaries: are they normal or abnormal? *Hum. Reprod.* 7; 293–299, 1992.

Flora Bacopoulou, Vasiliki Efthymiou, Despoina Apostolaki, Christina Tsitsimpikou, Konstantinos Tsarouhas, Christina Darviri & Aimilia Mantzou. Serum Speksin Concentrations in Adolescent Females with Metabolic Syndrome, Polycystic Ovary Syndrome and Anorexia Nervosa. *ESPE Abstracts* (2018) 89 P-P2-134

Franks S, Gilling-Smith C, Watson H, Willis D. Insulin action in the normal and polycystic ovary. *Endocrinol Metab Clin. North Am.* 28; 361–378, 1999.

Fu- Tong Liu, Gabriel A. Rabinovich. Galektins: regulators of acute and chronic inflammation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 12 January 2010, <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05131.x>. Citations: 194

G. Anik Ilhan B. Yildizhan. spexin as a new metabolic biomarker in women with polycystic ovary syndrome. *Obstetrics and Gynecology, Reproductive Endocrinology and Infertility*, Marmara University, Istanbul, Turkey. volume 110, issue 4, supplement , e118, september 01, 2018

Generoso M, De Rosa M, De Rosa R, De Magistris L, Secondulfo M, et al. (2003) Cellobiose and lactulose coupled with mannitol and determined using ion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection, are reliable probes for investigation of intestinal permeability. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 783: 349–357.

Giuseppe Pugliese, Carla Iacobini, Carlo Ricci, Claudia Blasetti Fantauzzi, Stefano Menini. Galektin-3 in diabetic patients. *Clin Chem Lab Med.* 2014 Oct;52(10):1413-23. doi: 10.1515/cclm-2014-0187.

Giuseppe Pugliese, Carla Iacobini, Carlo M Pesce, Stefano Menini. Galektin-3: an emerging all-out player in metabolic disorders and their complications. *Glycobiology*. 2015 Feb;25(2):136-50.doi: 10.1093/glycob/cwu111. Epub 2014 Oct 9.

Goodarzi M, Dumesic D, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis: *Nat Rev Endocrinol*. 7; 219–231, 2011.

International Diabetes Federation (IDF) *IDF Diabetes Atlas*. 7 2015.

Jerka Dumic, Sanja Dabelic, Mirna Flögel. Galektin-3: an open-ended story. 10.1016/j.bbagen.2005.12.020.

Kiddy DS, Sharp PS, White DM, Scanlon MF, Mason HD, Bray CS, Polson DW, Reed MJ, Franks S. Differences in clinical and endocrine features between obese and non-obese subjects with polycystic ovary syndrome: an analysis of 263 consecutive cases. *Clinical endocrinology*. 1990;32(2):213-20.

Knight PG, Glister C. Local roles of TGF-beta superfamily members in the control of ovarian follicle development. *Anim Reprod Sci*. 78; 165–183, 2003.

Kopera D, Wehr E, Obermayer-Pietsch B. Endocrinology of hirsutism. *International journal of trichology*. 2010;2(1):30-5.

L. Gu, Y. Ma, M. Gu et al., “Speksin peptide is expressed in human endocrine and epithelial tissues and reduced after glucose load in type 2 diabetes,” *Peptides*, vol. 71, pp. 232–239, 2015.

L.C. Li, J. Li, J. Gao Functions of galektin-3 and its role in fibrotic diseases. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 351 (2014), pp. 336-343

Legro RS, Castracane VD, Kauffman RP. Detecting insulin resistance in polycystic ovary syndrome: purposes and pitfalls. *Obstetrical & gynecological survey*. 2004;59(2):141-54.

Liping Gu, Yuhang Ma, Mingyu Gu, Ying Zhang, Shuai Yan, Na Li, Yufan Wang, Xiaoying Ding, Jiajing Yin, Nengguang Fan, Yongde Peng. Speksin peptide is expressed in human endocrine and epithelial tissues and reduced after glucose load in type 2 diabetes. *Peptides*. 2015 Sep;71:232-9.

Mason HD, Willis DS, Beard RW, Winston RM, Margara R, Franks S. Estradiol production by granulosa cells of normal and polycystic ovaries: relationship to menstrual cycle history and concentrations of gonadotropins and sex steroids in follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab.* 79; 1355–1360, 1994.

Moggetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 85; 139–146, 2000.

Moreno-Navarrete JM, Sabater M, Ortega F, Ricart W, Fernández-Real JM (2012) Circulating Zonulin, a Marker of Intestinal Permeability, Is Increased in Association with Obesity-Associated Insulin Resistance. *Plos One* 7(5): e37160.

Newlaczyl AU, Yu LG. Galektin-3-a jack-of-all-trades in cancer. *Cancer Lett.* 2011;313:123–128. doi: 10.1016/j.canlet.2011.09.003.

Organization WH, Tareque MI, Koshio A, Tiedt AD, et al. Global Report on Diabetes. *Curr Med Res Opin.* 2014;56:1051–62.

Orio F. Jr, Palomba S, Cascella T, Di Biase S, Manguso F. The increase of leukocytes as a new putative marker of low grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in the polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004;10.1210:2004-0628

Ozturk D, Celik O, sold S et al (2015) relationship between Serum galectin-3 levels and plaque load / structure in patients with coronary atherosclerosis and type 2 diabetes mellitus. *Coronation Dis* 26 (5): 396-401

P. Gao, J.L. Simpson, J. Zhang, P.G. Gibson Galektin-3: its role in asthma and potential as an anti-inflammatory target. *Respir. Res*, 14 (2013), p. 136

P. Li, M. Lu, M.T. Nguyen, E.J. Bae, J. Chapman, D. Feng, M. Hawkins, J.E. Pessin, D.D. Sears, A.K. Nguyen, et al Functional heterogeneity of CD11c-positive adipose tissue macrophages in diet-induced obese mice *J. Biol. Chem.*, 285 (2010), pp. 15333-15345

Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, Mason H. Granulosa cell production of anti-Müllerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab.* 92; 240–245, 2007.

Porzionato A, Rucinski M, Macchi V, Stecco C, Malendowicz LK, De Caro R. Speksin expression in normal rat tissues. *J Histochem Cytochem.* 2010 Sep;58(9):825–37.

Rajkhowa M, Neary RH, Kumpatla P, Game FL, Jones PW, Obhrai MS, Clayton RN. Altered composition of high density lipoproteins in women with the polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1997;82(10):3389-94.

Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 19; 41-47, 2004.

Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Fertil Steril.* 81; 19-25, 2004.

Sam S, Legro RS, Bentley-Lewis R, Dunaif A. Dyslipidemia and metabolic syndrome in the sisters of women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2005;90(8):4797-802.

Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, Clemente MG, Tripathi A, et al. (2006) Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes* 55: 1443–1449.

Sonmez K, Zaveri NT, Kerman IA, Burke S, Neal CR, Xie X, Watson SJ, Toll L (2009) Evolutionary sequence modeling for discovery of peptide hormones. *PLoS Comput Biol* 5(1):e1000258

Teede H, Deeks a, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC medicine.* 2010;841.

Tsilchorozidou T, Overton C, Conway GS. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology*. 2004;60(1):1-17.

Wang W, Uzzau S, Goldblum SE, Fasano A (2000) Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *J Cell Sci* 113: 4435–4440.

Willis D, Mason H, Gilling-Smith C, Franks, S. Modulation by insulin of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone actions in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*. 81; 302–309, 1996.

Wiltgen D, Benedetto IG, Mastella LS, Spritzer PM. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Human reproduction* (Oxford, England). 2009;24(7):1726-31.

Yildiz BO, Bolour S, Woods K, Moore A, Azziz R. Visually scoring hirsutism. *Human reproduction update*. 2010;16(1):51-64.

Yilmaz H, Cakmak M, Inan O et al (2015) Increased levels of galektin-3 were associated with prediabetes and diabetes: new risk factor? *J Endocrinol Investig* 38(5):527–533

Żak-Gołąb A, Koce P, Aptekorz M, Zientara M, Juszczak Ł, Martirosian G, Chudek J, Olszanecka-Glinianowicz M. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:674106. doi: 10.1155/2013/674106.

Zhang D, Zhang L, Yue F, Zheng Y, Russell R (2015) Serum zonulin is elevated in women with polycystic ovary syndrome and correlates with insulin resistance and severity of anovulation. *Eur J Endocrinol* 172:29–36.

8. EKLER

EK 1. Etik Kurul İzni



T.C.
YOZGAT BÖZOK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı : 60174989-
Konu : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu.

03/01/2019

Sayın Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT,

Bozok Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na yapmış olduğunuz başvuru dosyası incelenmiş ve değerlendirme sonucu ekte sunulmuştur. Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. ~~Soykan DİNÇ~~
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı



T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 02.01.2019
TOPLANTI SAYISI : 01
DOSYA KAYIT NUMARASI : 2018-12-205
KARAR NUMARASI : 2017-KAEK-189_2019.01.02_14
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Kimyager Serkan CERİT – Biyolog Gülsen AKSU

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Muhammet Fevzi POLAT'ın sorumluluğunda yürütülecek olan **2018-12-205** kayıt numaralı "**PCOS Olan Hastalarda Zonulin, Galectin-3 ve Spexin Seviyelerinin Değerlendirilmesi ve İnsülin Direncini Belirlemede Etkinliklerinin Araştırılması**" başlıklı çalışma dosyası, "İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik", "İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu" ve "Bozok Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Yönergesi" ne göre değerlendirilmiştir. Çalışmanın etik ve bilimsel açıdan uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Soykan DİNC (Başkan)

Doç. Dr. Yavuz Selim İNTEPE (Üye)

Dr. Öğr. Ü. Ayça ÇAKMAK (Üye)

Dr. Öğr. Ü. Yunus KANTEKİN (Üye)

Dr. Öğr. Ü. M. Serdar BAŞÇIL (Üye)

Dr. Öğr. Ü. Levent ALBAYRAK (Üye)

Dr. Öğr. Ü. Mehmet HAMAMCI (Üye)

(İzinli)

Dr. Öğr. Ü. Gülhan GÜREL (Üye)

Dr. Öğr. Ü. Yaşar TURAN (Üye)

Dr. Öğr. Ü. Yunus HACIMUSALAR (Üye)

Uzm. Dr. Umut OTLU (Üye)

Av. Fatih DEMİRCİ (Üye)

Ziraat Yük. Müh. Harun ASLAN (Üye)

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Serkan CERİT

Doğum Tarihi ve Yeri : 09.09.1984/YOZGAT

Medeni Durumu : Evli

Telefon : 0 (544) 377 98 12

e-mail : ustan2@hotmail.com

Eğitim Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
---------------	---------------	------------------

Yüksek Lisans	Tıbbi biyokimya	Devam etmekte
---------------	-----------------	---------------

Lisans	Erciyes Üni. Kimya	2010
--------	--------------------	------

Lise	Yozgat Lisesi	2001
------	---------------	------

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-----	-----	-------

2011-2020	Bozok Üni. Tıbbi Mikrobiyoloji Lab.	Kimyager
-----------	-------------------------------------	----------

Yabancı Dil : İngilizce