



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**FİBROMİYALJİ HASTALARINDA ÖSTROJEN RESEPTÖR ALFA (ESR1) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ**

Hazırlayan

Habibe Sema ARSLAN

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Serbülent YİĞİT

TOKAT – 2014

**FİBROMİYALJİ HASTALARINDA ÖSTROJEN RESEPTÖR ALFA (ESR1)
GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ**

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: / /

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : *Yrd. Doç. Dr. Serdar İzzet Yılmaz*

[Signature]

Üye : *Yrd. Doç. Dr. Ayhan Küstenoğlu*

[Signature]

Üye : *Doç. Dr. Nevah Karakuş*

[Signature]

Üye :

.....

Üye :

.....

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../..... tarih ve sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü: *Doç. Dr. Hüner Arçer*



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.


(.../.../2014)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Habibe Sema ARSLAN

İmzası


.....

ÖNSÖZ

2 yıllık bir sürecin ve ortak bir emeğin ürünü olan bu çalışmada, teşekkür kısmı oldukça zorlayıcı, çünkü burada adını sayabildiğim ve sayamadığım birçok ismin payı var.

Hem yüksek lisans eğitimim, hem de tez sürecimde sabır ve anlayışla beni destekleyen, değerli hocam ve tez danışmanım **Yrd. Doç. Dr. Serbüent YİĞİT**'e, bu dönem içerisinde, bilimsel katkılarından dolayı **Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ** ve **Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ**'a, **Yrd. Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU**'na,

Bu süreçte güler yüzünü ve ilgisini hep hissettiğim, laboratuvar çalışmalarımdayardımları ile destek olan **Arş. Gör. Nihan BOZKURT**, **Arş. Gör. Saime SEZER**, **Arş. Gör. Emel ÖZSOY** ve **dönem arkadaşlarıma**,

Emeklerini, motive edici telkin ve samimiyetlerini her dem hissettiğim, asla unutamayacağım çok kıymetli dostlarım; **Yasin AL**, **Cansu KELEMCİ**, **Yıldırım ŞİMŞEK** ve **Gülay AKSU**'ya,

Tezin zorlu geçen araştırma ve yazım süreci boyunca dinlemekten asla bıkmadığım, aksine olumlu düşünüp daha çok yoğunlaşıp, hayata ve teze dört elle sarılmamı sağlayan Bozkır'ın tezenesi **Neşet ERTAŞ** ve türkülerine, büyük üstad **Cem KARACA**'ya, **Loreena McKENNİTT** ve **tüm eserlerine**,

Kendisi uzakta olmasına rağmen, hayal etmeyi bırakmadığım sürece yıldızların görüldüğü kadar uzak olmadığını öğreten, motivasyonumun düştüğü, ümitsizliğe kapıldığım ve yorulduğum zamanlarda enerjisini, anlayışını, karşılıksız sevgi ve ilgisiyle bana devam etme gücü veren, iyi dileklerini hep bir yürek mesafesinde tutan **Sn. Rıza Bora**'ya,

Son olarak; tek cümleye sığdıramayacağım kadar çok teşekkürü hayatıma sığdıran, bu günlere ulaşmamda hiç şüphesiz en büyük pay sahibi olan, her daim kocaman ve karşılıksız bir sevgi ile sevildiğimi bildiğim, varlıklarından her daim güç aldığım destek ve güvenlerini hep hissettiğim, kendimi dünyanın en şanslı insanı olarak görmemi sağlayan biricik aile bireylerim; evladı olmaktan gurur duyduğum babam **Servet ARSLAN**, annem **Figen ARSLAN**, kardeşlerim; **Edibali ARSLAN**, **Tuğrul ARSLAN**, **İlteriş ARSLAN** ve biricik canımın içi teyzem **Gülsüm KARAKUŞ**'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Habibe Sema ARSLAN

TOKAT -2014

ÖZET

FİBROMİYALJİ HASTALARINDA ÖSTROJEN RESEPTÖR ALFA (*ESR1*) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ

Fibromiyalji, yaygın vücut ağrısı, kronik yorgunluk, uyku bozukluğu, sabah tutukluğu gibi semptomlarla kendini gösteren multifaktöriyel bir sendromdur. Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte, tedavisinde ilaç ve ilaç dışı çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Fakat kalıtım modeli hala tam olarak belirlenmemiştir. Araştırmaya Amerikan Romatoloji Birliği ölçütlerine göre Fibromiyalji sendromu teşhisi konulmuş 100 hasta ve 119 sağlıklı birey alındı. Bu çalışmada östrojen reseptör 1 (*ESR1*) geninin, 397T>C ve 351A>G polimorfizmleri ve Fibromiyalji arasında bir ilişki olup olmadığının ortaya konulması amaçlandı. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi yöntemi uygulanarak *ESR1* geninin hasta ve kontrollerdeki genotipleri ve allel varyantlarının sıklığı araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Ki-kare analizi ile değerlendirildi. *ESR1* geni 397T>C polimorfizmi ile Fibromiyalji arasında allel ve genotip frekansı dağılımında anlamlı bir bağlantı olduğu görüldü ($p=0,02$). *ESR1* geni 351A>G polimorfizmi ile Fibromiyalji hastalığının hasta ve kontrol gruplarındaki bazı klinik ve demografik özellikler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler görüldü ($p=0,025$, $p=0,041$). Çalışma popülasyonunun genişletilmesi ve sonuçların birleştirilmesiyle polimorfik bölgelerin fibromiyaljiye yatkınlığı ile ilgili daha açıklayıcı sonuçlar elde edilebilir.

Anahtar Kelime: Fibromiyalji sendromu, *ESR1* geni, polimorfizm, ACR

ABSTRACT
ANALYSIS OF ESTROGEN RECEPTOR ALPHA (ESR1) GENE
POLYMORPHISMS IN FIBROMYALGIA

Fibromyalgia is a multifactorial syndrome which manifested itself by symptoms such as widespread pain, chronic fatigue, sleep disorder, morning stiffness. Although it does not have a precisely known etiology, a variety drug and non-drug methods are being used in treatment. But the pattern of inheritance has not been determined completely yet. A total of 119 healthy control and 100 patients with Fibromyalgia syndrome according to the American College of Rheumatology (ACR) criteria were included in the study. In this study, we aimed to investigate if there is any relation between 351A>G and 397T>C polymorphisms of estrogen receptor 1 (*ESR1*) and Fibromyalgia. We investigated the frequency of the *ESR1* genotypes and allelic variants of patients and controls using Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphisms methods. The obtained results were evaluated by Chi-square analysis. A significant association were found for allelic and genotypic frequency distributions between the *ESR1* 397T>C polymorphism and Fibromyalgia ($p=0.07$, OR: 1.67 CI, 1.14-2.46). Statistically significant links were found between *ESR1* gene 351A>G polymorphism and some clinical and demographic characteristics of patients and controls in Fibromyalgia. By enlarging the study population and combining these results, more explanatory results can be obtained about predisposition of these polymorphic sites to Fibromyalgia.

Key Words: Fibromyalgia syndrome, *ESR1* gene, polymorphism, ACR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME.....	i
TEŞEKKÜR.....	iii
İTHAF (ADAMA)	iii
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
KISALTMA ve SİMGE LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. FİBROMİYALJİ	3
2.1.1. Fibromiyalji Tarihçesi.....	3
2.1.2. Fibromiyalji Tanımı ve Klinik Görünümü	3
2.1.3. Fibromiyalji Epidemiyolojisi	9
2.1.4. Fibromiyalji Etiyolojisi	10
2.1.5. Fibromiyalji Patogenezi	11
2.1.5.1. Kas Çalışmaları.....	11
2.1.5.2. Uyku Bozukluğu	11
2.1.5.3. Nöroendokrin Bozukluklar	12
2.1.5.4. Genetik	12
2.1.6. Östrojen	13
2.1.6.1. Östrojen Reseptörleri	15
2.1.6.2. Östrojen Reseptör 1 Geni (ESR1).....	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	21
3.1. Çalışma Grubu	21
3.2. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler	22
3.2.1. Alet ve Cihazlar	22
3.2.2. Kimyasal Maddeler.....	23

3.2.3. Çözeltiler.....	23
3.3. Yöntem.....	24
3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu	24
3.3.2. DNA'nın Kalitatif Tayini.....	24
3.3.3. DNA'nın Kantitatif Tayini.....	25
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği	25
3.5. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizi	26
3.6. Elektroforez Tekniği	26
3.7. ESR1 Gen Polimorfizmlerinin Analizi	27
3.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun (PZR) Analizi	27
3.7.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi'nin (RFLP) Analizi	30
3.8. İstatistiksel Yöntemler	31
4. BULGULAR.....	32
4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizleri	32
4.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizleri	33
4.3. İstatistiksel Analiz Bulguları	35
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	43
6. KAYNAKÇA.....	47
7. ÖZGEÇMİŞ	58

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1:	FMS Tanı Kriterleri.....	6
Tablo 2.2:	FMS’li hastalarında görülen semptomlar ve yüzdeleri	8
Tablo 2.3:	<i>ESRI</i> Geninin Özellikleri	17
Tablo 3.1:	Hastaların ve kontrol grubundaki bireylerin araştırmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri	21
Tablo 3.2:	<i>ESRI</i> geni 397T>C ve 351A>G bölgelerindeki polimorfizmlerinin analizinde kullanılan primerler.....	27
Tablo 3.3:	<i>ESRI</i> Genine ait baz dizisi	28
Tablo 3.4:	<i>ESRI</i> geni 397T>C ve 351A>G bölgelerindeki polimorfizmlerinin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı	30
Tablo 3.5:	<i>ESRI</i> geni 397T>C ve 351A>G bölgelerindeki polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan PZR programı	30
Tablo 3.6:	<i>ESRI</i> geni 397T>C bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları	31
Tablo 3.7:	<i>ESRI</i> geni 351A>G bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları	31
Tablo 4.1:	Çalışmaya dahil edilen FMS’li hasta ve kontrol grubundaki bireylerin cinsiyet ve yaş ortalamalarına ait istatistik bulgular	32
Tablo 4.2:	Hasta ve kontrol gruplarında <i>ESRI</i> geni polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıkları	36
Tablo 4.3:	FMS’li hasta grubunun <i>ESRI</i> geni 397T>C Polimorfizmi açısından yaş, boy, kilo ve BMI kriterlerine göre genotip dağılımı	37
Tablo 4.4:	FMS’li hasta grubunun <i>ESRI</i> geni 351A>G Polimorfizmi açısından yaş, boy, kilo ve BMI kriterlerine göre genotip dağılımı.....	38
Tablo 4.5:	<i>ESRI</i> geni 397T>C Polimorfizmine göre hastaların klinik ve demografik özellikleri	39
Tablo 4.6:	<i>ESRI</i> geni 351A>G Polimorfizmine göre hastaların klinik ve demografik özellikleri	41

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1:	FMS’de görülen 18 hassas nokta.....	6
Şekil 2.2:	FMS döngüsü	8
Şekil 2.3:	Östriol. D halkasına (en sağdaki) bağlı iki –OH grubu.....	14
Şekil 2.4:	Östrodiol. D halkasına (en sağdaki halka) bir –OH grubu	14
Şekil 2.5:	Östron. D halkasına (en sağdaki halka) bir keton grubu bağlı ..	14
Şekil 2.6:	<i>ESR1</i> ve <i>ESR2</i> Yapısı	17
Şekil 2.7:	<i>ESR1</i> Gen Yapısı ve Polimorfik bölgeleri	19
Şekil 4.1:	<i>ESR1</i> geni 397T>C ve 351A>G polimorfik bölgelerinin PZR ürünlerinin % 2’lik agaroz jeldeki görünümü.....	33
Şekil 4.2:	<i>ESR1</i> geninin 397T>C polimorfik bölgelerinin PZR ürünlerinin %3’lük agaroz jeldeki görünümü.....	34
Şekil 4.3:	<i>ESR1</i> geninin 351A>G polimorfik bölgelerinin PZR ürünlerinin % 3’lük agaroz jeldeki görünümü.....	35

KISALTMA VE SİMGE LİSTESİ

A	:	Absorbsiyon
ACR	:	Amerikan Romatoloji Birliği (The American College of Rheumatology)
AF	:	Atriyal Fibrilasyon
Asetil CoA	:	Asetil koenzim A
Bç	:	Baz Çifti
BMI	:	Vücut Kitle İndeksi (Body Mass Index)
°C	:	Santigrad Derece
C	:	Karbon
cDNA	:	Tamamlayıcı DNA
cm	:	Santimetre
DBD	:	Dna Bağlanma Bölgesi
dk	:	Dakika
DNA	:	DeoksiriboNükleik Asit
dNTP	:	Deoksinükleotid Trifosfatlar
EDTA	:	Etilendiamintetra Asetik Asit
EMG	:	Kas Akım Grafiđi (Electromyographie)
EtBr	:	Ethidium Bromid
ESR1	:	Östrojen Reseptör 1
FMS	:	Fibromiyalji Sendromu
FSH	:	Folikül Uyarıcı Hormon (Follice Stimulating Hormone)
g	:	Gram
HCl	:	Hidroklorik Asit
HDL	:	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (High Density lipoproteins)
HIV	:	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virusü (Human Immunodeficiency Virus)
HPA	:	Hipotalamo-pirüiter-adrenal aks
5-HTTLPR	:	5-hidroksitriptamin Transporter Gen Regülatörü
kb	:	Kilo Baz
kDa	:	Kilo Dalton
kg	:	Kilo Gram

LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density lipoproteins)
M	:	Marker
mg	:	Miligram
MgCl₂	:	Magnezyum Klorür
µl	:	Mikrolitre
mM	:	Milimolar
ml	:	Mililitre
NaOH	:	Sodyum Hikroksit
nm	:	Nanometre
OD	:	Optik Yoğunluk (Optic Density)
PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Pmol	:	Pikomol
RFLP	:	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
RNA	:	Ribonükleik Asit
SHBG	:	Seks Hormonları Bağlayıcı Protein (Sex Hormone Binding Globulin)
Sn	:	Saniye
SNP	:	Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single-Nucleotid Polymorphism)
STR	:	Kısa Ardışık Tekrarlar (Short Tandem Repeat)
TBE	:	Tris Borat Edta
UV	:	Ultraviyole Işık
V	:	Volt
VNTR	:	Değişken Sayıda Ardışık Tekrarlar (Variable Number of Tandem Repeat)
χ²	:	Ki-kare Analizi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fibromiyalji, yaygın vücut ağrısı gibi önemli bir semptomla sahip çok yönlü polisemptomik bir sendromdur. Bununla birlikte, bu hastalık; ağrı hissi, kronik yorgunluk, uyku bozuklukları, sabah tutukluğu, ekstremitelerde parestezi, ödem hissi, bilişsel bozukluklar, depresyon, anksiyete, miyofasiyal ağrı, irritabl barsak sendromu ve spesifik olmayan üretral sendromlar gibi diğer semptomlara da sahiptir.

Fibromiyalji yaygın ama tartışmalı bir hastalık olmasının yanı sıra, tanımı ve içeriği, varlığındaki 110 yıl içinde defalarca değişmiştir. Fakat psikokültürel bir hastalık yerine Fibromiyalji'nin "gerçek hastalık" olarak durumu, hasta ve meslek kuruluşları, ilaç firmaları, yasal ve akademik toplumlar gibi sosyal güçler tarafından desteklenmiştir [1]. İlk kez Hench tarafından 1976 yılında "Fibromiyalji" terimini kullanmıştır. 1990 senesinde Amerikan Romatoloji Birliği (The American College of Rheumatology-ACR) tarafından konulan tanı kriterleriyle Fibromiyalji bir sendrom olarak ifade edilmiştir. Osteoartrit ve Romatoid Artrit (RA)'dan sonra en sık karşılaşılan romatizmal hastalıktır. Etiyolojisi ve patogenezi hakkında çok az şey bilinmektedir. Bugüne kadar, kabul edilen kesin etkili bir tedavisi yoktur.

Östrojen, hem kadın hem de erkekte bulunan steroid karakterli bir hormondur. Üreme dönemindeki kadınlarda miktarı oldukça yüksek olup, göğüs gibi sekonder cinsiyet özelliklerin gelişimi, endometrium kalınlaşması ve diğer süreçleri düzenlemekle mükelleftir. 3 ana tipi vardır. Östrojen reseptörleri aktif hale geldiğinde, transkripsiyon faktörleri şeklinde iş görür. Östrojen reseptör 1 (*ESR1*) geni, transkripsiyon aktivasyonu, DNA ve hormon bağlama için önemli olan birkaç etkiyle meydana gelen ligand aktiviteli transkripsiyon faktörü olan östrojen reseptörünü kodlar. Östrojen ve reseptörleri, cinsel gelişim ve üreme fonksiyonu için esansiyeldir. Bunlara ek olarak, kemik gibi başka dokularda da rol oynamaktadır. Ayrıca, bu reseptörler; meme, endometrial kanserleri gibi patolojik süreçler ve osteoporoz ile ilgilidir. *ESR1* geni, 6. kromozomun q25.1 bölgesinde yerleşiktir. Gen 8 ekzondan, 7 introndan oluşur ve uzunluğu 140 kb'dan daha büyüktür. Kodlama bölgesi 1785 nükleotidlik uzunluğa sahiptir ve kütle bakımından 66 kDa'luk 595 amino asitli bir protein oluşturur [2].

ESR1 geninin, intron 1 397T>C polimorfizm bölgesi, aynı zamanda bir transkripsiyon faktörü olan Myeloblastosis (*myb*)'nin tanıma noktasıdır. Bu polimorfizm (C alleli) *myb* transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkiler ve haliyle transkripsiyonun azalmasını neden olurken, T alleli transkripsiyonun artmasını sağlar. Böylece *ESR1* geninin kodladığı protein miktarı artar [3].

ESR1 gen polimorfizminin, Dismenore ve Vitiligo hastalığıyla ilgili olabileceği ileri sürülmüştür [2-4]. *ESR1* ve *ESR2* gen varyantlarının, menopoz sonrası kadınlarda, belirli anksiyete bozuklukları ile ilişkili olabileceği ortaya konmuştur [5]. Ayrıca, Erin ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir yayında ise *ESR1* gen polimorfizmlerinin kadınlarda bilişsel bozukluklarla, çocuklarda uyku durum bozukluklarıyla ve premenstrual kadınlarda disforik bozukluklarla anlamlı ilişkili olduğu vurgulanmıştır [6]. Bununla birlikte, Türk ve Dünya literatürü taramamızın sonucunda Fibromiyalji ile *ESR1* geni polimorfizmlerinin ilişkisini açıklamaya yönelik hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızdaki amaç; Fibromiyalji ile *ESR1* geni 351A>G ve 397T>C polimorfizmleri arasında çalışmamıza dahil olan Tokat ve çevresi popülasyonunda, ilişkisinin olup olmadığını araştırmak ve bu polimorfizminlerin hastalığa etkisini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. FİBROMİYALJİ

2.1.1 *Fibromiyalji Tarihçesi*

Fibromiyalji sendromu (FMS), kronik ve işten alıkoyan ağrılara sebebiyet veren klinik bir tablodur. İngiliz bilim insanı William Gowers tarafından 1904'te ilk defa "fibrositis" terimi kullanılmıştır. Bu terim, fibröz dokularda ağrı ve kas romatizmasına yol açan inflamasyonu belirtmektedir. Modern FMS'nin temeli 1972 yılında, Smythe'nin yaygın ağrı ve hassas noktaları açıklayan çalışmasıyla belirlenmiştir. 1975 yılında ilk uyku elektroensefalogram araştırması yapılmıştır. İlk kez Fibromiyalji terimi 1976 yılında Hench tarafından ortaya atılmış ve daha sonra yapılan kas biopsilerinde herhangi bir inflamasyonun olmaması nedeniyle bu sorunun sadece bir kas ağrısı olduğu kanaati oluşmuş ve bu isimle anılmaya devam etmiştir [7].

Smythe ve Moldofsky, 1970'lerdeki araştırmalarında, yeni bir terim olan FMS'nin bağ dokusu inflamasyonundan daha çok kas ağrısı rahatsızlığı şeklinde daha gerçekçi adımlarla tanı kriterlerini netleştirmişlerdir [8]. Bilinen belirtiler ve hassas nokta doğrulama ile ilk kontrollü klinik çalışma 1981 yılında yayınlanmıştır. Yine aynı çalışmada ilk veri tabanlı kriterler de önerilmiştir [9].

FMS, uzun zaman önce bir hastalık olarak kabul edilse de son 30 yıldır ciddi şekilde incelenmeye başlanmıştır. 2004 yılında, Brezilya Romatoloji Derneği, bu sendromun tanısı ve tedavisinde rehberlik amacı ile ilk tanı kriterleri kılavuzunu yayınlamıştır [10]. 1990 yılında, The American College of Rheumatology tarafından konulan kriterlerle birlikte Fibromiyalji sendrom olarak tanımlanmıştır.

2.1.2. *Fibromiyalji Tanımı ve Klinik Görünümü*

Bellek, düşünce ve genellikle psikolojik sıkıntı sorunları dahil olmak üzere tıbbi belirtileri genel bir artışla birlikte, yaygın şekilde ağrı, uyku bozukluğu ve yorgunlukla karakterize edilen bir sendromdur.

Bir çeşit yumuşak doku romatizması olan Fibromiyalji Latince kaynaklı olup; fibro (konnektif doku), miyo (kas) ve aljia (ağrı durumu) anlamına gelmektedir [11].

FMS'li hastalarda, kronik baş ve kas ağrısının yanı sıra, depresyon, anksiyete, irritabl barsak ve mesane sorunu, kronik yorgunluk, huzursuz bacak sendromu, migren benzeri baş ağrıları (%28-58), kronik tansiyon, sabahları dinlendirici olmayan uyku yorgunluğu (%60-90), dismenore, parestezi, Raynaud Fenomeni (%30), göğüs ağrıları, vücut uyuşukluğu ve şişkinliği gibi semptomlar da sıklıkla görülmektedir [12-14].

FMS'nin orjini tam olarak bilinmemektedir. Hastalığın etiopatogenezi hakkında birkaç teori ileri sürülmüş olsa da, kimse tam olarak açıklayamamıştır. FMS'li hastalarda sıklıkla uyku anomalilerin klinik semptomları belirtilmiş olup bu hastalar üzerinde yapılan uyku elektrosefalografi çalışmalarında N-rem uyku evresinde nitel ve nicel bozukluklar görülmüştür. Aynı zamanda yine bu çalışma da FMS için yapılan fizyopatolojik değişimleri tanımlanmıştır [15].

FMS sık sık kendisiyle beraber oluşabilecek miyofasyal ağrı sendromu, polimiyaljiya romatika, polimiyosit, hipotiroidizm, metastatik karsinom, romatoid artrit (RA), juvenil romatoid artrit, kronik yorgunluk sendromu ya da sistemik lupus eritematosus ile karıştırılır ve yanlış teşhis koyulur [13].

Osteoartrit ve RA'dan sonra en sık görülen romatizmal hastalık olan FMS için başlangıç yaşı 29-37 yaşları arasında olsa da, tıbbi sunum (formal tanı) için yaş aralığı 34-53 yaşlarıdır [14].

Amerika Birleşik Devletleri'nde 3-6 milyonda bir kişide FMS belirtileri görülebilmekte, Romatoloji araştırmalarındaki hastaların yaklaşık % 15-20'si (kadınların % 90'ını) de yine bu hastalığa yakalanmaktadır [16].

FMS'de klinik semptomlar, biyolojik, psikolojik ve bilişsel faktörlerin farklılığı gibi bir takım nedenlerden ötürü bu hastalığı alt gruplara ayrılması konusunda taraflar toplanmış olsa da, temelde primer ve sekonder olmak üzere 2 ana alt gruba ayrılmaktadır. Lakin primer FMS için daha ayrıntılı sınıflandırmalar da ortaya konulmuştur. Bunlardan ilki, Thime ve arkadaşlarına ait olan çalışmada, 150 FMS'li hasta 3 çeşit psikososyal alt gruba ayrılmıştır. Birinci grup hastalar disfonksiyonel olup anksiyete ana sorundur. İkinci grupta psikiyatrik sorunları olan hastalardır. Üçüncü grupta psikiyatrik sorunları olmayan hastalar mevcuttur [17].

Daha önceki teşebbüsler tamamen psikolojik ve bilişsel özelliklere dayalı olsada, ikinci araştırmanın sahibi Giesecke ve arkadaşları bu özelliklerin yanı sıra, nörobiyolojik hiperaljezi/ hassasiyet derecesini de ek bir kriter olarak eklemiştir.

Keza, benzer bir alt grup ayrımı söz konusu olmuştur. Birinci grup hastalarda hassas noktalarda belirgin olarak artmış hassasiyet vardır fakat psikiyatrik sorun görülmemiştir. İkinci grupta orta derecede hassasiyet artışı ve hafif psikiyatrik bozukluk mevcuttur. Üçüncü grup hastalarda depresif ve kognitif değişikliklerin belirgin olduğu psikiyatrik sorunlar görülmüştür [18].

1990 yılı öncesinde, FMS tanısı ayırıcı ve öznel verilere dayanırken, sistematik bir şekilde bu sendromu kendine özgü bir tanı olarak tanımlamak için, II. Myofasyal Ağrı ve Fibromiyalji Dünya Kongresi'nde Kopenhag Deklarasyonu'nda biraraya gelinmiştir [19].

Günümüze kadar çeşitli FMS kriterleri ortaya atılmış olmasına rağmen, 1990 senesinde bir araya gelen Amerikan Romatoloji Birliği, toplam 558 kişiyi (293 FMS'li, 265 kontrol hasta), içeren araştırmasında, %88 hassasiyet ve %81 özgünlük sağlayan FMS sınıflandırma ve tanı kriterlerine hüküm vermiştir. Amerikan Romatoloji Birliği (American College of Rheumatology- ACR) 1990 yılında FMS'in sınıflandırılması için 2 temel ölçüt kabul etmiştir.

- Vücudun alt ve üst bölümünde, sağ ve sol yarısında en az 3 aydır devam eden yaygın ağrı ve hassasiyet,
 - 18 hassas noktanın en az 11'inde palpasyonla hassasiyet,
- FMS tanısı için yukarıdaki 2 kriterin birden bulunması lazımdır. Şekil 2.1.'de 18 hassas nokta ve Tablo 2.1.'de FMS tanı kriterleri gösterilmektedir. Bu iki kriter dışında farklı bir rahatsızlığın mevcudiyeti FMS'i ekarte etmez [20].



Şekil 2.1. FMS’de görülen 18 hassas nokta*

* (The Three Graces, afer Baron Jean- Baptise Regnault, 1973, Louvre Museum, Paris; Akt Wolfe ve ark., 1990) alınmıştır [20].

Tablo 2.1. FMS Tanı Kriterleri

1. Yaygın ağrı öyküsü
Tanım: Ağrının yaygın kabul edilmesi için vücudun sağ ve sol tarafında, belin üzerinde ve altında olması gerekmektedir. Ek olarak, boyun, göğüs ön duvarı, torakal veya lomber ağrısı gibi aksiyel ağrısı olmalıdır.
2. Parmakla palpasyonda 18 bilinen hassas noktanın 11’de ağrı
Tanım: Parmakla palpasyonla aşağıdaki 18 hassas noktanın en az 11 inde ağrı bulunmalıdır:

Oksiput:	Bilateral, subokspital kas insersiyonlarında.
Alt servikal:	Bilateral, C5- C7 intertransvers aralığın önünde.
Trapez:	Bilateral, üst sınırın orta noktasında.
Supraspinatus:	Bilateral, origolarda, spina skapula üzerinde, spina iç kenarına yakın.
İkinci Kosta:	Bilateral, ikinci kostokondral bileşkede, bileşkenin üst yüzeyinin hemen lateralinde.
Lateral epikondil:	Bilateral, epikondillerin 2cm. distalinde.
Gluteal:	Bilateral, kasın ön kıvrımında kalça üst dış kadranda.
Büyük Trokanter:	Bilateral, trokanterik çıkıntının posteriorunda.
Diz:	Bilateral, medial yağ yastıkçığında eklem çizgisi proksimalinde.

Dijital palpasyon, yaklaşık 4 kg bir güç uygulanarak yapılmalıdır. Bir noktanın ağrılı sayılması için hasta palpasyonun ağrılı olduğunu söylemelidir. “Hassas” ifadesi, “ağrılı” olarak kabul edilmez.

Sınıflandırma amacıyla, her iki kriteri de karşılayan hastalar FMS olarak kabul edilir. Yaygın ağrı en az 3 ay süreli olanıdır. İkinci bir klinik bozukluğun varlığı, FMS tanısını ekarte ettirmemektedir [21].

FİBROMİYALJİ DÖNGÜSÜ



Şekil 2.2. FMS döngüsü [22]

Şekil 2.2.'de polisemptomik bir hastalık olan FMS'i tetikleyen faktörlerin birbiriyle olan ilişkisi gösterilmektedir. Tablo 2.2.'de Türkyılmaz ve arkadaşları (2012), 37 FMS'li ve 31 sağlıklı kadın içeren, FMS'e sahip hastaların yaşam kalitesini ve klinik özelliklerini tespit etmek amacıyla yürüttükleri çalışmadan elde edilen sonuçlar yer almaktadır [23].

Tablo 2.2. FMS'li hastalarda görülen semptomlar ve yüzdeleri

Semtomlar	%
Uyku rahatsızlıkları	% 86,5
Yorgunluk	% 94,6
Sabah tutukluğu	% 81,1
Baş ağrısı	% 83,8
Baş dönmesi/ Sersemlik	% 64,9
Üretra sendromu	% 54,1
Dismenore	% 75,7
Parestezi	% 78,4

Nefes darlığı	% 51,4
Anksiyete	% 86,5
Depresyon	% 67,6
İrritabl barsak sendromu	% 73
Sika sendromu	% 62,2
Reynaud fenomeni	% 54,1
Öznel şişlik hissi	% 51,4

2.1.3. Fibromiyalji Epidemiyolojisi

FMS, yetişkin insanlarda %2 oranında prevalansa sahipken, kadınlarda erkeklere göre ve diğer ırklara kıyasla beyaz ırkda görülme sıklığı daha yüksektir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte 60 yaş üzeri kadınlarda %7'lere kadar ulaşmaktadır. Aynı zamanda kadın olmak, düşük eğitim ve gelir düzeyine sahip olmak, boşanmış olmak, FMS için önde gelen risk faktörleridir [24,13].

Dönmez ve Erdoğan, ACR kriterleriyle, Amerika Wichita Kansas'ta yürütülen epidemiyolojik bir çalışmayı, FMS'nin yetişkin toplumda görülme sıklığı %2 (kadınlarda % 3,5, erkeklerde % 0,5) şeklinde rapor etmiştir. Ülkemizde, her sene yaklaşık 100,000 kişiye FMS tanısı konulmakta ve bu rahatsızlığın doktorlar tarafından daha iyi anlaşılmasıyla bu sayı giderek artmaktadır. Türkiye'de yapılan bir başka araştırmada 20-64 yaş aralığındaki kadınlarda, dünya geneline benzer bir prevalans % 3,6 görülmüştür [13].

Bazı bilim insanlarına göre, erkeklerde hassas nokta sayısı daha azdır ve bu yüzden tanı koyulma oranı daha düşüktür. Goldenberg ve arkadaşlarının 1995 yılındaki araştırmasında, kadın-erkek toplam 332 FMS'li hastada semptom ve hastalık şiddeti ile ilgili bir fark bulunamamıştır. Bir başka çalışmada FMS'li 40 erkek hasta ile kadın, yaş ve eğitim düzeyleri bakımından eşleştirilmiştir. FMS, erkeklerde nadir görülmesine rağmen, kadınlara göre düşük fiziksel fonksiyon ve yaşam kalitesi gibi daha şiddetli belirtiler rapor edilmiştir [25-26].

Yunus ve arkadaşları ise, yaşları 17 veya daha küçük olan 33 primer FMS'li hastayı cinsiyet ve yaş yönünden eşleştirdiği kontrol grubuyla yaptığı çalışmada kızların daha fazla yatkınlık gösterdiğini ve tıpkı yetişkin FMS'li hastalardaki gibi uyku bozukluğu, anksiyete, baş ağrısı vb. semptomların varlığını vurgulamıştır [27].

Ayrıca, Durmaz ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınladığı çalışmaya göre, 1109 okul çağı yaşındaki çocuklardan, 13 erkek, 48 kız olmak üzere toplam 61 (%5,5) çocuk hasta Juvenil Fibromiyalji Sendromu kriterlerini karşılamaktadır [28]. Yine Yunus ve arkadaşlarına ait bir başka çalışmada, 60 yaş ve üstü yaş aralığına sahip 31 FMS'li hasta ile 63 genç hasta karşılaştırılmış ve uyku sorunundan yaşlı hastaların daha fazla etkilenmesi dışında önemli bir farklılık saptanmamıştır [29].

2.1.4. Fibromiyalji Etiyolojisi

Fibromiyalji hastalığının etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Fakat bazı enfeksiyonlar, gribe benzer hastalık, HIV enfeksiyonu, paryovirüs enfeksiyonu, hepatit, persistan stres, kronik uyku bozukluğu, fiziksel ve duygusal travmaların FMS ile ilişkisi olduğu ileri sürülmektedir [13,30].

Arnold LM ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, FMS'li hastaların birinci derece akrabalarında, bu sendromun sıklığı 8 kat daha fazla görülmüştür. Böylece, ailevi birikimle genetik geçiş olabileceği kanısına varılmıştır [30].

Marinus ve arkadaşlarının 2006 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, boyun travması geçirenlerin alt ekstremitte kırığı geçirenlere oranla bir yılda 13 kez daha fazla FMS semptomları belirlenmiştir [31].

FMS'in ortaya çıkış nedenini sorguladığımızda yaşam kalitesini ciddi bir şekilde bozan psikolojik stresin kronik ağırlı sendromları harekete geçirdiğini görürüz. Psikolojik stres baş gösterdiği zaman FMS'deki hassas noktalar hemen harekete geçer ve bu uyarıcıya tepki verir. Bu sendromların ortaya çıkmasında ciddi bir ebeveyn desteğinin yoksunluğunun yanında kişinin çocukluk döneminde yanlış deneyimler edinmesi de ayrıca etkindir. Özellikle yoğun strese yatkın kişilerde savaş gibi olumsuz durumlar FMS'yi tetikleyen en önemli tetikleyicidir [13].

2.1.5. Fibromiyalji Patogenezi

1869 yılında Beard'ın yaptığı bir araştırmada, somatik yakınmaların fazla fakat fiziksel bulguların daha az olduğu bir rahatsızlık şeklinde nevrasteni tanımıyla, FMS'i tanımlamaya çalışmıştır. Patogeneizde kasa dair sebepler, uyku bozuklukları, nöropeptit değişiklikleri gibi çeşitli teoriler ileri atılmış olsa da, kesinlik sağlayamamıştır. Bu teorilere göz atacak olursak, [32]

2.1.5.1. Kas Çalışmaları

FMS'de başlıca belirti kas-iskelet ağrısı olsa da, kaslarda inflamasyona işaret eden bir bulguya rastlanılmamıştır. FMS'de ağrı kaynağının periferik olduğunu gösteren kaslarla ilgili özellikler ve bulgular aşağıdaki gibidir.

- Hastaların ağrılı bölgeyi göstermesi,
- Egzersizden tipik olarak 24 saat sonra ağrıda artma,
- Epidural blokla ağrıda azalma,
- Karakteristik miyaljik odakların (duyarlı noktalar) bulunması,
- Yüksek enerjili fosfat düzeylerinde fokal azalmalar,
- Tetik nokta enjeksiyonu sonrası bölgesel ağrıda azalma,
- Duyarlı nokta bölgelerinde kas oksijenasyonunun fokal olarak bozulması,
- Duyarlı nokta bölgelerinde iğne EMG aktivitesinde artma saptanmasıdır [33].

2.1.5.2. Uyku Bozukluğu

1975 yılında Moldofsky ve arkadaşları, FMS'li hastaların non-REM uyku evresinde, normalde var olan delta dalgalarına ek olarak alfa dalgalarının da varlığını belirlemiştir. Fakat bu bulgu, FMS'li hastaların bütününe kapsamamaktadır. Non-REM uyku bozukluğu hem FMS'li hastalarda hem de kronik ağrılı hastalarda da görülmüştür. Growth hormon eksikliği olan bir kısım FMS'li hasta için, non-REM uyku bozukluğu, hormonun bu evrede salgılanmasından ötürü sorun teşkil etmiştir [34].

2.1.5.3. Nöroendokrin Bozukluklar

FMS'li hastaların %30 kadarında deksametazon testinde anormallik ve 24 saatlik idrarda serbest kortizol miktarında düşüklük, plazma kortizol diüurnal ritminde bozulma, akşamları kortizol düzeyinde görece yükseklik gibi hipotalamo-pirüiter- adrenal aks (HPA) fonksiyonu bozuklukları belirlenmiştir. FMS'li hastalarında sempatik hiperaktivite, parasempatik hipoaktivite gibi otonom sinir sistemi bozuklukları görülmesine karşın, bu durum kronik ağrılı hastaların çoğunda belirlenmiştir [13,35].

2.1.5.4. Genetik

Fibromiyalji sendromuna sahip hastaların aile bireylerinin bir ya da daha fazlası beklenenden daha sık bu hastalığa yatkınlık göstermiştir. Köseoğlu ve arkadaşlarının araştırmasına göre, FMS'nin etiyopatogenezinde hastalarda kalıtım çeşidi tam olarak belirlenemesede, poligenik olabileceğini düşündüren yüksek seviyede ailevi yığılma görülmüştür. FMS etiyolojisi ile bağlantılı olduğu düşünülen serotoninerjik, dopaminerjik ve katekolaminerjik sistemler ile Substans P reseptör gen polimorfizm çalışmaları kanıt olarak sunulmuştur [36].

Ayrıca, serotonin taşıyıcı gen (5-HTTLPR) promotör bölgenin genotiplerini analiz etmek amacıyla yapılan bir başka araştırmanın sonucunda, 5-HTTLPR'in FMS'li hastalar için L/L genotip sıklığı %27, L/S genotip sıklığı %42, S/S genotip sıklığı %31'dir. Sağlıklı kontrollerde ise L/L genotip sıklığı %34, L/S genotip sıklığı %50, S/S genotip sıklığı %16'dır. S/S genotip sıklığının, FMS'li hastalarda daha yüksek bir orana sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçla birlikte, FMS hastalarının en azından bir alt grubunda, depresyon, gerginlik hali ile ilişkili olabileceği ve değişmiş serotonin metabolizmasını taşıdığı görüşü ileri sürülmüştür [37].

Gürsoy ve arkadaşlarına ait bir araştırmada, serotonerjik disfonksiyonun, FMS patofizyolojisinde etkisi olabileceği öne görülmüştür ve FMS' de 5-HT2A reseptör genindeki T102C polimorfizmi araştırılmıştır. FMS etiyolojisi ile anlamlı bir sonuca varılmasa da psikiyatrik semptomların sorumlu olabileceği kanısına varılmıştır [38]. Doku uygunluk antijenleri HLA (Human Leukocyte Antigens) ile FMS arasında zayıf bir bağ olduğu tespit edilmiştir [39].

Buskila ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, FMS'li hastalarda D4 reseptör geni eksonIII 7 tekrar allel sıklığında önemli bir düşüş rapor edilmiştir. Ayrıca FMS'li hastalarda değişikliğe uğramış Dopamin D2 reseptör fonksiyonu gözlemlenmiştir. Çevresel faktörler (mekanik ve duygusal travma) genetik olarak FMS'ye yatkınlık gösteren bireylerde, bu hastalığı tetikleyebilir [40].

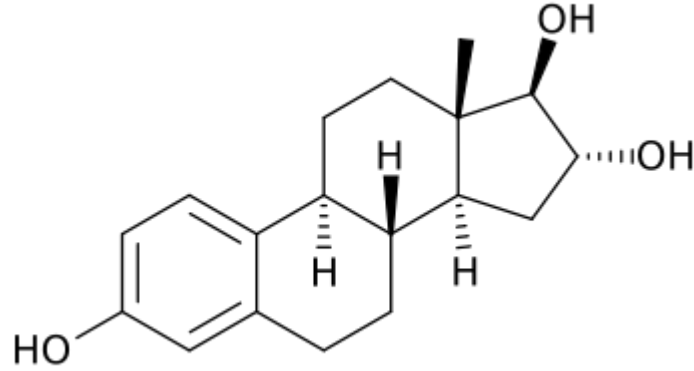
2.1.6. Östrojen

Hormonlar, hayatımızı kontrol eden kimyasal habercilerdir. Hayati öneme sahip hormanlardan bir tanesi olan östrojenler primer olarak overlerde Graaf folikülün granüloza hücrelerinde salgılanmaktadır. Hem kadın, hem de erkek bireylerde bulunmasına rağmen, üreme dönemindeki kadınlarda seviyeleri çok daha yüksektir. Östrojenler, 18 C'lu steroidler olup, sentezi Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) ve Lüteinize edici Hormon (LH) tarafından kontrol edilir. Bu hormonlar, yüksek oranda kolesterolden, ve Asetil-KoA (CoA)'dan da sentezlenir. Adrenal bezde sentezlenen androstenedion, periferde östrojenlere dönüşür. Aslında önce progesteron ve testosteron salgılanır ve sonra granüloza hücrelerinde testosteronun tümü ve progesteronun çoğu östrojenlere dönüşür. Östrojen ve progesteron overlerden dögüsel bir şekilde salınır ve menstrüel döngünün ilk yarısında östrojen salgısı hakimdir.

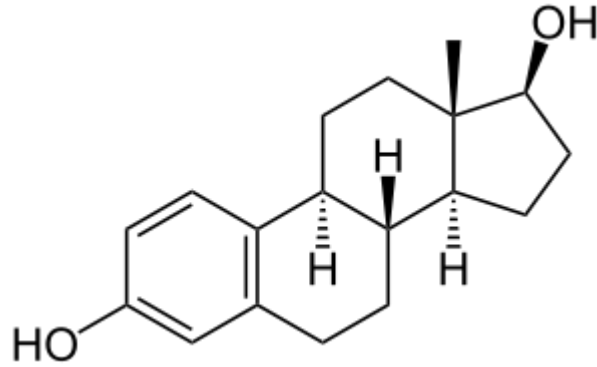
Kimyasal olarak farklı formları mevcuttur. 3 çeşit östrojen bulunmaktadır. En güçlü östrojen hormonu, östrodioldür (estradiol-17 β). 3 numaralı karbondan bir -OH grubu içeren, fenolik özellikte, A halkası aromatik, gravimetrik etki gücü en yüksek olan doğal bir östrojendir. Aynı zamanda fizyolojik açıdan en aktif formdur.

Östrodiol, periferde 17 β - hidrosisteroid dehidrogenaz enzimi ile kısmen ikinci bir hormon çeşidi olan östrona çevrilir. Etki güçlerini kıyaslayacak olursak, östrodiol > östron > östriol'dür. Östrodiol; östronun 12, östriolün 80 katı kadar östrojen etkiye sahiptir. Vücutta bunlar enzim reaksiyonları sonucu androjenlerden salgılanır. Östradiol testosterondan, östron da androstenedion'dan sentezlenir. Östron, östradiolden daha zayıf etkilidir ve menopoza sonrası kadınlarda östradiolden çok östron bulunur. Postmenopozal kadınlarda en fazla bulunan östrojendir. Şekil 2.3., Şekil 2.4., ve Şekil 2.5.'te bu 3 formun kimyasal yapıları gösterilmektedir. Over dışı sentez yerleri, plasenta, adrenal korteks, testisler (burada androstendionun küçük bir miktarı östrojene

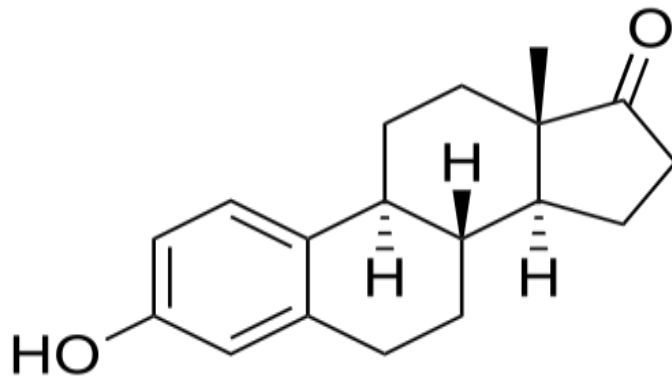
çevrilir), periferik dokulardır (özellikle yağ dokusunda androjenler, aromataz enzimi tarafından östrojene dönüşür) [41].



Şekil 2.3. Östriol. D halkasına (en sağdaki) bağlı iki -OH grubu [42]



Şekil 2.4. Östrodiol. D halkasına (en sağdaki halka) bir -OH grubu [42]



Şekil 2.5. Östron. D halkasına (en sağdaki halka) bir keton grubu bağlı [42]

Östrojenler plazmada seks hormonları bağlayıcı proteinlerine (SHBG) bağlı olarak taşınır ve yine kendilerini taşıyan bu proteinin miktarını arttıırırlar. Ortalama 30 dakika içinde dokulara nüfuz ederler. Tüm östrojenler, karaciğerde sülfürik asit (sülfotransferaz enzimi ile) ve glukuronik asitle konjuge edilerek inaktive edilir. Östrojenlerin en önemli etkileri, genital organlar üzerinde olup, kapıllar damarların kanla dolmasını sağlarlar. Dolayısı ile uterusun ağırlık ve hacim artışına izin verir. Ovaryumun gelişmesinde etkin bir rol oynamasının yanı sıra, protein ve RNA sentezini uyararak doku ve organ gelişimine katkıda bulunur [43].

Ayrıca, östrojen tesiri altındaki endometriyum epitel ve stroma hücrelerinde mitoz ve vaskülarizasyon artar. Progesteronun aksine, vajina epitelinin kalınlaşması ve keratinizasyonunda görev alır. Memelerin gelişmesinde progesteron hormonu ile sinerjik bir etki sağlar. Kadınlarda, kalça ve uyluklarda yağ depolanmasına yardımcı olurken, karaciğerde hormon ve metal taşıyan proteinlerin sentezini arttırıp, albümin seviyesini azaltır. Hiperpigmentasyon sağlar, prolaktin seviyesini yükseltir. Böbrekte su ve tuz geri emiliminde, cildin ince kalmasında rol oynar. Kadınlarda kemik metamolizmasını ciddi şekilde etkilemekle birlikte eksikliğinde kemik rezorpsiyonunda artış ile sonuçlanır. Ek olarak östrojenin, paratiroid hormonunun osteoblastlara etkisini inhibe ettiği rapor edilmiştir [44].

Östrojen damar genişlemesini arttırırken, ateroskleroz gelişimi ve yaralanmaya karşı kan damarlarının yanıtını inhibe eder. Yani anti-aterosklerotik etki gösteren Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL) düzeyini yükseltip, Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL) seviyesini düşürür [45].

2.1.6.1. Östrojen reseptörleri

Östrojen reseptörlerinin hem stoplazmik hemde nükleer formları mevcut olup östrojen α (*ESR1*) ve östrojen β (*ESR2*) steroid hormon reseptör süper ailesinin üyeleridir. Bu reseptörler hatrı sayılır bir homoloji göstermektedir. Tüm steroid hormonları gibi bunlar da, aktive edildikleri zaman gen ekspresyonunu değiştiren transkripsiyon faktörleridir. Östrojen reseptörleri, gerek östrojen bağlayıcıları gerekse östrojen yokluğunda büyüme faktörleri tarafından aktive edilir [46].

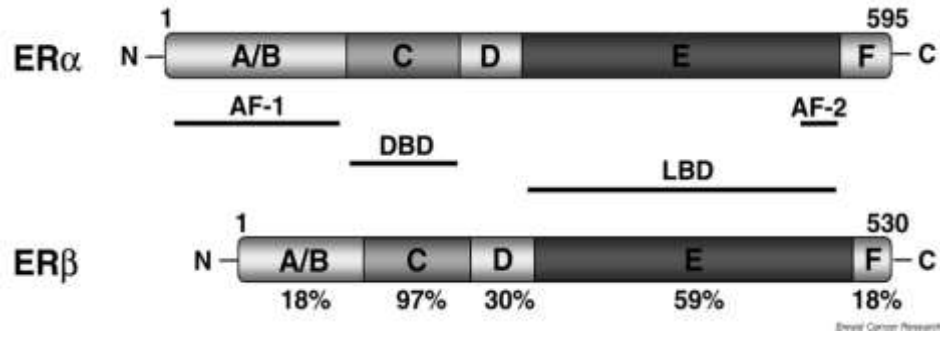
Sonraki aktivasyon mekanizması, büyüme faktörlerinin lokal konsantrasyonları yüksek olduğunda yada serum östrojen konsantrasyonları (erkek ve menapoz sonrası kadınlarda olduğu gibi) düşük olduğunda çalışabilir. Östrojen reseptörlerinin, östrojen – bağımsız aktivasyonu, damar ve damar dışı hücrelerde farklı hücre içi yollarla oluşabilir [47].

Östrojen reseptörleri, hücreler içinde bulunan proteinlerin bir grubu olmakla birlikte, 17 β -estradol tarafından aktive edilirler. Vasküler endotel ve düz kas hücrelerine yüksek afinite ile bağlanan östrojen ve *ESR1*, kadın ve erkekteki vasküler hücre türlerinde ve miyokard hücrelerinde tespit edilmiştir [48]. Normal kadın ve erkekte farklı vasküler yataklardaki *ESR1* ve *ESR2* ekspresyon seviyeleri ile anormal damarlara sahip kişilerde henüz iyi karakterize edilmemiştir. *ESR1*'in varyant formları vasküler hücrelerde eksprese edilir ve bu bulguların klinik öneme sahip olduğu ileri sürülebilir [49].

ESR1 ve *ESR2*, farklı dokularda, farklı dağılım gösterirler. Mesela, *ESR1* miktarı uterus ve meme bezlerinde fazla iken; akciğer, immün sistem, ürogenital kanallar, kemik, böbrek, merkezi sinir sisteminde *ESR2* oranı daha yoğun bir şekilde tespit edilmiştir [41,50].

ESR1, düz kas ve endotel hücrelerde belirli hedef genleri aktive eder. *ESR2*, yapısal ve fonksiyonel olarak, *ESR1*'den farklıdır. Fonksiyonel *ESR2*, nitrik oksit sentaz ekspresyonunu düzenleyen miyokard hücrelerde de mevcuttur. Homodimer formuna ek olarak *ESR1* ve *ESR2* birbirleriyle heterodimer yapı da oluşturabilir [51].

Östrojenin bahsi geçen transkripsiyon etkisini açıklayacak olursak, 17 α -östrodiolün hücre membranından geçip, *ESR1* ve *ESR2*'nin nükleer formuna [ya DNA üzerinde ERE (estrogen response element) denen alana yada AF1 (activation function-1/NH2-terminal transcriptional AF1) Fos/jun heterodimerlerine] bağlanır. Bu etkileme şekli direkt genomik mekanizma biçiminde isimlendirilir. İndirekt genomik mekanizmayla 17 α - östradiolün, hücre membranında yerleşik bulunan *ESR1* ve *ESR2* ile etkileşmesiyle oluşmaktadır [52]. Şekil 2.6.'da *ESR1* ve *ESR2*'nin yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.6. *ESR1* ve *ESR2* Yapısı [53]

Östrojen reseptörlerinde, ligandların bağlandığı C- ucu (LBD), yüksek oranda korunan DNA-bağlanma bölgesi (DBD), N-ucunda bulunan düzenleyici proteinlerle ilgili bölge mevcuttur. Bu alanlarda en az iki tane transkripsiyon aktivasyonu yapan bölgeler (AF-s) olup, AF-1 N- ucunda, AF-2 ise C-ucunda ve ligand bağımlıdır.

Özellikle mutasyon analizleri için bu bölgenin önemi yüksektir. Çünkü AF-2 ligand bağımlı yolda birden fazla transkripsiyonel koaktivatörler ile etkileşimde bulunur [50-53].

2.1.6.2. Östrojen Reseptör 1 Geni (*ESR1*)

ESR1 geni, 8 ekzon 7 introndan oluşan, 6. Kromozomun q25.1 bölgesinde yerleşik, 295.720 bç'li nükleotid dizisi içerir ve 1950 senesinde Elwood V. Jensen tarafından tanımlanmıştır. Kodlama bölgesi 1785 nükleotidli uzunluğa sahip olmakla birlikte 595 aminoasit ve 66216 Da'lık bir protein ürünü oluşturur. Tablo 2.3.'de *ESR1* genine ait diğer bilgilerden bahsedilmiştir.

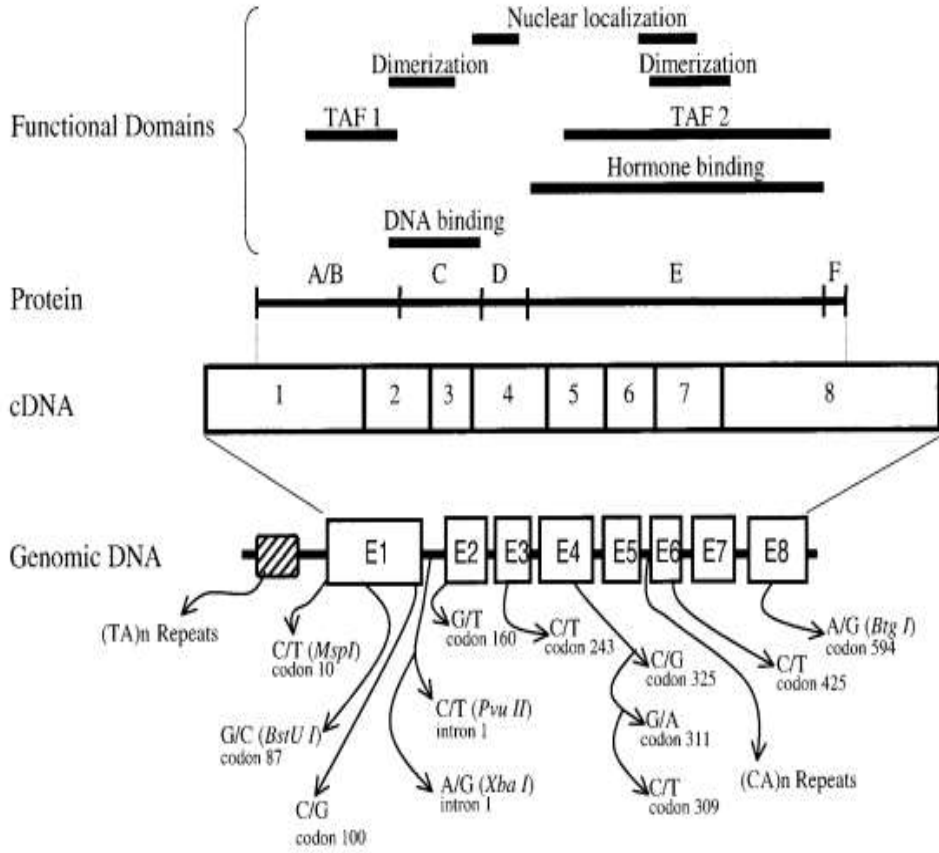
Tablo 2.3. *ESR1* Geninin Özellikleri

GEN	(<i>ESR1</i>)
OMIM No.	133430
Gen ID No.	2099
Kromozomal lokalizyon	6q25.1
Genin uzunluğu	295721 bç.
mRNA uzunluğu	6456 bç.

Aminoasit sayısı	595 aa.
Ekzon, intron sayısı	8 ekzon 7 intron
Çalışılan Polimorfizm	397T>C ve 351 A>G
Çalışılan Polimorfizm yerleri	397T>C için İntron I 351A>G için İntron I
SNP No.	rs 2234693 ve rs 9340799

ESR1 ve *ESR2* genini kodlayan proteinler A, B, C, D, E ve F olmak üzere toplam 6 bölgeye sahiptir. A ve B bölgeleri aktivasyon işlevi (AF-1) yoluyla, hücreye özgün şekilde hedef genin ifade edilip aktifleştirilmesini sağlar. Aynı zamanda koaktivatör proteinlerle direk ilişki kurar. AF-1 bölgesi, *ESR2*'de mevcut değildir.

C bölgesi ise *ESR1* proteinin DNA bağlanma bölgesi olup, hedef genlerin östrojen yanıt elementlerine bağlanmasında ve reseptör dimerizasyonunda görev alır. D bölgesi, 40-50 aminoasitlik bir bölgedir. DNA bağlanma bölgesini ligand bağlanma bölgesinden ayırır ve tıpkı C bölgesi gibi dimerizasyondan, korepressör proteiyle etkileşimden sorumludur. E bölgesi, bünyesinde ligand bağlanma bölgesini ve aktivasyon işlevini (AF-2) barındırır. Bununla birlikte dimerizasyon ve reseptör proteinin çekirdek yerleşiminde görev alır. F Bölgesi, karboksil uca bulunan son bölgedir. Dimerizasyon, kofaktör bağlanması, *ESR1* proteinin gen aktivasyonu kapasitesinde etkin rol oynar [53,54].



Şekil 2.7. *ESRI* Gen Yapısı ve Polimorfik bölgeleri [3]

ESRI gen lokusunun genetik taraması, çeşitli polimorfik bölgelerin varlığını ortaya çıkarmıştır. Şekil 2.7.'de *ESRI* geninin hem yapısını hem de intron 1de meydana gelen 397T>C, 351A>G gibi çok çalışılan polimorfizmleri ve genin promotör bölgesi içindeki değişken sayıdaki tandem tekrarları (VNTR) gösterilmektedir. *ESRI* geninin, intron 1 397T>C polimorfizm bölgesi, aynı zamanda bir transkripsiyon faktörü olan Myeloblastosis (*myb*)'nin tanıma noktasıdır. Gennari ve arkadaşlarına göre, bu polimorfizm (C alleli) *myb* transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkiler ve haliyle transkripsiyonun azalmasını sağlar [3].

ESRI genine ait bazı polimorfik noktalarda gerçekleşen polimorfizmler ve ilgili hastalıkları şu şekilde sıralayabiliriz;

397T>C polimorfizmi (rs2234693) prostat, meme, over, kolon kanserleri, spontan düşüklük, bilişsel bozukluklar, depresyon, osteoartrit, osteoporoz, endometriyozis, erken yumurtalık fonksiyonu, yaşlanma, obezite, anksiyete, premenstrüel disforik bozukluklar, kısırlık [5,6,55-67], 351A>G polimorfizmi (rs9340799) ise bilişsel bozukluk, spontan düşüklük, Alzheimer hastalığı, anksiyete, kardiovasküler hastalıklar, kısırlık, disforik bozukluklar, endometriyozis, depresyon gibi hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir [5,6,59-69].

Yine *ESRI* genine ait bir başka polimorfizm olan TA tekrarı (rs3138774) ise Atriyal Fibrilasyon, doğum sonrası depresyon, saldırganlık, endometriyozis, kısırlık, prostat, meme kanserleri, Hepatit B ile ilişkili bulunmuştur [6,66,67,70-72].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalına başvuran ve FMS tanısı alan 100 hasta ve kontrol grubu olarak sağlıklı 119 birey çalışma grubunu oluşturdu. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden çalışmamıza dahil edildiklerine dair izinleri alındı. Bu kapsamda, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında bulunan ve Etik kurul komisyonundan 2012/03 toplantı nolu, 12-BADK-44 proje nosuyla onay alan eski çalışmamızdan arta kalan DNA örnekleri kullanıldı. Çalışmanın tamamı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda yapıldı. Tablo 3.1.'de FMS'li hastaların ve kontrol grubundaki bireylerin çalışmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Hastaların ve kontrol grubundaki bireylerin araştırmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri

Dahil Edilme Kriterleri	Araştırmanın Hasta Grubu İçin Dahil Etme Ölçütleri;
	<ol style="list-style-type: none">1. FMS Tanısı Konulmuş olması2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması3. 18 yaşından büyük olması
	Araştırmanın Kontrol Grubu İçin Dahil Etme Ölçütleri;
	<ol style="list-style-type: none">1. FMS tanısı almamış olması2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış olması3. 18 yaşından büyük olması

Dahil Edilmeme Kriterleri	Araştırmanın Hasta Grubu İçin Dahil Etmeme Ölçütleri; 1. FMS tanısı almamış olması 2. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması 3. 18 yaşından küçük olması
	Araştırmanın Kontrol Grubu İçin Dahil Etmeme Ölçütleri; 1. Yazılı bilgilendirilmiş olur formunu imzalamamış olması 2. 18 yaşından küçük FMS tanısı almış olması

3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

3.2.1. Aletler ve Cihazlar

1. PZR Cihazı (Termal Cycler) (Techne, TC 4000, TC 412)
2. Elektroforez Tankı (Cleaver Scientific, MSCHOİCE)
3. Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific, EC 300 x L)
4. Jel Görüntüleme Sistemi (QUANTUM-ST4, 1000/20M- 09200806)
5. Bilgisayar (Exper, İntelcore2)
6. Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica,F20520162)
7. Mikrodalga Fırın (Arçelik İntellowave, MD 554)
8. Hassas Terazı (Kern, ABJ 220-4M)
9. Mikrosantrifüj (Mikro120, Hettich Zentrifugen D- 78 532n)
10. Vorteks (Velp Scientifica; F20220176)
11. Mikropipet Seti (Thermo Scientific)
12. Etüv (Memmert, Beschickung-Loading 100- 800)
13. Otoklav (HMC Hirayama, HV-25L)
14. Buzdolabı (Vestel, BZP-L3302W)
15. pH metre (İHANNA, 507702)

3.2.2. Kimyasal Maddeler

1. Taq DNA polimeraz (Fermentas, Lot:00162573)
2. *PvuII* (Restriksiyon Enzimi) (Thermo Scientific, Lot: 0151205)
3. *XbaI* (Restriksiyon Enzimi) (Thermo Scientific, Lot: 00181230)
4. Primerler
 - Forward Primer (M6009H07)
 - Reverse Primer (M6009H08)
5. Agaroz (Biomax, Lot: 134527)
6. Nusieve Agaroz (Prona (Gamma Micropor) (Lot: 051366)
7. pUC mix marker (Fermantas Lot: 00151816)
8. 50 bç DNA Ladder (GeneRuler R0491)
9. Loading dye (Vivantis, Lot: 4011)
10. 100 mM dNTP set (Fermentas, Lot: 00070408)
11. Trisma Base (Amresco, Lot: 1621726)
12. Borik Asit (Amresco, Lot: 111110 625)
13. EDTA (Amresco, Lot: 3228B038)
14. Ethidium Bromide (Serva, 090107)
15. NaOH (Sodyum Hidroksit) (Riedel-de Haen, Lot:70440 UN 1823)

3.2.3. Çözeltiler

EDTA Solüsyonu (0,5 M)Hazırlanışı

18,16 Na₂EDTAX2H₂O 80 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için 2,0 g NaOH karışma eklendi (pH: 8,0 olacak). pH ayarlaması HCl ile yapıldı ve 100ml'ye tamamlandı (distile su ile). Hazırlanan EDTA solüsyonu, otoklavlanıp oda sıcaklığında saklandı.

5XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu

54 g Trisma Base, 27,5 g Borik Asit ve 20 ml EDTA 500 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Homojen olunca 1 litreye distile su ile tamamlanarak çözüldü. Çözelti oda ısısında saklandı.

Etidyum Bromid Solüsyonu (10mg/ml)

0,1 g Etidyum Bromid 10ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplandı. Hazırlanan solüsyon +4 °C’de saklandı.

Elektroforez Yürütme Tamponu

5XTBE tamponundan distile su ile seyreltilerek 1XTBE hazırlandı.

%2’lik Agaroz Jel (100ml)

2 g agaroz, 100 ml 1XTBE erlenmayer içerisinde karıştırılıp mikrodalga fırında 1,5- 2 dakika ısıtıldı. Hafif soğuması beklenerek (yaklaşık 60°C) 3µl Etidyum bromid (10mg/ml) eklenip hızlı bir şekilde iyice karıştırıldı ve yükleme yapılacak tarakları hazırlanmış olan kasete döküldü.

3.3. YÖNTEM

3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu

Bu çalışmada, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı’nın önceki ortak çalışmalarında oluşturulmuş olan DNA’lar kullanıldığından dolayı tekrar DNA izolasyonu yapılmamıştır.

3.3.2. DNA’nın Kalitatif Tayini

1,4 g agaroz, 70ml 1XTBE içerisinde kaynatılarak çözündürüldü, 60°C’ye kadar soğutulduktan sonra 2,1 µl EtBr (10mg/ml) eklendi. Sıvı haldeki jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroforez kabına dökülerek donmaya bırakıldı.

1-2µl DNA, toplam hacim 5µl olacak şekilde 10X yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Örnekler 1XTBE tamponu içerisinde, 135 voltta(V) 25 dakika yürütüldükten sonra jel, UV altında incelendi ve böylece genomik DNA’nın kalitesi analiz edildi.

3.3.3. DNA'nın Kantitatif Tayini

DNA, RNA, oligonükleotidler ve hatta mononükleotidler seyreltilmiş veya seyreltilmemiş sıvı solüsyonlar içinde, ultraviyole ışığı altında (aynı zamanda görünür dalga boylarında) sahip oldukları absorpsiyon A, optik yoğunluk (OD) üzerinden direkt olarak ölçülebilir. Nükleik asitlerin konsantrasyonu genellikle bir köre (boş örnek) karşı 260 nm'de A ölçülerek belirlenir. Kontaminantların varlığı, oran hesaplaması ile ayırt edilebilir. Proteinler 280 nm'de absorbladığından ötürü A260/A280 oranı nükleik asitlerin saflığını hesaplamak için kullanılır. Saf DNA yaklaşık 1.8, RNA ise yaklaşık 2.0 değerini vermelidir. DNA ve RNA çözeltileri ışığı kısmen 280 nm'de ve protein çözeltileri 260 nm'de soğurduğundan 260 ve 280 nm (A260/A280) ölçüm aralığındaki bir oran nükleik asitlerin saflık değerini verir.

DNA'ların derişimleri, 260nm dalga boyunda okunan OD değerinin, sulandırma katsayısı ve DNA katsayısı ile çarpılması sonucu µg/ml cinsinden belirlendi.

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = \text{A260} \times \text{Sulandırma oranı} \times 50 \text{ (katsayı)}$$

3.4. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİĞİ

Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (Polymerase Chain Reaction–PCR), DNA içinde yer alan, dizisi bilinen iki segment arasındaki özgün bir bölgeyi enzimatik bir şekilde çoğaltmak amacıyla uygulanan tepkimeler bütünüdür.

İlk kez 1986 yılında keşfedilen ve hızlı bir gelişme gösteren bu teknik, in vitro koşullarda DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanır. Basit, spesifik ve hassas bir metod olan PZR, temel olarak 3 aşamadan oluşur. Birinci adım, DNA zincirlerinin açılması (Denatürasyon) 92-95 °C'de 60-120 saniye arasında tutularak çift sarmal yapıdaki kalıp DNA iplikçikleri birbirinden ayrılır.

İkinci aşamada, primerlerin açılan DNA zincirlerine yapışması (Annealing) dır. 37-65 °C'de primerler, açılan Dna zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgelere yapışır. Üretilen baz uzunluğuna göre 30-60 saniye arasında gerçekleşir.

Üçüncü ve son adım, primerlerin uzaması (Primer Extesion) dır. DNA zincirlerine yapışan primerler, DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) aracılığı ile 72 °C'de 60-180 saniye arasında uzatılır. Bu basamakların toplamı bir PZR devrini ifade eder ve genel olarak 25-40 defa tekrar edilerek, başlangıçtaki kalıp DNA

dizisinden milyonlarcası çoğalır. PZR için kullanılan malzemeler; Kalıp DNA, dH₂O, tampon, MgCl₂, dNTP'ler (serbest nükleotidler), primerler ve Taq DNA polimeraz'dır [73-76].

3.5. RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP) ANALİZİ

Restriksiyon enzimleri kullanılarak, DNA'yı farklı uzunluklarda fragmanlara ayırma işlemi olup, bu teknik polimorfizm çalışmalarında sık sık kullanılır. Restriksiyon enzimleri genellikle 5-10 baz uzunluğunda spesifik bir nükleotid dizisini tanıyıp, bu noktada kesim yaparak DNA'yı ikiye ayırır. 200'den fazla farklı bakteri türlerinden elde edilen bu enzimler, bakterilerin orijinal isim kısaltması ile adlandırılmıştır. İlki Hamilton tarafından keşfedilen HindIII enzimidir. Her bir DNA molekülü farklı kesim noktaları olan bölgelere sahiptir ve aynı restriksiyon enzimi ile kesilirse, bireyin taşıdığı mutasyonlara bağlı değişik miktar ve uzunlukta DNA fragmentleri elde edilir.

RFLP yöntemi 4 temel aşamaya sahiptir. DNA izolasyonu, PZR, elde edilen PZR ürününün restriksiyon enzimleri ile kesimi ve elektroforez ile kesilen fragmanların ayırımı, görüntülenmesi. Seçilen enzim, RFLP analizi için hayati önem taşımaktadır. Çünkü seçilen enzim, DNA'yı birden fazla noktada keserse, çok sayıda ve birbirine yakın uzunlukta fragmanlar oluşurki uygulama zorlaşır. RFLP, özellikle tek nokta mutasyon analizinde sıkça başvurulan bir tekniktir. Tek nokta mutasyonları ile oluşan veya zarar gören enzim kesim noktaları kullanılıp, bu bölgelerde oluşan mutasyonları saptamak mümkündür. Mutasyon noktasını saran primerlerle meydana gelen PZR tepkimesinin akabinde, tek nokta mutasyon bölgesinden kesen bir enzim seçilip, analiz edilir [77].

3.6. ELEKTROFOREZ TEKNİĞİ

Elektroforez, elektriksel bir alanda, moleküllerin yük, ağırlık, büyüklüklerine göre jel üzerindeki göçü esasına dayalı bir tekniktir. Göç hızı; molekül büyüklüğü, yapısı, jelde kullanılan madde konsantrasyonu, iyonik kuvvet ve uygulanan akıma bağlı olarak değişiklik gösterir. Agaroz, deniz yosunundan elde edilen bir polisakkarit olup, çok hassas ve elle dokunulduğunda kolayca bozulabilen bir yapıya sahiptir. Agaroz jellerde büyük por çapları bulunur ve temelde 200 KDa'dan daha büyük moleküllerin ayrılmasında kullanılır [78,79].

3.7. ESR1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ

3.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu'nun (PZR) Analizi

ESR1 geni 397T>C ve 351A> G polimorfizmlerin belirlenmesi için Y.-Y.Hsieh ve arkadaşlarının yapmış oldukları PZR-RFLP yöntemi aşağıda belirtildiği şekilde modifiye edilerek uygulanmıştır [80].

Bu polimorfizmlerin her ikisinin belirlenmesinde kullanılan ve ortak olan primerler, PZR karışımları ve amplikasyon sıcaklıkları aşağıda verilmiştir.

ESR1 geni 397T>C ve 351A>G bölgesindeki polimorfizmleri belirlemek için yapılan PZR'larda, hedef gen bölgelerine özgün olarak kullanılan primerler, Tablo 3.2.'de gösterilmektedir.

Tablo 3.2. *ESR1* geni 397T>C ve 351A> G bölgelerindeki Polimorfizmlerinin analizinde kullanılan primerler

Bölge	Primerler
397T>C ve 351A> G	F 5'-CTGCCACCCTATCTGTATCTTTTCCTATTCTCC-3' R5'-TCTTTCTCTGCCACCCTGGCGTCGATTATCTGA-3'

ESR1 geni 397T>C ve 351A>G bölgelerindeki polimorfizmleri restriksiyon enzim analizi yöntemi ile belirlemek amacıyla Tablo 3.4.'te verilen 397T>C ve 351A>G bölgelerinin çoğaltımında kullanılan, örnek başına olan PZR karışımına göre; her bir PZR tüpünde bulunan 23'er µl'lik karışımın içerisine 2 µl DNA ilave edilerek toplam hacim 25 µl yapıldı. Tablo 3.5 'teki *ESR1* geni 397T>C ve 351A>G bölgelerindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programına göre çoğaltılması sağlandı. *ESR1* genine ait genomik DNA dizisi içerisinde bulunan; 397T>C ve 351A>G değişimlerini içeren polimorfik bölgeler, primer bağlanma bölgeleri ve ekzonlar Tablo 3.3.'te verilmiştir.

Tablo 3.3. ESRI Genine ait baz dizisi (Kaynak: NCBI)

1 gtagttgaca aacgtaaact acccgaaggg ccagccttct ctggatccta cttgagacct
 61 tgcttctctgc tgagaagtgt gtgcatttgt gtatctgggtg atcgagatgt ctggaagagt
 121 ggggagaaga ctgaggggca gatggggagt aagaagggtc agaaagctat ttgggttcag
 181 cagtatcaat aatgtttttg ctttaaataca ttgtcttctt caatgttgct tcctttgtca
 241 ctctgtataa tatgatagcc catttattct tctaataгаа aatttttcat aattatttcc

4981 ttactgcatt tcctaatttc atggtcataa **cagcctcctg tctaccgact cagaacggat**
 5041 **tttaccaaaa ctgaaaatgc aggetccatg ctcagaagct cttaacagg ctgaaaggt**
 5101 **ccatgctcct ttctcctgcc cattctatag cataagaaga cagtctctga gtgataatct**
 5161 **tctcttcaa**g taggtactcc tatttcttct caatttattt tttccttttt gatataatgt

(ekzon 1)

122341 tttccag**gtg gcccgccggt ttctgagcct tetgcectgc ggggacacgg tctgcacct**
 122401 **gcccgccgcc acggaccatg accatgacc tccacaccaa agcatctggg atggccctac**
 122461 **tgcacatcagat ccaagggaaac gagctggagc cctgaaccg tccgcagctc aagatcccc**
 122521 **tggagcggcc cctgggagag gtgtacctgg acagcagcaa gcccgccgtg tacaactacc**
 122581 **ccgagggcgc cgcctacgag ttcaacgccc cggccgccc caacgcgcag gtctacggtc**
 122641 **agaccggcct cccctacggc cccgggtctg aggetgcggc gttcggctcc aacggcctgg**
 122701 **ggggtttccc cccactcaac agcgtgtctc cgagcccgt gatgctactg caccgcccgc**
 122761 **cgcagctgtc gccttctctg cagccccacg gccagcaggt gccctactac ctggagaacg**
 122821 **agcccagcgg ctacacggtg cgcgaggccc gcccgccggc attctacag**g taccgcgccc

(ekzon 2)

155641 cttttatctt cctctttgtg ctttcaaca ttcccttct cctgccccat gccttcagt
 155701 ctacacgagg ccttctcaag tctcttcatt ctaaaaaatt cattttcttg ggtcttatat
 155761 tcttcag**ctg ccaccctatc tgtatctttt cctattctcc** tccaagttct caaaggaatg

5' forward primer 3'

156661 ttctgtggtg tccatcagtt catctgagtt ccaaagtcc **cagctgtttt atgctttgtc**
 (Polimorfik Bölge 397T>C Polimorfizm)

156721 tctgtttccc agagaccctg agtgtggtct **agagttggga tgagcattgg tctctaattg**
 (Polimorfik bölge 351A>G polimorfizm)

157081 ttactgtttt tttccccca g**gccaaat**tc agataatcga cgccaggggtg gcagagaaag

3' reverse primer

5'

157141 **attggccagt accaatgaca agggaagtat ggctatggaa tctgccaagg agactcgcta**

157201 **ctgtgcagtg tgcaatgact atgcttcagg ctaccattat ggagtctggg cctgtgaggg**

157261 **ctgcaaggcc ttcttc**aaga gaagtattca aggtaatagt gtgttgaaaa cgacttctat

(ekzon 3)

195121 cctgaaataa tattaattct gtcctcttgc ttttaatag**g** acataacgac tataatgtgtc

195181 **cagccaccaa ccagtcacc atlgataaaa acaggaggaa gagctgccag gcctgccggc**

195241 **tccgcaaatg ctacgaagtg ggaatgatga aaggtg**gtag gtacatctct ccaggggcc

(ekzon 4)

258661 tccacctgtg ttttcag**gga** tacgaaaaga ccgaagagga gggagaatgt tgaaacacaa

258721 **gcgccagaga gatgatgggg agggcagggg tgaagtgggg tctgctggag acatgagagc**

258781 **tgccaacctt tggccaagcc cgetcatgat caaacgctct aagaagaaca gcctggcctt**

258841 **gtccctgaag gccgaccaga tggtcagtgc ettgttggat gctgagcccc ccatactcta**

258901 **ttccgagtat gatcctacca gaccctcag tgaagcttcg atgatgggct tactgaccaa**

258961 **cctggcagac agggagctgg ttcacatgat caactgggcg aagaggggtgc cag**gtaagaa

(ekzon 5)

326041 ttgcatttac tccatctagt agaaaataga cttgtcagt tcaatcct gttgcattaa

326101 tttcaccagt aatgagtctt tttcatttga gtcagcaggg ttttcttgc ttgtttcag

326161 **gctttgtgga tttgacctc catgatcagg tccaccttct agaatgtgcc tggctagaga**

326221 **tcctgatgat tggctctgtc tggcctcca tggagcacc agggaagcta ctgtttgctc**

326281 **ctaacttgtc cttggacag**g taagtacct ggctgtagct taggagtagc atgttctt

(ekzon 6)

375481 gctatgtttt catag**gaacc** agggaaaatg tctagagggc atggtggaga tcttcgacat

375541 **gctgctggct acatcatctc ggctccgat gatgaatctg caggagaggg agtttgtgtg**

375601 **ctcctcaatct attattttgc ttaattctg**g tgagttgata acacaagata actcaatgct

(ekzon 7)

408841 cctcatcctc tttgagcttc tctctctcac tctctctctg cgattcagg agtgtacac**a**

408901 **tttctgtcca gcacctgaa gtctctggaa gagaaggacc atatccaccg agtctctggac**

408961 **aagatcacag acactttgat ccacctgatg gccaaaggcag gctgacctt gcagcagcag**

409021 **caccagcggc tggcccaget cctctctc cctctctc cctctctc**tcaggacat gag**gtgagggc**

(ekzon 8)

419641 attatattat cttgataat aaactggtaa atataagtgt ttccttaagt tctatgagcc

419701 accatagcaa atgaatcaag cccaaggagg ggtttgtgga aactccaatt tataaccagt

419761 tggtcagagg tataggtga

Tablo 3.4. *ESR1* geni 397T>C ve 351A>G bölgelerindeki polimorfizmlerinin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı

	PZR bileşenleri	ml/TÜP
1.	Steril bidistile Su	17 µl
2.	PZR buffer	2,5 µl
3.	MgCl ₂ (25mM)	1,5 µl
4.	dNTP Mix (12,5mM)	0,3 µl
5.	Forward Primer (10pmol/µl)	0,8 µl
6.	Reverse Primer (10pmol/µl)	0,8 µl
7.	Taq DNA Polimeraz (5 u/µl)	0,2 µl
8.	Genomik DNA	2 µl

Tablo 3.5. *ESR1* geni 397T>C ve 351A>G bölgelerindeki polimorfizmlerin belirlenmesinde kullanılan PZR programı

Program Türü	Derece (°C)	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5dk.	-
Denatürasyon	94	30sn.	
Bağlanma	61	40sn.	31
Uzatma	71	90sn.	
Final	72	10dk	-

3.7.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Analizi:

Bu çalışmada, *ESR1* geninin iki farklı polimorfizmi için PZR programı ile çoğaltılmış polimorfik noktasını içeren PZR ürünleri restriksiyon enzim kesimi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi. *ESR1* geni 397T>C polimorfizmini belirlemek için Tablo 3.6.'de belirtilen oranda restriksiyon enzim karışımı hazırlandı ve *PvuII* restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 18 saat kesime bırakıldı.

Tablo 3.6. *ESR1* geni 397T>C bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları

Buffer	2 µl
<i>PvuII</i> enzimi (10u/µl) 5' ... CAG ↓ CTG...3' 3' ... GTC ↑ GAC...5'	1 µl
dH ₂ O	17 µl
PZR ürünü	10 µl
Toplam	30 µl

ESR1 geni 351A>G polimorfizmini belirlemek için Tablo 3.7.'da belirtilen oranda restriksiyon enzim karışımı hazırlandı ve *XbaI* restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 18 saat kesime bırakıldı.

Tablo 3.7. *ESR1* geni 351A>G bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan enzim kesimi koşulları

Buffer	2 µl
<i>XbaI</i> enzimi (10u/µl) 5' ... T ↓ CTAGA...3' 3' ...A ↑ AGATC T...5'	1 µl
dH ₂ O	17 µl
PZR ürünü	10 µl
Toplam	30 µl

3.8. İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel analizler için SPSS İstatistik Paket Program Versiyon 20.0 ve Openepi 3.01 yazılım programı kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tespit edilen genotip sıklıkları için Hardy-Weinberg Denges'inden sapma olup olmadığı ki-kare (χ^2) testi ile araştırıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada *ESRI* gen polimorfizmlerinin analizi PZR-RFLP yöntemiyle gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen 100 Fibromiyalji hastası ve 119 kontrol grubunu oluşturan bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.1.'de verildi.

Tablo 4.1. Çalışmaya dahil edilen FMS'li hasta ve kontrol grubundaki bireylerin cinsiyet ve yaş ortalamalarına ait istatistik bulgular

Özellik	FMS Hasta Grubu (n=100)	Kontrol Grubu (n=119)	P
Cinsiyet			
Kadın	100 (%100)	119 (%100)	-
Erkek	-	-	-
Yaş Ortalaması	42,83 ±11,50	42,22±9,46	0,667

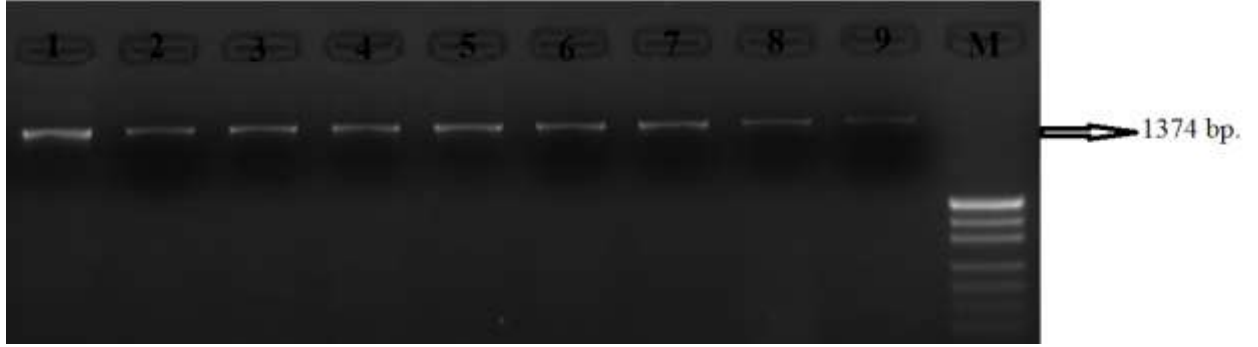
FMS'li hasta kadın grubundaki yaş aralığı 21-75 yaş iken kontrol grubundaki kadınlarda 21-65 yaşdır. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş faktörü bakımından uyumsuzluk görülmemiştir (p=0,667).

4.1. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) ANALİZLERİ

ESRI geni 397T>C ve 351A>G polimorfizmleri;

ESRI geninin restriksiyon enzim kesim analizi yapılan 397T>C ve 351A>G Polimorfik bölgelerini içeren 1374 bç'lik bölgesi Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4.'de verilen PZR karışımına ve Tablo 3.5.'de belirtilen PZR programına göre çoğaltılarak % 2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi.



Şekil 4.1. *ESRI* geni 397T>C ve 351A>G polimorfik bölgelerinin PZR ürünlerinin % 2'lik agaroz jeldeki görünümü. M: 50 bç'lik Marker

Yukarıdaki şekilde kuyular 1'den 9'a kadar numaralandırılmıştır. "M" 50 bç'lik marker'ı ifade etmektedir ve *ESRI* geninin 1374 bp'lik bant boyu görülmektedir.

4.2. RESTRIKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP) ANALİZLERİ

***ESRI* geni 397T>C polimorfizmi;**

ESRI geni 397T>C polimorfizmi Tablo3.4.'de verilen PZR karışımına göre ve Tablo 3.5.'de belirtilen PZR programına göre çoğaltıldıktan sonra PvuII restriksiyon enzimi ile 37 °C'de yaklaşık 18 saat kesime bırakıldı.

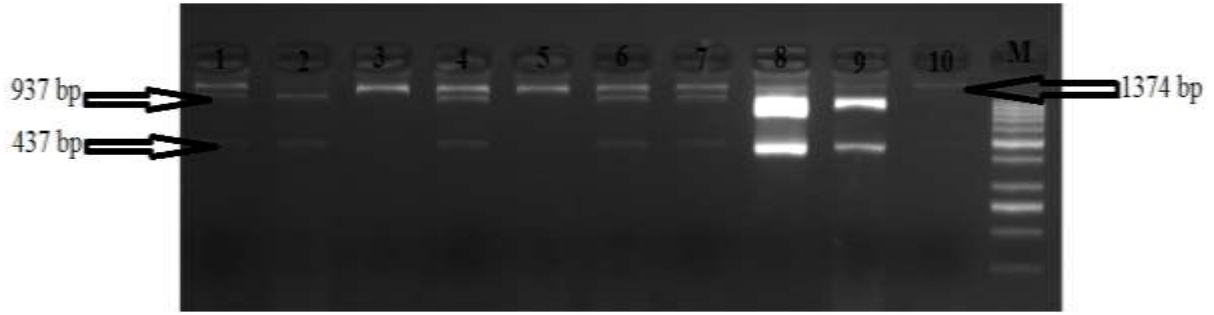
ESRI geni 397T>C polimorfizmini görüntülemek amaçlı önceden hazırlanmış 60ml 1XTBE tamponu içerisinde çözünmüş % 3'lük (1.2 g agaroz ve 0.6 g nusieve agaroz) olarak hazırlanmış jele yüklenen kesim ürünleri, elektroforezde 135 V'da 35 dakika yürütüldü ve ultraviyole ışıkta incelendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

TT (yabanıl) homozigot 1374 bç.

TC heterozigot 1374 bç, 937 bç, 437 bç.

CC (varyant) homozigot 937 bç, 437 bç



Şekil 4.2. *ESRI* geninin 397T>C polimorfik bölgelerinin PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görünümü. M: 100 bç'lik Marker

Yukarıdaki şekilde *ESRI* geni 397T>C polimorfizminin RFLP sonuçlarına göre, 1,4,6,7 nolu kuyular TC heterozigot bireyleri; 2,8,9 nolu kuyular CC homozigot bireyleri; 3,5,10 nolu kuyular TT homozigot bireyleri göstermektedir.

***ESRI* geni 351A>G polimorfizmi;**

ESRI geni 351A>G polimorfizmi Tablo3.4.'de verilen PZR karışımına göre ve Tablo 3.5.'de belirtilen PZR programına göre çoğaltıldıktan sonra *Xba*I restriksiyon enzimi ile 37 °C'de yaklaşık 18 saat kesime bırakıldı.

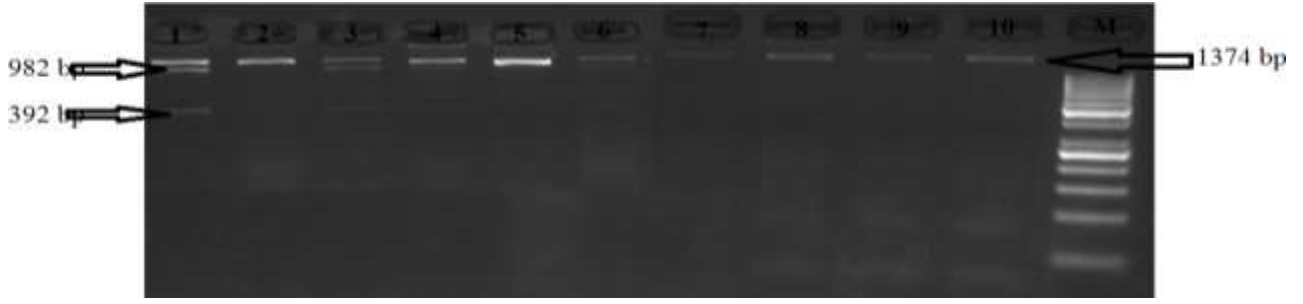
ESRI geni 351A>G polimorfizmini görüntülemek amaçlı önceden hazırlanmış 60ml 1XTBE tamponu içerisinde çözülmüş % 3'lük (1.2 g agaroz ve 0.6 g nusieve agaroz) olarak hazırlanmış jele yüklenen kesim ürünleri, elektroforezde 135 V'da 35 dakika yürütüldü ve ultraviyole ışıkta incelendi. Kesim sonucunda oluşan parçalar şu şekilde yorumlandı:

Gözlenen fragment boyları

AA (yabanıl) homozigot 1374 bç.

AG heterozigot 1374 bç, 982 bç, 392 bç.

GG (varyant) homozigot 982 bç, 392 bç.



Şekil 4.3. *ESR1* geninin 351A>G polimorfik bölgelerinin PZR ürünlerinin % 3'lük agaroz jeldeki görünümü. M: 100 bç'lik Marker

Yukarıdaki şekilde *ESR1* geni 351A>G polimorfizminin RFLP sonuçlarına göre, 1,3,4,6 nolu kuyular AG heterozigot bireyleri; 2,5,7,8,9,10 nolu kuyular AA homozigot bireyleri göstermektedir.

4.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI

Tablo 4.2.'de FMS'li hasta ve kontrol grubunda *ESR1* geni (397T>C, 351A>G) polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıkları verilmiştir. *ESR1* geni 397T>C polimorfizmi genotip sonuçları hasta ve kontrol grupları arasında istatistik olarak anlamlı derecede farklı iken ($p=0,021$), *ESR1* geni 351A>G polimorfizmi genotip sonuçları hasta ve kontrol grupları arasında istatistik olarak anlamlı derecede farklılık göstermemiştir ($p=0,298$). FMS'li hasta grubu ve kontrol gruplarının *ESR1* geni 397T>C polimorfizminde genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermediği tespit edilmiştir ($p>0,05$). *ESR1* geni 351A>G polimorfizminde hasta grubu için Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermediği ancak kontrol grubu için sapma gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında *ESRI* geni polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıkları

Polimorfizm	Hasta n=100 (%)	Kontrol n=119 (%)	P	OR (CI 95%)
<i>ESRI 397T>C</i>				
<u>Genotipler</u>				
TT	22 (22,0)	43 (36,1)	0,021	
TC	54 (54,0)	61 (51,3)		
CC	24 (24,0)	15 (12,6)		
TT : TC+CC	22 (22,0) : 78 (78,0)	43 (36,1) : 76 (63,9)	0,022	2,00 (1,09-3,70)
TT+TC : CC	76 (76,0) : 24 (24,0)	104 (87,4) : 15 (12,6)	0,028	2,18 (1,07-4,52)
<u>Alleler</u>				
T	98 (49,0)	147 (61,7)	0,007	1,67 (1,14-2,46)
C	102 (51,0)	91 (38,2)		
<i>ESRI 351A>G</i>				
<u>Genotipler</u>				
AA	45 (45,0)	48 (40,3)	0,298	
AG	48 (48,0)	67 (56,3)		
GG	7 (7,0)	4 (3,4)		
AA : AG+GG	45 (45,0) : 55 (55,0)	48 (40,3) : 115 (96,6)	0,486	0,82 (0,48-1,41)
AA+AG : GG	93 (93,0) : 7 (7,0)	115 (96,6) : 4 (3,4)	0,2199	2,15 (0,60-8,63)
<u>Alleles</u>				
A	138 (69,0)	163 (68,4)	0,908	0,97(0,64-1,46)
G	62 (31,0)	75 (31,51)		

FMS'li hasta ve kontrol gruplarında *ESRI* genine ait 397T>C ve 351A>G gen polimorfizmlerinin allel sıklıkları karşılaştırıldığında; 351A>G gen polimorfizmi A ve G allellerinde, allel dağılımları açısından hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamasına rağmen (p=0,908), 397T>C gen polimorfizmi T ve C allellerinde allel dağılımları açısından hasta ve kontroller arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır.

FMS'li hastalarda C allelinin sıklığı daha fazla iken kontrol grubundaki bireylerde T allelinin sıklığı, hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Dolayısı ile C allelinin FMS için yatkınlık oluşturabileceği öngörülmüştür (p=0,007).

Tablo 4.3. FMS'li hasta grubunun *ESRI* geni 397T>C polimorfizmi açısından yaş, boy, kilo ve BMI kriterlerine göre genotip dağılımı

ÖZELLİKLER	GENOTİP	HASTA SAYISI	ORTALAMA	STANDART SAPMA	P DEĞERİ
yaş	TT	22	43,86	2,099	0,691
	TC	54	43,17	1,653	
	CC	24	41,13	2,391	
	Total	100	42,83	1,151	
boy	TT	21	160,19	1,648	0,359
	TC	52	162,48	0,782	
	CC	22	162,18	1,330	
	Total	95	161,91	0,640	
kilo	TT	21	74,71	2,974	0,352
	TC	52	76,19	1,501	
	CC	22	72,00	2,170	
	Total	95	74,89	1,166	
BMI	TT	21	29,05	0,945	0,359
	TC	52	28,95	0,646	
	CC	22	27,43	0,840	
	Total	95	28,62	0,455	

Tablo 4.4. FMS’li hasta grubunun *ESR1* geni 351A>G polimorfizmi açısından yaş, boy, kilo ve BMI kriterlerine göre genotip dağılımı

ÖZELLİKLER	GENOTİP	HASTA SAYISI	ORTALAMA	STANDART SAPMA	P DEĞERİ
yaş	AA	45	41,31	11,465	0,401
	AG	48	43,69	11,084	
	GG	7	46,71	14,784	
	Total	100	42,83	11,509	
boy	AA	42	162,79	5,829	0,396
	AG	46	161,41	6,669	
	GG	7	159,86	5,699	
	Total	95	161,91	6,242	
kilo	AA	42	73,90	11,418	0,136
	AG	46	76,80	11,533	
	GG	7	68,29	6,969	
	Total	95	74,89	11,363	
BMI	AA	42	27,96	4,496	0,115
	AG	46	29,52	4,406	
	GG	7	26,57	3,202	
	Total	95	28,62	4,435	

Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.’de gösterilen FMS’li hastaların yaş, boy, kilo ve vücut kitle indeksi (BMI) özellikleri ile *ESR1* geni 397T>C ve 351A>G polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4.5. *ESRI* Geni 397T>C Polimorfizmine göre hastaların klinik ve demografik özellikleri

Özellikler	Özellik Mevcudiyeti	Toplam n (%)	TT n (%)	TC n (%)	CC n (%)	P Değeri
Uyku bozukluğu	Var	63(%66,3)	12(%19,0)	33(%52,4)	18(%28,6)	0,188
	Yok	32(%33,7)	9(%28,1)	19(%59,4)	4(%12,5)	
Yorgunluk	Var	63(%66,3)	14(%22,2)	32(%50,8)	17(%27,0)	0,424
	Yok	32(%33,7)	7(%21,9)	20(%62,5)	5(%15,6)	
Konsantrasyon güçlüğü	Var	35(%36,8)	9(%25,7)	15(%42,9)	11(%31,4)	0,183
	Yok	60(%63,2)	12(%20,0)	37(%61,7)	11(%18,3)	
Baş ağrısı	Var	71(%74,7)	16(%22,5)	35(%49,3)	20(%28,2)	0,101
	Yok	24(%25,3)	5(%20,8)	17(%70,8)	2(%8,3)	
Parestezi	Var	23(%24,2)	2(%8,7)	16(%69,6)	5(21,7)	0,156
	Yok	72(%75,8)	19(%26,4)	36(%50,0)	17(%23,6)	
Tutukluk hissi	Var	49(%51,6)	13(%26,5)	23(%46,9)	13(%26,5)	0,284
	Yok	46(%48,4)	8(%17,4)	29(%63,0)	9(%19,6)	
Yumuşak dokularda şişlik hissi	Var	54(%56,8)	24(%44,4)	26(%48,1)	4(%7,4)	0,564
	Yok	41(%43,2)	18(%43,9)	20(%48,8)	3(%7,3)	
Sabah yorgunluğu	Var	65(%68,4)	17(%26,2)	31(%47,7)	17(%26,2)	0,123
	Yok	30(%31,6)	4(%13,3)	21(%70,0)	5(%16,7)	
İrritabl barsak	Var	34(%35,8)	7(%20,6)	19(%55,9)	8(%23,5)	0,965

sendromu	Yok	61(%64,2)	14(%23,0)	33(%54,1)	14(%23,0)	
Dismenore	Var	20(%21,3)	3(%15,0)	10(%50,0)	7(%35,0)	0,340
	Yok	74(%78,7)	18(%24,3)	41(%55,0)	15(%20,3)	
Göz kuruluğu	Var	30(%31,6)	10(%33,3)	13(%43,3)	7(%23,3)	0,170
	Yok	65(%68,4)	11(%16,9)	39(%60,0)	15(%23,1)	
Raynaud sendromu	Var	6(%6,3)	1(%16,7)	4(%66,7)	1(%16,7)	0,832
	Yok	89(%93,7)	20(%22,5)	48(%53,9)	21(%23,6)	
Dizüri	Var	10(%10,5)	2(%20,0)	6(%60,0)	2(%20,0)	0,938
	Yok	85 (%89,5)	19(%22,4)	46(%54,1)	20(%23,5)	
Huzursuz bacak sendromu	Var	51 (%53,7)	14(%27,5)	26(%51,0)	11(%21,6)	0,401
	Yok	44 (%46,3)	7(%15,9)	26(%59,1)	11(%25,0)	
Ağız kuruluğu	Var	58 (%61,1)	12(%20,7)	30(%51,7)	16(%27,6)	0,440
	Yok	37 (%38,9)	9(%24,3)	22(%59,5)	6(%16,2)	

Tablo 4.5.'te gösterildiği gibi FMS'li hastalarının kendi aralarında *ESRI* geni 397T>C Polimorfizmine göre klinik ve demografik özellikleri incelendiğinde, istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır.

Tablo 4.6. ESR1 Geni 351A>G Polimorfizmine göre hastaların klinik ve demografik özellikleri

Özellikler	Özellik Mevcudiyeti	Toplam n (%)	AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	P Değeri
Uyku bozukluğu	Var	63(%66,3)	29(%46,0)	29(%46,0)	5(%7,9)	0,801
	Yok	32(%33,7)	13(%40,6)	17(53,1)	2(%6,2)	
Yorgunluk	Var	63(%66,3)	29(%46,0)	30(%47,6)	4(%6,3)	0,807
	Yok	32(%33,7)	13(%40,6)	16(%50,0)	3(%9,4)	
Konsantrasyon güçlüğü	Var	35(%36,8)	15(%42,9)	17(48,6)	3(%8,6)	0,936
	Yok	60(%63,2)	27(%45,0)	29(%48,3)	4(%6,7)	
Baş ağrısı	Var	71(%74,7)	26(%36,6)	40(%56,3)	5(%7,0)	0,025
	Yok	24(%25,3)	16(%66,7)	6(%25,0)	2(%8,3)	
Parestezi	Var	23(%24,2)	7(%30,4)	12(%52,2)	4(%17,4)	0,063
	Yok	72(%75,8)	7(%30,4)	12(%52,2)	4(%17,4)	
Tutukluk hissi	Var	49(%51,6)	21(%42,9)	27(%55,1)	1(%2,0)	0,087
	Yok	46(%48,4)	21(%45,7)	19(%41,3)	6(%13,0)	
Yumuşak dokularda şişlik hissi	Var	54(%56,8)	24(%44,4)	26(%48,1)	4(%7,4)	0,998
	Yok	41(%43,2)	18(%43,9)	20(%48,8)	3(%7,3)	
Sabah yorgunluğu	Var	65(%68,4)	27(%41,5)	34(%52,3)	4(%6,2)	0,500
	Yok	30(%31,6)	15(%50,0)	12(%40,0)	3(%10,0)	
İrritabl barsak	Var	34(%35,8)	15(%44,1)	15(%44,1)	4(%11,8)	0,451

sendromu	Yok	61(%64,2)	27(%44,3)	31(%50,8)	3(%4,9)	
Dismenore	Var	20(%21,3)	9(%45,0)	7(%35,0)	4(%20,0)	0,041
	Yok	74(%78,7)	32(%43,2)	39(%52,7)	3(%4,1)	
Göz kuruluğu	Var	30(%31,6)	14(%46,7)	16(%53,3)	0(%0,0)	0,173
	Yok	65(%68,4)	28(%43,1)	30(%46,2)	7(%10,8)	
Raynaud sendromu	Var	6(%6,3)	2(%33,3)	3(%50,0)	1(%16,7)	0,629
	Yok	89(%93,7)	40(%44,9)	43(%48,3)	6(%6,7)	
Dizüri	Var	10(%10,5)	4(%40,0)	5(%50,0)	1(%10,0)	0,925
	Yok	85 (%89,5)	38(%44,7)	41(%48,2)	6(%7,1)	
Huzursuz bacak sendromu	Var	51 (%53,7)	26(%51,0)	21(%41,2)	4(%7,8)	0,306
	Yok	44 (%46,3)	16(%36,4)	25(%56,8)	3(%6,8)	
Ağız kuruluğu	Var	58 (%61,1)	23(%39,7)	32(%55,2)	3(%5,2)	0,215
	Yok	37 (%38,9)	19(%51,4)	14(%37,8)	4(%10,8)	

Fibromiyalji hastalarının kendi aralarında *ESRI* geni 351A>G Polimorfizmine göre klinik ve demografik özellikleri incelendiğinde, Tablo 4.6.'da belirtilen çoğu özellikler için anlamlı bir ilişki rastlanmamış olmasına rağmen, yine aynı tablodaki baş ağrısı ve dismenore kriterleri için p değerleri sırasıyla (p=0,041 ve p=0,025) olarak belirlenmiştir. Dolayısı ile AA genotipine sahip bireylerde baş ağrısının daha az görüldüğü ve AA genotipinin baş ağrısını engelleyen bir faktör olabileceği kanısına varılmıştır. Aynı şekilde GG genotipinin dismenore hastalarında daha fazla görüldüğü ve bunun dismenore hastalığına sebep olabileceği düşünülmüştür.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

FMS; yaygın iskelet-kas ağrıları, yorgunluk, bitkinlik, uyku bozukluğu ile seyreden kronik bir hastalık olmakla birlikte 19. ve 20. yüzyılın başlarındaki psikolojik bir rahatsızlık olan nevrasteni ile yakından ilişkilidir. Genellikle nevrasteni hastalığından ayırt edilemez. Sendromun genel olarak görülme sıklığı % 2-4 olup, hastaların % 80-90'ını 40-60 yaş grubu aralığındadır [81,82].

Restoratif olmayan uyku yorgunluğu, psikolojik sıkıntı, depresyon, anksiyete, bilişsel disfonksiyon, baş ağrısı, parestezi, barsak fonksiyon bozukluğu dahil birçok buna benzer ilişkili özelliklere sahiptir [81-83]. Tüm bu belirtiler, hastanın duygusal ve fiziksel fonksiyonlarını içine alan genel olarak yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Birçok araştırmaya rağmen, FMS için optimal tedavi hala bilinmemektedir. Hastalığın tedavisinde farmakolojik ve farmakolojik olmayan yöntemler uygulanmaktadır [84].

18 C'lu steroid bir hormon olan östrojen özellikle doğurganlık döneminde olan kadınlarda daha fazla miktarda görülür ve diğer steroid yapılı hormonlara göre çok daha etkin bileşiklere sahip olduğu için az bir miktarının bile etkisi son derece yüksektir. İkincil cinsiyet karakter özelliklerinin gelişmesinde hayati öneme sahiptir. Bu hormon genel olarak *ESR1* ve *ESR2* iki çeşit reseptör içerir. Özellikle *ESR1* geninin daha çok kadınları ilgilendiren birçok sendromla ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır.

Östrojen, sinaptogenezi kolaylaştırır, büyüme faktörünü uyarır, oksidatif strese karşı korur, biliş ve duygu durumu ile ilişkili sinir iletimini (örneğin, serotonin, neopinefrin ve asetilkolin) düzenler. Duygu durumu ve biliş üzerine yapılan 14 çalışmanın, 11'inde bunama riski ile; 4 prospektif kohort çalışmanın 3'ünde bilişsel gerileme ile; anksiyete ve depresif belirtileri inceleyen 5 çalışmanın 3'ünde *ESR1* polimorfizmleri ile ilgili anlamlı bir ilişki bildirilmiştir. Aynı zamanda bu gen polimorfizmleri ve çocukluk dönemi başlangıcına ait duygudurum bozukluğu ve premenstrüel disforik bozukluk arasında da önemli ilişkiler tespit edilmiştir [6].

ESRI geninde, birçok tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ve değişken sayıda tandem tekrarı (VNTR) polimorfizmleri tespit edilmiştir. İyi çalışılmış bir başka polimorfizm olan promoter bölgede ekson 1'in 1174 bç yukarısında bulunan TA-değişken sayıda tandem tekrarı (VNTR), dokuya özel gen ekspresyonunu etkileyebilir. 89 Atriyal Fibrilasyon (AF) hastalığına sahip erkek ve 166 sağlıklı erkek bireyi içeren bir çalışmada bu polimorfizmin AF sendromunu tetikleyici yönde ilişkili olduğu görülmüştür (p=0,002) [70]. Ryan ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada, östrojen reseptör gen varyantlarının, menopoz sonrası kadınlarda anksiyete ile ilişkili olduğu saptanmıştır [5].

ESRI geni, intron 1'de 3 çeşit tek nükleotid polimorfizmleri; 4502C>T (rs3778609), 21187C>T (rs12665044) 28437A>G (rs827421) araştırılmıştır. Bu 3 gen polimorfizmi arasında 28437A>G polimorfizmindeki G/G genotip sıklığının yüksekliği ergenlik ve büyümede yapısal gecikmeyi arttırdığı sonucuna varılmıştır [85].

Çin Han popülasyonunda, osteoartrit sendromu ile *ESRI* geni 397T>C ve 351A>G polimorfizmleri, 469 hasta ve 522 kontrol arasında incelenmiştir. Primer diz osteoartrit hastalığı ile bahsedilen bu iki polimorfizm arasında hastalığı tetikleyici olabileceği yönünde anlamlı ilişkiler bulunmuştur [64].

ESRI polimorfizmleri kadınlarda kemik mineral yoğunluğu, kalp sağlığı gibi önemli klinik durumların belirteci olarak görülmekle birlikte, meme kanseri, osteoporoz, endometriyozis, erken yumurtalık fonksiyon bozukluğu dahil östrojenle ilişkili hastalıklarda söz konusu olmuştur.

Kognitif bozukluklarda, *ESRI* çalışılan pek çok vaka-kontrol araştırmasının %78'inde bu gendeki polimorfizmler ile hastalık arasında ilişki saptanmıştır. İlgili çalışmaların % 73'ünde de 397T>C, 351A>G SNP'lerinin sırasıyla C ve G allelerinin, bilişsel bozukluklara karşı pozitif yönde koruyucu bir etkisi olduğunu göstermiştir. *ESRI* polimorfizmlerinin, tüm nedenlere bağlı demans (bunama), vasküler demans, alkol bağlantılı demans veya Parkinson hastalığı ile ilgili demans oranlarıyla anlamlı bir ilişkiye sahip olmadığı ortaya konmuştur [6].

ESRI 397T>C polimorfizmi ile ilgili Govindan ve arkadaşları 2009 yılında endometriosis, Kim ve arkadaşları 2010 yılında menopoz sonrası depresyon, Sunderman ve arkadaşları ise 2010 yılında ruhsal durum bozuklukları konularını ele almış ve *ESRI* geni ile ilişkilendirmişlerdir [6,65,86].

Bu çalışmada FMS etiyojisi ile ilgili olabileceği düşünölen *ESRI* geni 397T>C ve 351A>G polimorfizmlerinin Türk toplumunda FMS ile olası bağlantısının önemi araştırıldı. Çalışmaya 100 FMS’li hasta ve 119 sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiştir. Çalışma sonuçlarımız, *ESRI* geni 397T>C polimorfizmi ile FMS arasında allel ve genotip sıklığı bakımından anlamlı bir bağlantı olduğunu gösterdi. *ESRI* geni 397T>C polimorfizmi ile ilgili CC, CT, TT genotiplerinin sıklıkları sırasıyla hastalarda %24, %54, %22 ve kontrol grubunda %12,6, %51,3, %36,1 olarak bulundu. Allel sıklıkları hastalarda C alleli için % 51, T alleli için % 49 ve kontrol grubunda C alleli için % 38,2 ve T alleli için % 61,7 bulundu. PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan örneklerin bazılarının genotiplerini gösteren jel fotoğrafları Şekil 4.2.’de verilmiştir. Hasta ve kontrollerin genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmiştir (p=0,021). FMS’li hastalarda C allelinin sıklığı daha yüksek iken kontrol grubundaki bireylerde T allelinin sıklığı, hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Dolayısı ile C allelinin FMS için yatkınlık oluşturabileceği düşünölmüştür(p=0,007).

ESRI geni 351A>G polimorfizmi ile FMS arasında anlamlı bir bağlantı olmadığı göröldü. 351A>G polimorfizmi ile ilgili AA, AG, GG genotiplerinin sıklıkları sırasıyla hastalarda %45, %48, %7 ve kontrol grubunda %40,3, %56,3, %3,4 olarak bulundu. Allel sıklıkları hastalarda A alleli için % 69, G alleli için % 31 ve kontrol grubunda A alleli için % 68,4 ve G alleli için % 31,5 bulundu. PCR-RFLP yöntemi ile çalışılan örneklerin bazılarının genotiplerini gösteren jel fotoğrafları Şekil 4.3’de verilmiştir. Hasta ve kontrollerin genotip dağılımı karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,298).

Ayrıca *ESRI* geni 397T>C ve 351A>G polimorfizmlerinin, hasta grubunda yaş, boy, kilo ve BMI kriterlerine göre yapılan analizde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.). *ESRI* geni 397T>C polimorfizmine göre hastaların klinik ve demografik özelliklerinin incelendiği Tablo 4.5.’da anlamlı bir ilişki gözlenmemesine rağmen, *ESRI* geni 351A>G polimorfizmine göre hastaların klinik ve demografik özelliklerinin incelendiği Tablo 4.6.’de baş ağrısı ve dismenore gibi kriterlerde istatistiksel açıdan anlamlı ilişkiler elde edilmiştir (sırasıyla p=0,025, p=0,041).

Sonuç olarak; bu çalışma literatürü taradığımız kadarıyla Türk toplumunda FMS ile *ESRI* gen polimorfizmleri arasındaki bağlantıyı araştıran ilk araştırmadır. Bu sebeple toplumumuzdaki gelecek araştırmalarda, *ESRI* geninin diğer polimorfizmlerinin de FMS ile bağlantıları analiz edilmelidir. Bu tür çalışmalar FMS patogeneğinde *ESRI* geninin rolünün anlaşılmasına katkıda bulunmanın yanı sıra, ileri dönemlerde bireylerin genotipleri ve tedaviye verdikleri cevaplar arasındaki bağlantının ortaya konulmasında ve yeni farmakolojik veya non-farmakolojik hedeflerin tespit edilerek etkinliği daha yüksek ilaçların geliştirilmesine de yardımcı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- 1) Wolfe F, Walitt B. Culture, science and the changing nature of fibromyalgia. *Nature Reviews Rheumatology* , doi:10.1038/nrrheum.2013.96.
- 2) Jin SY, Park HH, Li GZ, Lee HJ, Hong MS, Park HJ, Park HK, Seo JC, Yim SV, Chung JH, Lee MH. Association of estrogen receptor 1 intron C/T polymorphism in Korean vitiligo patients. *Journal of Dermatological Science* (2004) 35, 181-186.
- 3) Gennari L., Merlotti D., De Paola V., Calabrò A., Becherini L., Martini G., and Nuti R. (2005). Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and the Genetics of Osteoporosis: A HuGE Review. *American Journal of Epidemiology*, 161(4), 307-320.
- 4) Hee-Yeon Woo, M.D., Kye-Hyun Kim, M.D., and Se-Won Lim, M.D. Estrogen receptor 1, Glutathione S-transferase P1, Glutathione S-transferase M1, and Glutathione S-transferase T1 Genes with Dysmenorrhea in Korean Female Adolescents. *Korean J Lab Med* 2010;30:76-83.
- 5) Ryan J, Scali J, Carrie`re I, Scarabin PY, Ritchie K, Ancelin ML. Estrogen receptor gen evariants are associated with anxiety disorders in older women. *Psychoneuroendocrinology* (2011) 36, 1582—1586.
- 6) Erin E. Sundermann, MA, Pauline M. Maki, PhD, and Jeffrey R. Bishop, PharmD. A Review of Estrogen Receptor α Gene (ESR1) Polymorphisms, Mood, and Cognition. *Menopause*. 2010 July ; 17(4): 874–886
- 7) <http://old.amerikanhastanesi.org/>

- 8) Smythe HA, Moldofsky H. Two contributions to understanding of the “fibrositis” syndrome. *Bull Rheum Dis* 1977;28:928-31.
- 9) Inanici F, Yunus MB. History of fibromyalgia: past to present. Department of Medicine, University of Illinois College of Medicine at Peoria, One Illini Drive, Peoria, IL 61605, USA. *Curr Pain Headache Rep.* 2004 Oct;8(5):369-78.
- 10) Roberto Ezequiel Heymann, Eduardo dos Santos Paiva, Milton Helfenstein Junior, Daniel Feldman Pollak, José Eduardo Martinez, José Roberto Provenza, Ana Patrícia Paula, Antonio Carlos Althoff, Eduardo José do R. e Souza, Fernando Neubarth, Lais Verderame Lage, Marcelo Cruz Rezende, Marcos Renato de Assis, Maria Lucia Lemos Lopes, Fabio Jennings, Rejane Leal C. da Costa Araújo, Valéria Valim Cristo, Evelin Diana Goldenberg Costa, Helena Hideko S. Kaziyama, Lin Tchia Yeng, Marta Iamamura, Thais Rodrigues Pato Saron, Osvaldo J. M. Nascimento, Luiz Koiti Kimura, Vilnei Mattioli Leite, Juliano Oliveira, Gabriela Tannus Branco de Araújo, Marcelo Cunio Machado Fonseca. Brazilian consensus on the treatment of fibromyalgia. *Rev. Bras. Reumatol.* vol.50 no.1 São Paulo Jan./Feb. 2010
- 11) Isasi C, Colmenero I, Casco F, Tejerina E, Fernandez N, José I, Vela S, Maria J, Luis F,V. Fibromyalgia and non-celiac gluten sensitivity: a description with remission of fibromyalgia *Rheumatol Int* DOI 10.1007/s00296-014-2990-6 Received: 10 november 2013.
- 12) Hodges CL, Simit-Rooker LJ, Mugno G. Fibromyalgia and the neuroscience nurse's role. *Journal of Neuroscience Nursing* 2002; 34: 57-66.
- 13) Dönmez A, Erdoğan N. Fibromiyalji Sendromu, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Anabilim Dalı. 01.04.2012

- 14) Goldenberg DL. Controversies in fibromyalgia and myofascial pain syndrome. In: Arnoff GM, ed. Evaluation and Treatment of Chronic Pain. Baltimore, Md: Williams & Wilkins; 1992:165-175.
- 15) Boissevain MD, McCain GA. Toward an integrated understanding of fibromyalgia syndrome, I: medical and pathophysiological aspects. Pain. 1991;44:227-238.
- 16) Fan PT, Blanton ME. Clinical features and diagnostics of fibromyalgia. The Journal of Musculoskeletal Medicine. 1992;9(4) :24 – 42
- 17) Başış S. Fibromiyaljide Klinik Bulgular ve Tanı (Clinical Features and Diagnosis of Fibromyalgia). Turk Fiz Tıp Rehab Derg 2008: 54 Özel Sayı 1; 12-4 Turk J Phys Med Rehab 2008: 54 Suppl 1; 12-4.
- 18) Giesecke T, Williams DA, Harris RE, Cupps TR, Tian X, Tian TX, Gracely RH, Clauw DJ. Subgrouping of fibromyalgia patients on the basis of pressure-pain thresholds and psychological factors. Article first published online: 7 OCT 2003 DOI: 10.1002/art.11272 Arthritis & Rheumatism Volume 48. Issue 10, pages 2916–2922, October 2003.
- 19) Bennett RM. Fibromyalgia and the facts: sense or nonsense. Controversies in Clinical Rheumatology. 1993: 19 (1) :45-.59.
- 20) Wolfe F, Smythe H, Yunus M, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia: Report of the Multicenter Criteria Committee. Arthritis Rheum 1990;33:160-72.
- 21) Yurdakul S. Yumuşak Doku Romatizması. İ.Ü. Cerrahpařa Tıp Fakóltesi Sürekli Tıp Eđitimi Etkinlikleri Romatizmal Hastalıklar Sempozyumu. 25 Mayıs 1999.
- 22) [www.fibromyalgia-symptom .org](http://www.fibromyalgia-symptom.org)

- 23) Kucukali Turkyilmaz A, Kurt EE, Karkucak M, Capkin E. Fibromiyaljili Hastalarda Sosyodemografik Özellikler, Klinik Bulgular ve Yaşam Kalitesi, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Training and Research Hospital, Recep Tayyip Erdogan University, Rize, Turkey Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey .EAJM 2012; 44: 88-93.
- 24) Genç A, Tur B.S. Fibromiyalji Sendromu. 02.2014
<http://ichastaliklariromatoloji.medicine.ankara.edu.tr>.
- 25) Goldenberg DL, Mossey CJ, Schmid CH. A model to assess severity and impact of fibromyalgia. J Rheumatol 1995;22:2313-8.
- 26) Buskila D, Neumann L, Alhoashle A, Abu-Shakra M. Fibromyalgia syndrome in men. Semin Arthritis Rheum. 2000 Aug;30(1):47-51.
- 27) Yunus MB, Masi AT. Juvenile primary fibromyalgia syndrome. A clinical study of thirty-three patients and matched normal controls. Arthritis Rheum. 1985 Feb;28(2):138-45.
- 28) Durmaz Y, Alayli G, Canbaz S, Zahiroglu Y, Bilgici A, Ilhanlı İ, Kuru Ö. Prevalence of juvenile fibromyalgia syndrome in an urban population of Turkish adolescents: impact on depressive symptoms, quality of life and school performance. Chinese Medical Journal 2013;126(19):3705-3711.
- 29) Yunus MB, Holt GS, Masi AT, Aldag JC. Fibromyalgia syndrome among the elderly. Comparison with younger patients. J Am Geriatr Soc 1988;36:987-95.
- 30) Arnold LM, Hudson JI, Hess EV, Ware AE, Fritz DA, Auchenbach MB, Starck LO, Keck PE Jr. Family study of fibromyalgia. Arthritis Rheum. 2004 Mar;50(3):944-52.

- 31) Marinus J, Jaconus J, Hilten V. Clinical expression profiles of Complex Regional Pain Syndrome, Fibromyalgia and a-specific Repetitive Strain Injury: More common denominators than pain? Disability and Rehabilitation, Department of Neurology, Leiden University Medical Centre, Leiden, The Netherlands. March 2006; 28(6): 351 – 362.
- 32) Beard G. Neurasthenia, or Nervous Exhaustion. Boston Med Surg J 1869; 80:217-221 April 29, 1869
- 33) McCain GA. (1996). A cost effective approach to the diagnosis and treatment of fibromyalgia. Rheum Dis Clin North Am. 22(2) : 323-349.
- 34) Moldofsky H, Scarisbrick P, England R, et al. Musculoskeletal symptoms and non-REM sleep disturbance in patients with 'fibrositis syndrome' and healthy subjects. Psychosom Med 1975; 37: 341-51.
- 35) Crofford LJ, Pillemer SR, Kalogeras KT, et al. Hypothalamic Pituitary adrenal axis perturbations in patients with fibromyalgia. Arthritis Rheum 1994;37:1583-1592.
- 36) Kart Köseoğlu H, Ersözlü Bozkırlı D. Fibromiyalji Sendromunda Genetik,(Genetics of Fibromyalgia Syndrome). Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara Türkiye Klinikleri J Immunol Rheumatol-Special Topics 2009;2(2):24-7.
- 37) Offenbaecher M, Bondy B, de Jonge S, Glatzeder K, Krüger M, Schoeps P, Ackenheil M. Possible association of fibromyalgia with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. Arthritis Rheum. 1999 Nov;42(11):2482-8.

- 38) Gürsoy S, Erdal E, Herken H, Madenci E, Alaşehirli B. Association of T102C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene with psychiatric status in fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int.* 2001 Oct;21(2):58-61.
- 39) M. B. Yunus. Genetic factors in fibromyalgia syndrome. *Zeitschrift für Rheumatologie* December 1998, Volume 57, Issue 2 Supplement, pp S61-S62.
- 40) Buskila D, Cohen H, Neumann L, Ebstein RP: An association between fibromyalgia and the dopamine D₄ receptor exon III repeat polymorphism and relationship personality traits. *Mol Psychiatry* 2004, 9:730-731.
- 41) Altunkaynak BZ, Ünal D, Aksak S., Ünal B. Östrojen hormonu ve menopoz derleme, 2012.
- 42) <http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogen>
- 43) Baran MS, Kocabağlı N. Yemlerdeki östrojenik etkili maddeler ve hayvanlar üzerindeki etkileri İstanbul üniversitesi vet. Fak. Dergi. 26(1),141-148,2000.
- 44) Selin Kale S, Kocadereli İ. Farmakolojik ajanların ortodontik diş hareketi üzerindeki etkileri. *Türk Ortodonti Dergisi* 16(2) 142-151 ağustos 2003.
- 45) Walter P, Green S, Greene G, et al. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:7889-93.
- 46) Shibata H, Spencer TE, Onate SA, et al. Role of co-activators and corepressors in the mechanism of steroid/thyroid receptor action. *Recent Prog Horm Res* 1997;52:141-65.
- 47) Karas RH, Gauer EA, Bieber HE, Baur WE, Mendelsohn ME. Growth factor activation of the estrogen receptor in vascular cells occurs via a mitogen-activated protein kinase-independent pathway. *J Clin Invest* 1998;101:2851-61.

- 48) Groh. C, Kahlert S, Lbbert K, et al. Cardiac myocytes and fibroblasts contain functional estrogen receptors. *FEBS Lett* 1997;416:107-12.
- 49) Inoue S, Hoshino S, Miyoshi H, et al. Identification of a novel isoform of estrogen receptor, a potential inhibitor of estrogen action, in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;219:766-72.
- 50) Knapczyk-Stwora, K., Durlej, M., Duda, M., Czernichowska-Ferreira, K., Tabecka-Lonczynska, A., Slomczynska, M., 2009. Expression of oestrogen receptor alpha and oestrogen receptor beta in the uterus of the pregnant swine. *Reprod. Domest. Anim*, in pres
- 51) Cowley SM, Hoare S, Mosselman S, Parker MG. Estrogen receptors *a* and *b* form heterodimers on DNA. *J Biol Chem* 1997;272:19858-62.
- 52) Lavery, D.N., McEwan, I.J., 2006. The human androgen receptor AF1 transactivation domain: interactions with transcription factor IIF and molten-globule-like structural characteristics. *Biochem. Soc. Trans.* 34, 1054-1457.
- 53) Shao W, Brown M. Advances in estrogen receptor biology: prospects for improvements in targeted breast cancer therapy. *Breast Cancer Res* 2004, 6:39-52 (DOI 10.1186/bcr742), Published: 7 November 2003.
- 54) Hall JM, Couse JF, Korach KS. The Multifaceted Mechanisms of Estradiol and Estrogen Receptor Signaling. *J. Biol. Chem* 2001; 276: 36869-36872.
- 55) Clemons M., Danson S., Howell A. (2002). "Tamoxifen (Nolvadex): A Review," *Cancer Treatments Reviews*. **28**, 165-180.
- 56) Ohlsson C., Hellberg N., Parini P., Vidal O., Bohlooly-Y M., Bohlooly M., Rudling M., Lindberg M.K., Warner M., Angelin B., Gustafsson J.A. (2000). Obesity and disturbed lipoprotein profile in estrogen receptor-alpha-deficient

- male mice. *Biochemical and Biophysical Research. Communications*, **278** (3), 640–5.
- 57) Castagnoli A, Maestri I, Bernardi F, et al. PvuII RFLP inside the human estrogen receptor gene. *Nucleic Acids Res* 1987; 15:866. (Electronic article).
- 58) Zuppan PJ, Hall JM, Ponglikitmongkol M, et al. Polymorphisms at the estrogen receptor (ESR) locus and linkage relationships on chromosome 6q. *Cytogenet Cell Genet* 1989;51:1116
- 59) Massart F, Reginster JY, Brandi ML. Genetics of menopause associated diseases. *Maturitas* 2001;40:103–16.
- 60) Brandi ML, Becherini L, Gennari L, et al. Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with sporadic Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265:335–8.
- 61) Tempfer CB, Schneeberger C, Huber JC. Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology. *Pharmacogenomics* 2004;5:57–65.
- 62) Tanaka Y, Sasaki M, Kaneuchi M, et al. Polymorphisms of estrogen receptor alpha in prostate cancer. *Mol Carcino* 2003;37:202–8.
- 63) Anousha N, Hossein-Nezhad A, Biramijamal F, Rahmani A, Maghbooli Z, Aghababaei E, Nemati S. Association study of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with spontaneous abortion: is this a possible reason for unexplained spontaneous abortion? *Biomed Res Int*. 2013;2013:256470. doi: 10.1155/2013/256470. Epub 2013 Oct 20.
- 64) Dai X, Wang C, Dai J, Shi D, Xu Z, Chen D, Teng H, Jiang Q. Association of Single Nucleotide Polymorphisms in Estrogen Receptor Alpha Gene with

Susceptibility to Knee Osteoarthritis: A Case-Control Study in a Chinese Han Population *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 151457. Published online Mar 17, 2014. doi: 10.1155/2014/151457

- 65) Kim J.J., Pae C.U., Kim M.R., Min J.A., Kim K.H., Lee C.U., Lee C. and Paik I.H.(2010). Association between Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and Depression in Post- Menopausal Women: A Preliminary Study. *Psychiatry Investigation*, **7**, 224-227.
- 66) Lamp M, Peters M, Reinmaa E, Haller-Kikkatalo K, Kaart T, Kadastik U, Karro H, Metspalu A, Salumets A. Polymorphisms in ESR1, ESR2 and HSD17B1 genes are associated with fertility status in endometriosis. *Gynecol Endocrinol.* 2011 Jun;27(6):425-33. doi: 10.3109/09513590.2010.495434.
- 67) Ayvaz OU, Ekmekçi A, Baltacı V, Onen HI, Unsal E. Evaluation of in vitro fertilization parameters and estrogen receptor alpha gene polymorphisms for women with unexplained infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2009 Sep-Oct;26(9-10):503-10. doi: 10.1007/s10815-009-9354-2.
- 68) Yoo KY, Kang D. Current researches on breast cancer epidemiology in Korea. *Breast Cancer* 2003;10:289–93.
- 69) Deng J, Shen C, Wang Y, Zhang M, Yan J, Fu X, Chen Y, Zhou H. Association between the polymorphism of estrogen receptor alpha and Alzheimer's disease in Chinese population. *Clin Lab.* 2013;59(7-8):741-6.
- 70) Golubic K, Šmalcel A, Sertić J, Juričić L. Estrogen receptor 1 gene (TA)n polymorphism is associated with lone atrial fibrillation in men. *Croat Med J.* 2014;55:38-44 doi: 10.3325/cmj.2014.55.38.
- 71) Pinsonneault JK, Sullivan D, Sadee W, Soares CN, Hampson E, Steiner M. Association study of the estrogen receptor gene ESR1 with postpartum

depression--a pilot study. Arch Womens Ment Health. 2013 Dec;16(6):499-509. doi: 10.1007/s00737-013-0373-8.

- 72) Zhai Y, Zhou G, Deng G, Xie W, Dong X, Zhang X, Yu L, Yang H, Yuan X, Zhang H, Zhi L, Yao Z, Shen Y, Qiang B, He F. Estrogen receptor alpha polymorphisms associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus carriers. Gastroenterology. 2006 Jun;130(7):2001-9.
- 73) Hadidi A, L. Levy, Podleskis E. V. 1995. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In: Molecular Methods in Plant Pathology, pp.167-187. Eds. R. P. Singh, U. S. Singh. Boca Raton: CRS Press.
- 74) Watson, J. D., M. Gilman, J. Witkowski and M.Zoller. 1992. The polymerase chain reaction In: Recombinant DNA. Second Edition. New York. 79-98.
- 75) Innis, M.A. and D.H. Gelfand. 1990. Optimization of PCRs In Innis, M.A, Gelfand, D.H., Sninsky, J.J.and White T.J (eds.). PCR protocols A guide to methods and applications.Academic Press.3-12 pp.
- 76) Yılmaz S, Devran Z. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve bitki biyoteknolojisinde yaygın uygulamalar. Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü, Antalya, 2003
- 77) <http://www.biyologlar.com>
- 78) Somma M, Querci M. Gıda örneklerinde genetiği değiştirilmiş organizma analizleri, bölüm 5, agaroz jel elektroforezi. JRC European Commission
- 79) www.deu.edu.tr/UploadedFiles/Birimler/.../elektroforetik_yontemler.pdf
- 80) Y.-Y.Hsieh, Y.-K. Wang1, C.-C.Chang, C.-S.Lin. Estrogen receptor a-351 XbaI*G and -397 PvuII*C-related genotypes and alleles are associated with

higher susceptibilities of endometriosis and leiomyoma, *Molecular Human Reproduction* Vol.13, No.2 pp. 117–122, 2007 Advance Access publication November 22, 2006.

- 81) Smith HS, Barkin RL. Fibromyalgia syndrome: a discussion of the syndrome and pharmacotherapy. *Am J Ther* 2010;17:418-39.
- 82) Yılmaz H, Uğurlu H, Sallı A. Fibromiyalji Sendromlu Hastalarda Kas Performansı. Meram Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Konya Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Konya, Türkiye, *Romatizma* 2007; 22: 43-7 *Rheumatism* 2007; 22: 43-7
- 83) Arnold LM. The pathophysiology, diagnosis and treatment of fibromyalgia. *Psychiatr Clin North Am* 2010;33:375-408.
- 84) Ediz L, Hiz Ö. Physical Therapy in Treating Fibromyalgia Syndrome: A Brief Review Fibromiyalji Tedavisinde Fizik Tedavi: Kısa Derleme. Yuzuncu Yil University Medical Faculty, Physical Medicine and Rehabilitation Department, Van, Turkey, *J PMR Sci* 2011;14:28-32 *FTR Bil Der* 2011;14:28-32.
- 85) Byung Ho Kang, So Youn Kim, Mun Suk Park, Kyung Lim Yoon, Kye Shik Shim. Estrogen receptor α polymorphism in boys with constitutional delay of growth and puberty. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* 2013;18:71-75.
- 86) Govindan S., Shaik N.A., Vedicherla B., Kodati V., Rao K.P., Hasan Q. (2009). Estrogen receptor-alpha gene (T/C) Pvu II polymorphism in Endometriosis and uterine fibroids. *Disease Markers*, 26(4), 149-54.

7.ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Habibe Sema ARSLAN

Doğum Tarihi/Yeri: 09.08.1988/Maraş

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Eğitim Kurumu	Yıl
Lise	Fen Bilimleri	Amasya Macit Zeren Fen Lisesi	2003-2007
Lisans	Biyoloji	Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi	2008-2012
Y.Lisans	Tıbbi Biyoloji	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi	2012-