



**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU KADINLARDA  
NÜKLEİK ASİT HASARI: 8-HİDROKSİ 2'-DEOKSİ  
GUANOZİN SEVİYELERİ VE OKSİDATİF  
STRES PARAMETRELERİ**

**Elif POLAT**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN**

**Doktora Tezi - 2016**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU KADINLARDA  
NÜKLEİK ASİT HASARI: 8-HİDROKSİ 2'-DEOKSİ  
GUANOZİN SEVİYELERİ VE OKSİDATİF STRES  
PARAMETRELERİ**

**Elif POLAT**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN**

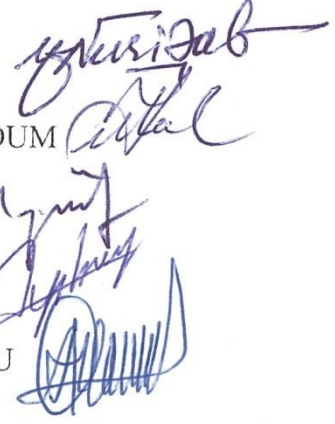
**ERZURUM  
2016**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU KADINLARDA NÜKLEİK  
ASİT HASARI: 8-HİDROKSİ 2'-DEOKSİ GUANOZİN  
SEVİYELERİ VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ

Elif POLAT

Tez Savunma Tarihi : 04/08/2016  
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN  
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Fatma Zuhul UMUDUM  
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mustafa GÜL  
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Adnan YILMAZ  
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU



Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

Enstitü Müdürü

Doktora Tezi  
ERZURUM – 2016

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET .....	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Polikistik Over Sendromu.....	3
2.1.1. Tanım ve Tarihçe .....	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Tanı .....	4
2.1.4. Etiyoloji .....	6
2.1.5. Fیزیopatoloji .....	6
2.1.5.1. Hipotalamohipofizer Aks, Adrenal Bez ve Over Değişiklikleri.....	6
2.1.5.2. İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi.....	12
2.1.5.3. Polikistik Over Sendromunda Genetik .....	14
2.1.6. PKOS'ta Klinik, Semptom ve Bulgular.....	15
2.1.6.1. Hiperandrojenizm .....	16
2.1.6.2. Kronik Anovulasyon.....	16
2.1.6.3. İnfertilite .....	17
2.1.6.4. Obezite.....	17
2.1.6.5. Hiperinsülinemi .....	18
2.1.6.6. Polikistik Overin Ultrasonografik Olarak Morfolojisi.....	19

2.1.7. PKOS'ta Önemli Olan Hormonal, Spesifik Testler.....	19
2.1.8. PKOS'lu kadınların Uzun Dönemde Karşılaşabilecekleri Sağlık Riskleri.....	21
2.1.8.1. Dislipemi-Disfibrinojenemi- Koroner arter hastalığı .....	21
2.1.8.2. Hipertansiyon.....	22
2.1.8.3. Metabolik Risk ve Tip 2 Diyabet Riski .....	23
2.1.8.4. PKOS'da Jinekolojik Maligniteler.....	24
2.1.8.5. Diğer Riskler.....	25
2.2. Total Oksidan-Antioksidan Sistemler ve Oksidatif Stres .....	25
2.2.1. Süperoksit Radikalleri ( $O_2^{\cdot-}$ ).....	27
2.2.2. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) .....	28
2.2.3. Hidroksil Radikali ( $OH^{\cdot}$ ) .....	28
2.3. Oksidatif Stresin Proteinler Üzerine Etkisi.....	28
2.5. Oksidatif Stresin DNA Üzerine Etkisi.....	30
2.2.5.1. Guanininin 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozine Oksidasyonu.....	30
2.5. Antioksidan Sistemler.....	31
2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar .....	32
2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz .....	32
2.5.1.2. Glutasyon Peroksidaz.....	33
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>34</b>
3.1. Materyal.....	34
3.1.1. Hasta Seçimi .....	34
3.1.2. Numune Alınması ve Numunelerin Hazırlanması.....	34
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar, Cihaz ve Ekipmanlar .....	35
3.2. Metot.....	36
3.2.1. 8-Hidroksi-2'Deoksiguanozin Ölçümü.....	36

3.2.2. Malondialdehit Ölçümü .....	38
3.2.3. Süperoksit Dismutaz Ölçümü .....	40
3.2.4. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü .....	42
3.2.5. Hormon Parametrelerinin Ölçümü.....	44
3.2.6. İstatistiksel Analiz.....	44
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>45</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>54</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>62</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>63</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>80</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>80</b>
<b>EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU .....</b>	<b>81</b>

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve sonuçlandırılmasına kadar tüm aşamalarında değerli bilgilerini bizlerle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam; Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN'e,

Doktora eğitimim boyunca her zaman yakın ilgi ve bilimsel desteklerini gördüğüm hocalarım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ebubekir BAKAN'a, Prof. Dr. Nuri BAKAN'a, Prof. Dr. F. Zuhale UMUDUM'a, Prof. Dr. Fatih AKÇAY'a, Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a, Prof. Dr. Hülya AKSOY'a, Prof. Dr. M. Sait KELEŞ'e, Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM'a ve Yrd. Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Nezahat KURT'a, Arş. Gör. Fatma Betül ÖZGERİŞ'e, Arş. Gör. Mehmet Ali GÜL'e, Arş. Gör. Özge Nur TÜRKERİ'ye, Arş. Gör. Dr. Engin ŞEBİN'e, Arş. Gör. Ebubekir KARAOĞLU'na, Arş. Gör. Dr. Afife ŞERİFOĞLU'na numunelerimin toplanmasına yardımcı olan Uzm. Dr. Esra Çınar TANRIVERDİ'ye, bu çalışmayı 2013/245 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, bölümümüz sekreteri Keriman ERDEN'e, tüm Anabilim Dalı ve Laboratuvar çalışanlarımıza ve çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan değerli eşime, varlıklarıyla neşe kaynağım olan kızlarıma ve bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Elif POLAT**

## ÖZET

### **Polikistik Over Sendromlu Kadınlarda Nükleik Asit Hasarı: 8-Hidroksi 2'-Deoksi Guanozin Seviyeleri ve Oksidatif Stres Parametreleri**

**Amaç:** PKOS, hiperandrojenizm, oligo/anovulasyon ve ultrasonografik görüntüsünde polikistik yumurtalıkların varlığı ile karakterize endokrin bir bozukluktur. Son yapılan çalışmalarda PKOS'ta oksidatif stresin etkileri üzerinde durulmaktadır. Mevcut çalışmada oksidatif strese bağlı DNA hasar göstergesi olan 8-OHdG seviyelerinin HPLC ile ölçümü ve sonuçlarının oksidan ve antioksidan sistem metabolitleri ile nasıl değiştiğinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Bu çalışmaya PKOS tanısı almış 99 gönüllü hasta ve 47 gönüllü sağlıklı kişi dahil edildi. Alınan kan örneklerinden 8-OHdG seviyeleri HPLC ile MDA, SOD ve GPx analizleri ise spektrofotometrik olarak ölçüldü.

**Bulgular:** 8-OHdG düzeyi ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Antioksidan belirteci olan SOD ve GPx ise hasta grubunda anlamlı olarak düşük bulundu.

**Sonuç:** 8-OHdG ve MDA parametrelerinin PKOS'ta artmış olarak bulunması oksidatif stresin varlığını ve SOD ve GPx parametrelerinin azalmış olarak bulunması ise antioksidan kapasitenin yetersiz olduğunu düşündürmektedir

**Anahtar Kelimeler:** 8-OHdG, GPx, MDA, PKOS, SOD

## ABSTRACT

### **Nucleic Acid Damage in women with Polycystic Over Syndrome: The Levels of 8-Hydroxy-2'-Deoxy Guanosine and Oxidative Stress Parameters**

**Aim:** PCOS is an endocrine disorder, which is characterized by hyperandrogenism, oligo/anovulation, and the presence of polycystic ovaries in ultrasonographical evaluation. The recent studies have focused on the effect of oxidative stress on PCOS. In the present study, it was aimed to investigate the levels of 8-hydroxy-2'-deoxy guanosine, a DNA damage marker, and the relationship between this marker and oxidative stress parameters.

**Material and Method:** The volunteer patients with PCOS (n: 99) and healthy controls (n: 47) were included in the study. In blood samples taken, 8-OHdG and MDA, SOD and GPx were determined by HPLC and spectrophotometric methods, respectively.

**Results:** 8-OHdG and MDA levels were found to be higher in patient group than the levels in controls, which was statistically significant. Low activities of antioxidant markers (SOD and GPx) were determined in the patients when compared with controls.

**Conclusion:** The increased levels of 8-OHdG and MDA in patient group may be caused by oxidative stress, and the low activities of SOD and GPx in the patients by diminished antioxidant capacities in PCOS.

**Key Words:** 8-OHdG, GPx, MDA, PCOS, SOD

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>17OHP</b>	: 17 Hidroksiprogesteron
<b>8-OH guanin</b>	: 8- hidroksiguanine
<b>8-OHdG</b>	: 8-hidroksi2'-deoksiguanozin
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>AES</b>	: Androgen Excess Study
<b>ASRM</b>	: American Society for Reproductive Medicine
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CRP</b>	: C-reaktif protein
<b>CYP-17</b>	: Cytochrome P450-17
<b>DHEA</b>	: Dehidroepiandrosteron
<b>DHEA-S</b>	: Dehidroepiandrosteron sülfat
<b>DHT</b>	: Dihidrotestosteron
<b>ESHRE</b>	: European Society for Human Reproduction and Embryology
<b>FSH</b>	: Folikül stimüle edici hormon
<b>GH</b>	: Growth hormon
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin-releasing hormon
<b>GPx</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>GSH</b>	: Redükte glutasyonu
<b>GSSG</b>	: Okside glutasyon
<b>GST</b>	: Glutation-S-Transferazlar
<b>HPLC</b>	: High Performance Liquid Chromatography
<b>IGF-1</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
<b>IGF-2</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-2

<b>IGFBP-1</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1
<b>İD</b>	: İnsülin Direnci
<b>LH</b>	: Lüteinize edici hormon
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>NICHHD</b>	: National Institute of Child Health and Human Development
<b>NIH</b>	: National Institutes of Health
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>PAI-1</b>	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1
<b>PKO</b>	: Polikistik Over
<b>PKOS</b>	: Polikistik Over Sendromu
<b>PRL</b>	: Prolaktin
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>SHBG</b>	: Seks hormon bağlayıcı globulin
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>SPSS</b>	: Statistical Package for Social Sciences
<b>sT3</b>	: Serbest triiyodotrionin
<b>sT4</b>	: Serbest tiroksin
<b>TNF- <math>\alpha</math></b>	: Homosistein ve tümör nekroz faktör- $\alpha$
<b>TSH</b>	: Tiroid stimulan hormon
<b>tT</b>	: Total testosteron
<b>VKİ</b>	: Vücut kitle indeksi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. İki hücre sistemi .....	8
Şekil 2.2. Östrojen metabolizması.....	12
Şekil 2.3. İnsülin direnci ve hiperinsülinemi.....	14
Şekil 2.4. Polikistik over görüntüsü.....	19
Şekil 2.5. ROT ve antioksidanların etkileri .....	27
Şekil 2.6. Lipit peroksidasyonu .....	29
Şekil 2.7. Malondialdehit.....	29
Şekil 2.8. Hidroksil radikali ile guanin bazının reaksiyonu .....	30
Şekil 2.9. 2-deoksiguanozinin 8-OHdG'ye oksidasyonu .....	31
Şekil 2.10. Antioksidan enzimler ile süperoksit radikalının suya indirgenmesi .....	32
Şekil 3.1. 8-OHdG standart grafiği.....	38
Şekil 3.2. Tetrazolyum tuzun oluşumu.....	41
Şekil 3.3. SOD eğrisi .....	42
Şekil 3.4. GPx eğrisi .....	44
Şekil 4.1. Hasta grubunda TSH ve 8-OHdG/dG x10 <sup>6</sup> arasındaki korelasyon.....	50
Şekil 4.2. Hasta grubunda LH ve DHEAS arasındaki korelasyon .....	50
Şekil 4.3. Hasta grubunda E <sub>2</sub> ve Prolaktin arasındaki korelasyon.....	51
Şekil 4.4. Hasta grubunda TSH ve PRL arasındaki korelasyon .....	51
Şekil 4.5. Hasta grubunda VKI ve PRL arasındaki korelasyon.....	52
Şekil 4.6. Hasta grubunda MDA ve TSH arasındaki korelasyon .....	52
Şekil 4.7. Kontrol grubunda SOD ve PRL arasındaki korelasyon .....	53
Şekil 4.8. Kontrol grubunda SOD ve VKI arasındaki korelasyon.....	53

## TABLolar DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> Polikistik over sendromunda klinik bulguların sıklığı.....	15
<b>Tablo 2.2.</b> Serbest radikal oluşumunu artıran nedenler.....	26
<b>Tablo 2.3.</b> Enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar .....	32
<b>Tablo 3.1.</b> Kullanılan kimyasallar / kitler .....	35
<b>Tablo 3.2.</b> Kullanılan cihazlar/aletler.....	35
<b>Tablo 3.3.</b> MDA ölçümü .....	39
<b>Tablo 3.4.</b> MDA ölçümü .....	40
<b>Tablo 4.1.</b> Hasta ve kontrol grubu demografik özellikleri.....	45
<b>Tablo 4.2.</b> PKOS'lu hastalarda hirsutizm skorlaması .....	45
<b>Tablo 4.3.</b> PKOS'lu hastalarda polikistik over görüntü yüzdesi.....	46
<b>Tablo 4.4.</b> PKOS'lu hastalardaki adet düzeninin yüzdesi.....	46
<b>Tablo 4.5.</b> Hasta ve kontrol grubunda hormon parametreleri .....	47
<b>Tablo 4.6.</b> Hasta ve kontrol gruplarında oksidan ve antioksidan parametreler.....	47
<b>Tablo 4.7.</b> VKI<25 ve VKI≥25 olan kadınların hormon seviyeleri ile oksidan ve antioksidan seviyeleri.....	48
<b>Tablo 4.8.</b> VKI<25 olan PKOS'lu kadınlarda ve kontrol grubunda hormon seviyeleri ile oksidan ve antioksidan seviyeleri.....	49
<b>Tablo 4.9.</b> VKI≥25 olan PKOS'lu kadınlarda ve kontrol grubunda hormon seviyeleri ile oksidan ve antioksidan seviyeleri.....	49

# 1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS), populasyonlardaki sıklıkları farklılık göstermesine rağmen üreme çağındaki kadınlarda sık görülen ultrasonografik polikistik over (PKO) görüntüsünün olması, yumurtlamanın az olması veya olmaması (oligo/anovulasyon) ve kronik hiperandrojenizm bulgularından en az iki tanesinin olması ile tanı konulabilen endokrinolojik bozukluktur. Bu sendromun etiyojisi tam olarak aydınlatılamamıştır.<sup>1,2,3</sup> Ancak son yıllarda insülin direncinin (İD) rolünün ortaya konması, obezite, tip 2 diyabet, dislipidemi, kanser, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar gibi uzun dönemde oluşabilecek sağlık riskleriyle PKOS'un ilişkisinin yapılan çalışmalar ile ortaya konması hastalığın etiopatolojisi hakkında önemli bilgiler elde edilmesini sağlamıştır.

Sendromun etiyojisinde birden fazla faktörün rol aldığı bilinmektedir. Genetik bozukluk bu olası faktörlerden biridir.

Yaşam boyunca kronik rahatsızlıkların önemli sebeplerinden biri olarak serbest radikaller, özellikle oksijen radikalleri gösterilmektedir. Serbest radikallerinin yol açtığı hasar "Oksidatif stres" olarak tanımlanır. Çoğu oksijen kaynaklı serbest radikal kararsız, kısa ömürlü ve yüksek derecede reaktiftir. Lipidler, proteinler, DNA üzerine etki ederek hücre sağlığını ve yaşamını etkiler.<sup>4</sup> Son yıllarda yapılan çalışmalara dayanılarak PKOS'un etiopatogenezinde serbest radikal artışının etkili olduğu bilinmektedir.

Genetik bilgi taşıyıcısı DNA'nın bütünlüğünü korumak, yaşam için çok önemlidir. DNA sürekli olarak, biyopolimerler ile reaksiyona giren endojen ve ekzojen etkenlere maruz kalmaktadır. DNA hasarı, yaşlanma ve kanser gibi pek çok farklı hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır.

Günümüzde radikal etkisiyle hasar görmüş birçok baz ürünü tanımlanmış olup, bunlar içinde en iyi tanımlanmış olanı 8-hidroksi2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'dir.<sup>5</sup>

PKOS tüm dünyada ölümlere neden olmayan ancak hastaların yaşam standartlarını düşüren ve uzun vadede çeşitli ve sürekli sağlık problemlerine yol açan oldukça kompleks bir sağlık sorunu olması dolayısıyla gerek hastalık nedenlerini gerekse tedavi şekillerini araştırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır ve yapılmaya devam edilmektedir.

Bu çalışma ile PKOS tanısı almış bireylerde 8-OHdG seviyelerinin HPLC ile ölçümü ve sonuçlarının oksidan ve antioksidan sistem metabolitleri ile nasıl değiştiğinin araştırılması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Polikistik Over Sendromu

#### 2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen, kronik anovulasyon (yumurtlama olmaması), hiperandrojenizm, adet düzensizliği ve infertilite ile karakterize endokrin bozukluktur.<sup>6,7</sup>

İlk kez 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından yapılan çalışmada, bilateral polikistik overi ve oligo-amenoreesi bulunan yedi hastanın dört tanesinde obezite, beş tanesinde hirsutismus ve bir tanesinde akneiform lezyonlar tanımlanmıştı.<sup>8</sup> 1958'de Ingersoll, McArthur ve Worcester PKOS'lu kadınlarda lüteinize edici hormon (LH)'un seviyelerinin yükselmiş olduğunu ilk olarak tespit ettiler. 1970 ve 1980'lerde yükselmiş LH ve testosteron seviyeleri tanıda kullanılmaya başlandı. 1980'li yıllarda LH ve folikül stimüle edici hormon (FSH) oranlarının LH lehine yükseldiği ortaya kondu. 1981 yılında Swanson tarafından polikistik overlerin tipik ultrasonografik bulgusu tanımlandıktan sonra 1985 yılında, Adams ve ark. PKOS'ta tanı kriteri olarak overlerin ultrasonografik görüntüsünün kullanılabileceğini açıkladı.<sup>9</sup> Daha sonraki yıllarda bu konuda birçok çalışma yapılmış ve polikistik over sendromu, metabolik bir sendrom olarak kabul edildi.<sup>10</sup>

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

PKOS, reproduktif dönemdeki kadınların % 5-10'unu etkilemektedir. PKOS infertiliteye sebep olan anovulatuvar bozuklukların yaklaşık % 75'ini, oligomenoreli kadınların % 90'ını, ve kalıcı akneli olguların % 80'inden ve hirsutismuslu olguların % 90'dan fazlasından sorumludur. Hastalığın oluşumunda birçok faktör tek başına ya da birlikte rol oynayabilir. Yapılan çalışmalarda ailesel yatkınlığın önemli oranda katkısı olduğu üzerinde durulmuştur. PKOS'lu kadınların annelerinde %24-52, kız

kardeşlerinde %32-66 oranında PKOS görülmüştür.<sup>11, 12</sup>

### **2.1.3. Tanı**

Stein ve Leventhal'ın sendromu tanımlamasının üzerinden 80 yıl geçmiş olmasına rağmen sendromun etyopatogenezi ve tanı kriterleri hakkında tartışmalar sürmektedir. PKOS'ın tanısında menstrual disfonksiyon ve hiperandrojenizm iki temel bileşendir.<sup>13</sup>

Ancak sendrom birbirinden farklı tablolar ortaya çıkararak seyredebilir. Bu nedenle PKOS benzeri kliniğe yol açabilecek diğer nedenlerin ekarte edilmesi gereklidir.<sup>14</sup> Hastalığın tanısında tek kriter yoktur, tanı bir kombinasyona dayanır. Laboratuvar, klinik ve ultrasonla belirlenen over morfolojisi tanı konulmasında sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>15</sup> 1990 National Institutes of Health (NIH) Konferansı, PKOS'u açıklanamayan kronik hiperandrojenik anovulasyon olarak tanımlamıştır, yani diğer tanıların ekarte edilmesi yoluyla tanı konmaktadır. Buna karşılık, 2003 yılında düzenlenen bir uzman toplantısında, 1990 NIH kriterleri yeniden gözden geçirilmiş ve öncekine benzer şekilde diğer etyolojik nedenler ekarte edildikten sonra sendrom tanısının aşağıdaki üç kriterden ikisinin birlikteliği ile koyulması önerilmiştir.<sup>16, 17</sup>

#### **“National Institutes of Health” (NIH) 1990 kriterleri<sup>18</sup>**

1. Hiperandrojenizm ve/ veya hiperandrojenemi
2. Oligo veya anovulasyon
3. Polikistik overler ve ilgili diğer hastalıkların tanıdan uzaklaştırılması

“National Institutes of Health, (NIH)” kriterleri daha sonra aşağıdaki şekilde düzenlenmiştir.

#### **Modifiye NIH ve “National Institute of Child Health and Human**

#### **Development” (NICHD) 1990 kriterleri<sup>19</sup>**

1. Androjen fazlalığı. Klinik (örneğin hirsutizm) ve/ veya biyokimyasal

hiperandrojenizm (örneğin yüksek total veya serbest testosteron düzeyleri)

2. Over disfonksiyonu (Oligo-anovulasyon ve/ veya polikistik over morfolojisi)

3. Diğer androjen fazlalığı veya ovulatuvar hastalıkların tanıdan uzaklaştırılması

Polikistik over sendromunun tüm bulgularını göstermesine rağmen ovulatuvar ve düzenli siklusları olan hastaların oranının artması üzerine Rotterdam'da düzenlenen bir konsensüs ("European Society for Human Reproduction and Embryology" (ESHRE) ve "American Society for Reproductive Medicine" (ASRM)) toplantısında Rotterdam 2003 tanı kriterleri oluşturulmuştur.<sup>17, 20</sup>

### **ESHRE/ ASRM Rotterdam 2003 kriterleri<sup>20</sup>**

Ayrıncı tanıya giren diğer hastalıkların olmadığı kanıtlandıktan sonra aşağıdaki kriterlerden ikisi olmalı:

1. Oligoovulasyon veya anovulasyon,
2. Hiperandrojenizmin klinik ve/ veya biyokimyasal bulguları,
3. Polikistik overler.

Rotterdam kriterleri iki PKOS fenotipi tanımlamaktadır:

1. Polikistik overler ile birlikte androjen fazlalığının klinik ve/ veya laboratuvar bulguları mevcut, fakat ovulatuvar disfonksiyon yok
2. Polikistik overler ve ovulatuvar disfonksiyonu mevcut, fakat hiperandrojenizm bulguları yok.

Polikistik over sendromu tanısı için "Androgen Excess Study, AES"de androjen fazlalığının çeşitli yönleri üzerinde durulmuştur. Balen ve Michelmores ultrasonografide izole polikistik over bulguları gösteren fakat PKOS'un diğer klinik veya biyokimyasal özelliklerini göstermeyen ve hiperandrojenizm, anovulasyon ve hiperinsülinemili hastalardan farklı bir grubu tanımlamışlardır.

## **“Androgen Excess Study, AES” kriterleri, 2006**

1. Hiperandrogenizm: Hirsutizm ve/ veya hiperandrogenizm ve
2. Over disfonksiyonu: Oligo- anovulasyon ve/veya polikistik overler ve
3. Diğer androgen aşırılığı veya benzeri hastalıkların tanıdan uzaklaştırılması<sup>12</sup>

### **2.1.4. Etiyoloji**

PKOS'nun etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar PKOS 'lu kadınların birinci derece akrabalarının risk altında olduğunu göstermektedir. Bu şekilde aileler içindeki yoğunluk PKOS'nun hem multifaktöriyel hem de poligenik temeli olduğunu düşündürmektedir. PKOS'na sahip kadınların annelerinde %24-52, kız kardeşlerinde %32-66 oranında PKOS görülmüştür.<sup>3, 11, 12</sup> Ayrıca yapılan çalışmalarda PKOS'lu hastaların ailelerinde hiperandrojenemiye ek olarak insülin direnci ve tip 2 diyabet gelişme sıklığının yüksek olduğu bildirilmiştir.<sup>21</sup>

### **2.1.5. Fizyopatoloji**

Sendromun fizyopatolojisinde gonadotropin dinamiğinde değişiklikler, steroidogenez defektleri, insülin salınım ve etki bozuklukları, kortizol metabolizmasındaki değişiklik sonucu; androjen üretiminin artması beraberinde genetik faktörler ön plana çıkmaktadır.<sup>22</sup>

PKOS'da

1. Hipotalamohipofizer aks
2. Adrenal bez
3. Over
4. Yağ dokusu gibi endokrinolojik organ ve dokuların bozukluğundan kaynaklanan patolojiler mevcuttur.

#### **2.1.5.1. Hipotalamohipofizer Aks, Adrenal Bez ve Over Değişiklikleri**

Normal menstrüel siklusta hipotalamusun arkuat çekirdeğinde yer alan nöron

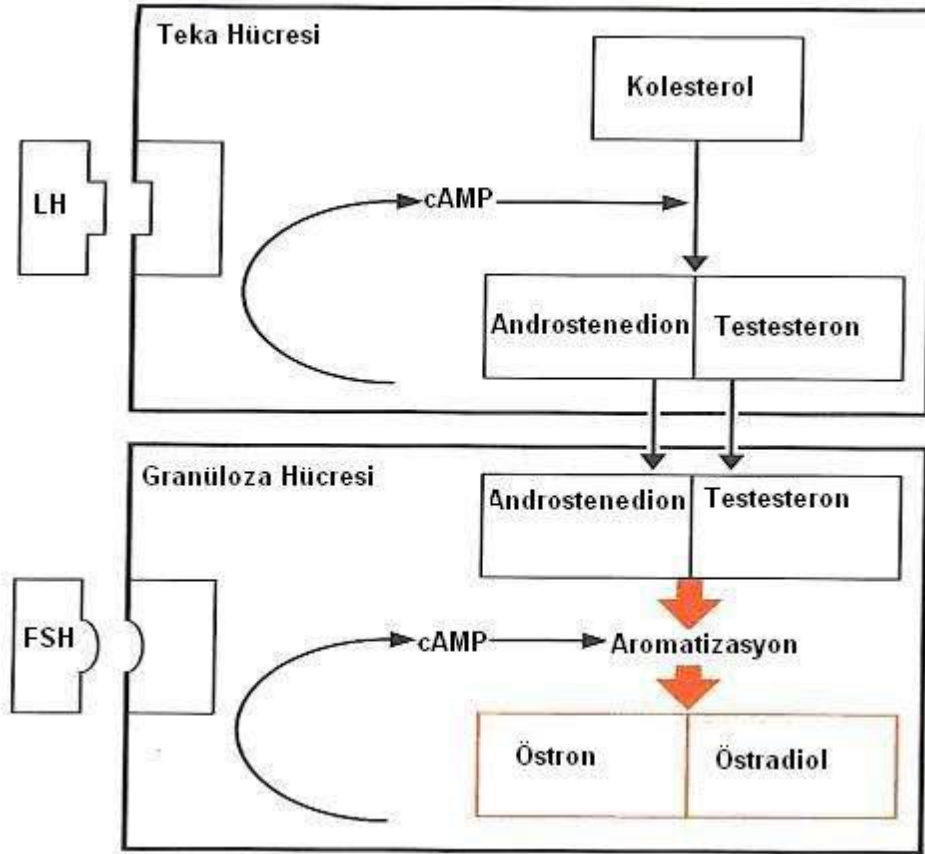
gövdelerinden salgılanan gonadotropin-releasing hormon (GnRH), hipotalamus-hipofiz portal sistemi damarlarına salınır. Daha sonra GnRH ön hipofize taşınır ve iki gonadotropinin, folikül stimulan hormon (FSH) ve lüteinizan hormonun (LH) pulsatil salınımına neden olur. FSH hormonu folikül havuzundan foliküllerin seçiliminde ve foliküler büyümede rol almaktadır. FSH, folikülogenez ve folikül seçilimi ile foliküler atrezinin dengede tutulması açısından oldukça önemli bir role sahiptir ve granüloza hücrelerini stimüle ederek androstenedionun östrona dönüşümünü sağlamaktadır.

Overdeki foliküler büyüme ve steroidogenezdeki olayların sonrasının açıklaması iki hücre sisteminde anlatılmıştır. İki hücre sistemine göre:

- 1- Granüloza hücreleri üzerinde FSH reseptörleri bulunmaktadır.
- 2- FSH reseptörleri FSH'ın kendisi tarafından uyarılmaktadır. LH reseptörleri teka hücreleri üzerinde bulunmaktadır ve başlangıçta granüloza hücreleri üzerinde yoktur. Fakat folikül büyüdükçe FSH, granüloza hücreleri üzerinde LH reseptörlerinin ortaya çıkışını uyarır.
- 3- FSH, granüloza hücrelerindeki aromataz enzim aktivitesini uyarmaktadır.
- 4- Yukardaki etkiler teka ve granüloza hücreleri tarafından salgılanan otokrin/parakrin peptidler tarafından değiştirilmektedir.

Bir primordial folikülde ilk değişim hormonlardan bağımsızdır ve büyümedeki bu ilk basamağa ilişkin uyarın bilinmemektedir. Ancak süregelen büyüme FSH uyarısı üzerine dayanmaktadır. Granüloza FSH'ya yanıt verdikçe büyüme FSH'ın kendisinin özel bir etkisi olan fakat otokrin/parakrin peptidlerce çok belirgin olarak güçlendirilen bir etki olarak FSH reseptörlerinde bir artışla ilişkilidir. Teka hücreleri LH'a yanıt olarak oluşan ve özellikle androjen üretimiyle sonlanan steroidojenik aktiviteyle karakterizedir. Androjenlerin östrojenlere aromatisasyonu FSH tarafından granüloza tabakası içinde uyarılan ayrı bir etkidir. Buna göre teka tabakasında üretilen androjenler

granüloza tabakasına sızmalıdır. Granüloza tabakasında östrojenlere dönüştürülürler ve periferik dolaşımda artan östradiol düzeyleri östrojenin teka tabakasına ve kan damarlarına doğru geri salınımını yansıtır. Şekil 2.1’de gösterilmiştir.<sup>23</sup>



Şekil 2.1. İki hücre sistemi<sup>23</sup>

Teka ve granüloza hücreleri hem otokrin hem de parakrin faktörler olarak çalışan peptidleri salgılar. İnsulin benzeri büyüme faktörü-I teka tarafından salınır ve granülozadaki FSH tarafından yürütülen aromatzasyonla birlikte teka hücrelerindeki androjen üretiminin LH tarafından uyarımını artırır. Transforming growth faktörün teka tarafından üretimi, granüloza hücrelerinin büyümesini ve granüloza üzerindeki LH reseptörlerinin FSH tarafından uyarılmasını destekler. Granüloza hücreleri üzerindeki FSH reseptörlerinin düzenlenmesi göreceli olarak karmaşıktır. FSH; cAMP’ce yürütülen bir mekanizmayla kendi reseptör geninin aktivitesini artırırsa da bu etki epidermal growth faktor, fibroblast growth faktor ve hatta bir gonadotropin releasing

hormon benzeri protein gibi inhibitor ajanlarca etkilenmektedir. Granülozada FSH'ya yanıt olarak inhibin ve aktivin üretilmektedir. Aktivin FSH etkilerini güçlendirmektedir ve inhibin granülozada östrojene aromatisasyon için substrat olarak destek vermek amacıyla tekadaki androjen sentezinin LH tarafından uyarılmasını güçlendirmektedir. Ovulasyondan sonra lüteinleşmiş granüloza tabakasının baskınlığı preovulatar yeterli sayıda LH reseptörünün uyarılmasına ve dolayısıyla yeterli FSH etkisine bağımlıdır. Ovulasyon öncesinde granüloza tabakası; aromatisasyon aktivitesi ve FSH'ca uyarılan bir etki olan teka androjenlerinin östrojenlere dönüşümüyle karakterizedir. Ovulasyondan sonra granüloza tabakası LH'ca uyarılan bir etkiyle, progesteron ve östrojenleri doğrudan kan akımına salar. Granüloza ve teka hücrelerinin her birinde in vitro olarak gösterilebilen bir androjen aromataz sistemi bulunmaktadır. Ancak, in vivo foliküler fazda granüloza tabakasının aktivitesi teka tabakasının aktivitesinden birkaç yüz kat daha büyüktür ve buna göre granüloza, büyümekte olan foliküldeki biyosentetik kaynaktır. Granüloza tabakasındaki aromatisasyon hızı doğrudan teka hücrelerince kullanılabilir hale getiren androjen substratıyla ilgilidir. Sonuçta; ovulasyondan önce folikülden östrojen salınımı LH ve FSH'ın birlikte iki hücre tipini; teka ve granülozayı uyarmasının bir sonucudur. Ovulasyondan sonra iki hücre tipinin “iki hücre sistemi” olarak fonksiyon görmeye devam ettiğine inanılmaktadır. Tekadan kaynaklanan lüteal hücreler androjen üretmeye devam eder ve bu da granüloza hücrelerinde östrojenlere aromatize olur.<sup>23</sup>

LH ise overdeki teka hücrelerini stimüle eder ve androjen yapımını (özellikle androstenedion) sağlar. PKOS'lu hastalarda GnRH salınım frekansında değişiklikler oluşur, FSH seviyesi sağlıklı bireylere oranla daha düşüktür. FSH eksikliği ile antral folikül (küçük yumurta) sayısında artış meydana gelir.<sup>24</sup> Bu foliküllerin büyük bir kısmı olgunlaşmalarını tamamlayamadan duraklamaya giderler.<sup>25</sup> PKOS'lu hastalarda erken

foliküler fazda hipofizer FSH sekresyonu belirgin şekilde düşük tespit edilmiştir.<sup>26</sup> PKOS'da yüksek LH seviyeleri teka hücrelerinde ovaryan androjen üretimini uyarırlar.

Androjenler steroid hormonlardır ve östrojenlerin ortak öncülüdür. Steroid üretimi kolesterol ile başlar ve steroidogenik enzimler sitokrom P450 grubu üyesidir. Sitokrom P450 indirgenmediğinde pigment(450) absorban kaymasından dolayı 450 olarak adlandırılan bir oksidatif enzimler ailesi için jenerik bir isimdir. Androjenler, androjen öncülleri olan dehidroepiandrosteron (DHEA), DHEA sülfat (DHEA-S), ve androstenedion; aktif androjenler olan testosteron ve dihidrotestosteron (DHT) ve androjen metabolitleri olan androstanediol ya da etiyokolanolon ve epiandrosteron oluşmaktadır. Sağlıklı bireylerde androjenler hem adrenal korteksten hem de overlerden salgılanır. Androstenedione ve testosteron üretiminin %25'inin over kökenli, %25'inin adrenal kökenli, %50'sinin de periferel dokularda olduğu tahmin edilmektedir. PKOS'ta androjen üretiminin %60'ı overlerde, %40'ı ise adrenal kaynaklı olmaktadır. DHEAS'ın % 90- 95' i adrenal bezden salgılanır. Bu nedenle DHEAS adrenal androjen üretiminin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.<sup>27</sup> PKOS'lu hastaların yaklaşık yarısında DHEAS düzeyleri yüksek olarak saptanmaktadır.<sup>28</sup>

Adrenokortikotropik hormon (ACTH) stimülasyonu ile DHEAS yanıtının artması, PKOS bulgularının peripubertal dönemde ortaya çıkması ve 17-20 liyaz enzim aktivasyonunun adrenal bezde temel olay olduğunun gözlenmesi nedeniyle PKOS'nun egzajere bir adrenal bez olduğu kavramı ortaya çıkmıştır.<sup>29</sup>

PKOS'da over/adrenal bez steroidogenezi değişiklikler gerçekleşmektedir ve androjenlerin ana kaynağı özellikle androstenedion salgılayan overlerdir. Artmış LH düzeyi overlerde steroidogenezi androjenlerin üretimi yönünde etkiler. Yükselmiş androjen düzeyleri, ekstrapandülar olarak androjen-östrojen dönüşümünü artırırken, seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) sentezini baskılar. Azalan SHBG serbest

östradiol seviyelerini artırır.

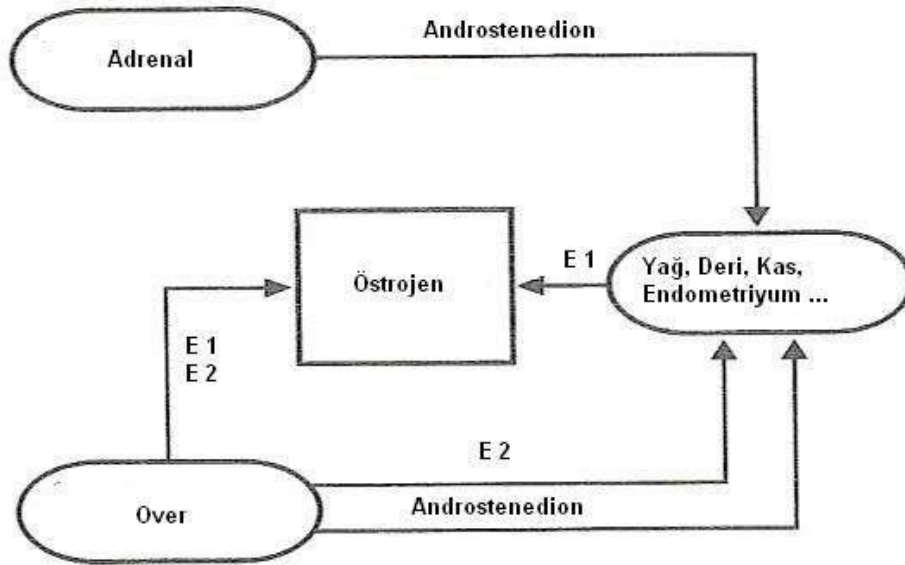
SHBG karaciğerde sentezlenen bir protein olup üretimi E<sub>2</sub> ve tiroksin tarafından stimüle edilirken testosteron tarafından baskılanır. SHBG'deki azalma, serbest testosteron miktarında artmaya neden olmaktadır.<sup>30</sup> Artmış androjenler, over içerisinde normal follikül gelişmesinin engellenmesine katkıda bulunmakta ve prematür atreziyi uyarmaktadır.<sup>31, 32</sup>

Over, PKOS'lu kadınlarda birincil androjen kaynağıdır. Over ve adrenallerde androjen sentezinde görevli bir enzim olan sitokrom P450-17 (CYP-17)'nin regülasyonundaki bozukluk hiperandrojenizme neden olan patolojiden sorumlu olabilir.<sup>33</sup>

PKOS ta önemli iki dokudan biri cilt diğeri de yağ dokusudur. PKOS'da vücut ağırlığındaki artışla ilişkili olarak adipoz dokuda aromataz ve 17-β hidroksilaz enzimi aktivitesi artar ve sonuçta periferik aromatzasyonda artış gerçekleşir.<sup>34</sup> Yüksek serum androjenleri (özellikle androstenedion), periferde östrojenlere (öncelikle östrona) dönüştürülür. Bu olay öncelikle yağ dokusunun gerçekleştiğinden östrojen üretimi obez PKOS olgularında fazla görülmektedir. Büyüyen bir folikül ve hızlı değişen östradiol düzeyleri varlığında gözlenen geri beslemedeki dalgalanmaların aksine bu dönüşüm, hipotalamus ve hipofizin kronik anormal geri beslemesi ile sonuçlanır.<sup>31</sup>

Serbest androjenler, örneğin cilt ve adipoz dokuda periferik olarak serbest östrojenlere dönüştürülür. Adipoz hücrelerin yerleşimi aktivitelerini etkilemektedir. Santral obesitesi olan kadınlar (karın bölgesi) daha fazla androjene sahiptir. Yapılan çalışmalarda; postmenopozal kadınlarda, dolaşımdaki androjenlerden kanama oluşturmaya yetecek düzeyde östrojen sağlanabileceğini göstermiştir.<sup>23</sup> Kadında adrenal bez, özellikle androstenedion olmak üzere dolaşımdaki androjenlerin ana kaynağıdır. Erkeklerde dolaşımdaki östrojenlerin hemen tümü androjenlerin periferik dönüşümünden

kaynaklanmaktadır. Buna göre kadında steroidlerin dolaşımdaki şeklinin over dışındaki çeşitli işlemlerin aktivitesiyle etkilendiği görülebilir. Steroid düzeylerine periferik katkı nedeniyle salgı hızı terimi doğrudan organ salınımına ayrılırken, üretim hızı organ salınımına ek olarak prekürsörün dönüşümü yoluyla olan periferik katkıyı içermektedir. Buna göre kadında dolaşımdaki östrojenler 19 C'lu prekürsörün periferik dönüşümüyle birlikte östradiol ve östronun doğrudan overden salınımının toplamıdır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Östrojen metabolizması<sup>23</sup>

### 2.1.5.2. İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi

İnsülin pankreastaki Langerhans adacıklarının beta hücreleri tarafından üretilen polipeptit yapıda bir hormondur. İnsülinin glukoz metabolizması üzerine etkileri karaciğer, kas ve yağ dokusunda belirgin olarak gözlenir. İnsülin, kas ve karaciğerde hücre membranındaki glukoz taşıyıcılarının sayısını artırarak, glukoz alımını artırır. Karaciğerde glukoneogenez ve glukojenolizi inhibe ederek glukoz üretimini baskımlarken, glukozu kas ve yağ dokusu gibi periferik dokulara taşıyarak glukojen olarak depolanmasını ya da enerji üretmek üzere okside olmasını sağlar. Yağ dokusunda ise hormon duyarlı lipazın aktivitesini inhibe ederek dolaşımdaki yağ asitlerinin düzeyini azaltır. İnsülin, işlevini reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir. İnsülin

reseptörü, 2 alfa ve 2 beta birimlerinden oluşmuş bir heterodimerdir. Alfa birimleri ekstrasellülerdir, insülini bağlar. Beta birimleri ise intrasellülerdir ve tirozin kinaz enzim aktivitesi gösterir. Tirozin kinaz aktivitesi insülin etkisinin büyük çoğunluğundan sorumludur. İnsülin overden östrojen, androjen, progesteron sentezini artırır. Androjenlere olan etkisini insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) üzerinden yaptığı düşünülmektedir IGF-1; serum düzeyi, growth hormon (GH) tarafından düzenlenen bir peptittir. Kanda insülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1 (IGFBP-1) ile taşınır. IGF-1 ve IGF-2'nin reseptörleri farklıdır. IGF-1 reseptörleri ile insülin reseptörleri benzerlik gösterir.

IGF-1, insülin ile ilişkili olarak over fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynar. IGF-2 ise embriyonik ve fetal gelişimde önemlidir.<sup>35,36</sup>

İnsülin direnci (İD), belli bir miktar glukoz için gereken insülin yanıtının olmamasıdır.<sup>37</sup> Başka bir ifadeyle, dolaşımda yeterli konsantrasyonda insülin olmasına rağmen, biyolojik cevabın normalin altında olmasıdır. Normal koşullarda insülin, karaciğerde glukoz yapımını baskılar, kas ve yağ dokusuna glukoz geçişini artırır. İnsüline direnç geliştiğinde ve karaciğerde glukoz yapımı arttığında, kas ve yağ dokusuna glukoz geçişi azalır ve hiperinsülinemi gelişir.<sup>38</sup>

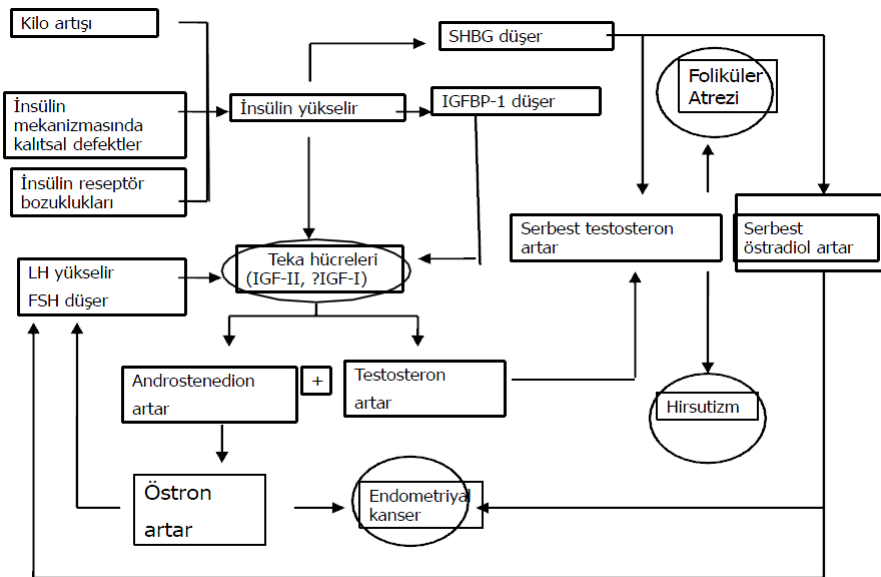
PKOS'da insülin direnci ile ilgili yapılan çalışmalar da insülin reseptörlerinde ileti defekti olduğu gösterilmiştir. Normal koşullarda, insülin, reseptörünün alfa alt birimine bağlandığında hücre içine iletilen sinyal, protein fosforilasyonunu başlatmaktadır. İnsülin direnci olan olgularda tirozin yerine serin fosforile olur ve bu da hücre içinde sinyal iletiminin aksamasına ve insülin etkisinin azalmasına neden olur. Tirozin yerine serin fosforilasyonunun olması adrenal gland ve overde sitokrom P450c 17 $\alpha$  aktivitesini artırarak androjen sentezini uyarır.<sup>39,40,41</sup>

İnsülin, overlerdeki insülin reseptörlerinin ve/veya IGF-1 reseptörlerinin sayısını

artırır ve stimüle eder. Bunun sonucunda steroidogenez, aromataz aktivitesi ve overian gonadotropin reseptörleri artar. IGF-1 reseptörlerinin uyarılması IGF-1 sentezinde artışa neden olur. Artan IGF-1, LH reseptörlerinin sayısını çoğaltır ve LH'nın reseptörlerine bağlanma kapasitesinin artmasına neden olur. IGF Bağlayan Protein-1 (IGFBP-1) de insülin tarafından düzenlenir ve IGF'lerin aktivitesini düzenler. IGFBP- 1, IGF-1'i bağlar ve IGF-1'in etkisini azaltır. İnsülin, IGFBP-1'in sentezini inhibe ederek IGF-1'in etkisinin artmasına yol açar.

Sonuç olarak hiperinsülinemi, IGFBP-1'in sentezini inhibe ederek, IGF-1 'in LH ile birlikte teka hücrelerine sinerjik etki göstermesine neden olur. Bu sinerjik etki ile P450c 17 alfa aktivitesi artarak overian androjen salınımı artar.<sup>42, 43</sup>

Artan insülin düzeyi, karaciğerde Seks Hormonu Bağlayıcı Globulin (SHBG) sentezini inhibe eder. SHBG'nin azalması östrojen ve androjenin daha fazla aktivite göstermesini sağlar.<sup>39</sup>



Şekil 2.3. İnsülin direnci ve hiperinsülinemi<sup>44</sup>

### 2.1.5.3. Polikistik Over Sendromunda Genetik

PKOS'ta ailesel kümelenmenin olması genetik faktörlere yönelmesine neden

olmuştur. Tek başına herhangi bir genetik defekt tanımlanmamıştır. Çevresel faktörlerle beraber çeşitli genetik defektlerin aşırı androjen üretimi ve insülin ile ilgili bozukluklara neden olduğu düşünülmektedir.<sup>45</sup>

Ailesel PKOS ile ilgili çalışmalarda androjen sekresyonu ve insülin metabolizmasını etkileyen genler üzerinde durulmuştur. Yapılan çalışmalarda sitokrom P450-17a sistemini etkileyen ve 17 hidroksilaz, 17-20 liyaz enzim aktiviteleri ile ilişkili olan CYP-17 geni ile yapılmıştır. Genin farklı allellerinin PKOS'tan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

Daha sonra CYP11A geni üzerinde çalışmalar yapılmış ve PKOS'ta majör odak olabileceği öne sürülmüştür.<sup>46</sup>

### **2.1.6. PKOS'ta Klinik, Semptom ve Bulgular**

PKOS'un kliniğinde hastayı kliniğe yönlendiren sebep genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstrual düzensizliklerdir. Oligo-amenoreik periyodlar veya düzensiz uterin kanamalar olabilir. Amenorenin nedeni kronik anovulasyon halidir. Bu düzensiz kanamanın nedeni de sürekli anovulasyona bağlı östrojen miktarının artması ve östrojenin progesteron ile karşılanmamasıdır. Androjen artışına bağlı klinik bulgular hirsutismus, akne, yağlı deri değişiklikleri olabilir. PKOS'taki infertilite, anovulasyona bağlı infertilitenin en sık nedenidir. Hastanın kliniğinde görülen obesite de artmış androjen düzeylerinden kaynaklanmaktadır.

**Tablo 2.1.** Polikistik over sendromunda klinik bulguların sıklığı<sup>47</sup>

<b>Semptomlar</b>	<b>Sıklık</b>
Menstrüel bozukluk	%66
Oligomenore	%47
Amenore	%19
Düzenli menstrual siklus	%30

**Tablo 2.1.** (Devamı)

Anovulatuvar infertilite	<b>%73</b>
Hirsutizm	%48
Obesite	%38

### **2.1.6.1. Hiperandrojenizm**

Hiperandrojenizmin en önemli klinik bulgusu hirsutizmdir. Alopesi (erkek tipi saç dökülmesi) ve akne de hiperandrojenizmin diğer bulgularıdır. Hirsutizm kadınlarda androjen fazlalığına bağlı olarak erkek tipi kıllanma artışıdır. Polikistik over sendromunda hirsutizm tüm olguların %70-%80'ini oluşturur. Kıllanmanın olduğu yerler yüksek androjen seviyesine duyarlı bölgeler; dudak üstü, çene, kulak ön kısmı, göğüs, alt karın ve uyluklardır.<sup>48, 49</sup>

Sirkülasyondaki androjenler, testosteron ve dihidrotestosteron (DHT)'dur. Testosteronun sadece %1'den azı olan serbest testosteron biyolojik olarak aktiftir. Çoğu ise SHBG'e bağlıdır. Androjenler, obezite, progesteron, insülin, hiperprolaktinemi, glukokortikoidler ve artmış büyüme hormonu SHBG'yi azaltır ve serbest testosteron artar. Testosteronun deri ve kıl foliküllerine etkili olabilmesi için 5- $\alpha$  redüktaz enzimi ile DHT'a dönüşmesi gerekir. Kıl foliküllerinin androjenlere duyarlılığı büyük oranda deride ki 5- $\alpha$  redüktaz aktivitesi tarafından yönetilir. İnsülin ve IGF-1 5- $\alpha$  redüktaz aktivitesini uyardığından insülin rezistansı ve hiperinsülinemisi olan hiperandrojenik hastalarda hirsutizm artmaktadır.<sup>50</sup>

### **2.1.6.2. Kronik Anovulasyon**

Kronik anovulasyonda klinik düzensiz menstruel siklus, amenore veya oligomenore şeklindedir. Düzensiz menstruel bozukluk genellikle uzun süren adet görememe dönemi sonunda gerçekleşen aşırı kanamalar şeklinde olur. Oligomenore

veya amenore nedeni sürekli anovulasyona bağlı östrojen miktarının artması ve östrojenin progesteron ile karşılanmamış olmasıdır. Progesteron ile karşılanmayan kronik östrojen endometriyumda aşırı proliferasyon ve damarlanma artışına sebep olur. Progesteron olmadığından endometriyum stromal desteği sağlanamaz, kanamaya meyilli endometriyum tabakası meydana gelir. Ayrıca andojenler bazen atrofik endometriyum oluşturarak östrojenlere ters etki de yapabilirler. Yüksek androjen düzeylerine sahip PKOS'lu hastalarda azalmış endometriyal kalınlık ve amenore de görülebilir.<sup>51, 52</sup>

### **2.1.6.3. İnfertilite**

PKOS, anovulatuvar infertilitenin en sık görülen nedenidir. İnfertilite PKOS'lu olguların % 40-70'inde görülen bir problemdir ve bu hastalarda görülen fertilitte azalmasının sadece anovulasyona bağlı olmadığı; birlikte seyreden oosit ve/veya embriyo kalitesinde azalma, endometrial gelişim kusurları ve implantasyon anomalilerinin bununla ilgili olduğu düşünölmektedir.<sup>53, 54</sup>

### **2.1.6.4. Obezite**

Obezite günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ölkelerin en önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Vücut kitle indeksi (VKİ) en sık kullanılan indekstir ve vücut kitle indeksinin 25 kg/m<sup>2</sup> 'nin üzerinde olması olarak tanımlanır. Obezite sıklıkla bel/kalça oranının arttığı santral obezite tipinde olup, PKOS'lu hastalarda farklı sağlık problemlerine yol açabilir.

PKOS'lu hastalarda android tipte obezite sıkça görölmektedir. Anovulasyonu ve PKOS'u olan kadınlarda obezite sıklığının %50'nin üzerinde olduğu bilinmektedir.<sup>38</sup>

Obezite, periferde androjenlerden östrojenlerin oluşmasında artışa, serbest östradiol ve testosteron düzeylerinin artmasına neden olmaktadır ki bu da SHBG düzeylerinde azalmaya ve overin stroma dokusunda androjen sentezini uyaran insülin

düzeyinde artışa sebep olarak ovulasyonu bozan değişiklikler yapmaktadır. Ancak bu değişiklikler kilo kaybı ile normale dönmektedir.

Obezlerde hiperinsülinemi ve insülin direncinin varlığı ileri yaşlarda Tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalık, hiperlipidemi ve hipertansiyon gelişme riskini arttırmaktadır. Ayrıca bu kilo artışı ve özellikle santral yağ dağılımı endometrium kanseri, meme kanseri ve üreme sistemi ile ilgili pek çok bozuklukla ilişkilidir. Şişman ve obez PKOS'lu kadınlarda spontan ve tedavi ile gerçekleşen gebelik şansı azalmıştır. Gebelikte, hipertansif ve diyabetik gebelik komplikasyonlar, fetal anomaliler ve hatta abortus oluşma riski artmaktadır.<sup>55</sup>

#### **2.1.6.5. Hiperinsülinemi**

PKOS'un patofizyolojisinde insülin direnci ve buna bağlı olarak gelişen hiperinsülineminin önemli bir rolü vardır.

PKOS'lu hastaların %43-76'sında insülin direnci mevcuttur. PKOS'lu hastalarda insülin direnci, insülin sensitivitesindeki azalmanın hücre içinde insülin reseptörü bağımlı sinyal iletiminde meydana gelen defekt nedeniyle oluşur. İnsülin reseptör fosforilasyonundaki genetik defektler neticesinde insülin bağımlı tirozin kinaz fosforilasyonunun azalması ve reseptörde insülin bağımsız olan serin fosforilasyonunda ki artış sonucunda dokularda insülin duyarlılığı azalır ve hiperinsülinemi gelişir.<sup>56</sup>

PKOS'lu hastalarda insülin direnci ve hiperinsülinemi hiperandrojenizm gelişmesinde önemli bir faktördür.

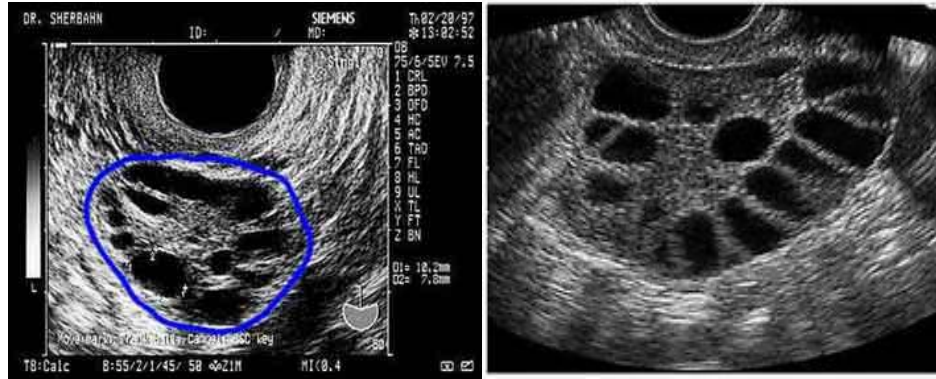
Hiperinsülinemi karaciğerde SHBG üretimini inhibe eder. Ayrıca insülin, overlerde IGF ve insülin reseptörleri üzerinden oluşturduğu etkilerle androjen sentezini artırır ve aromataz enzimini inhibe ederek androjenlerin östrojenlere dönüşümünü engeller. Bu olaylar neticesinde hiperandrojenemi gelişir.<sup>57</sup>

Hiperinsülinemi, hepatik IGFBP-1 sekresyonunu inhibe eder ve IGF seviyesi artar. Artmış olan IGF-1 overlerde androjen üretimini artırır. Ayrıca insülin sitokrom p450-17c alfa enzim aktivitesini artırarak over ve adrenal androjen üretimini artırır.<sup>58</sup>

#### 2.1.6.6. Polikistik Overin Ultrasonografik Olarak Morfolojisi

2003 Rotterdam kriterlerine göre ultrasonografik incelemelerde, overlerde periferik veya rastgele yerleşimli 2-9 mm çapında 12 veya daha fazla folikül bulunması ve/veya over hacminin artması polikistik over olarak tanımlanır.<sup>59</sup>

Menstruel düzeni normal olup ultrasonografide PKO morfolojisi tespit edilen hastaların %80-90'ından fazlasında PKOS'un klinik ve biyokimyasal özelliklerinden biri bulunmaktadır. Ovulatuar fakat PKO görünümlü kadınlarda subfertiliteye ve düşüklere daha fazla rastlanmaktadır. Bu durumun artmış serum LH düzeyiyle ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ultrasonografik PKO görünümü olan fakat klinik veya biyokimyasal PKOS özelliklerinin gözlenmediği kadınların ise PKOS değil polikistik overleri olduğu söylenmesi daha doğru bir tabirdir.<sup>60</sup>



Şekil 2.4. Polikistik over görüntüsü

#### 2.1.7. PKOS'ta Önemli Olan Hormonal, Spesifik Testler

PKOS'un tanısı klinik tabloyla konulabilir. Yapılan laboratuvar testleri ile tek başına tanı konulamaz. Bunun yanında PKOS'un ayırıcı tanısında laboratuvar testleri gereklidir.

Ayrırcı tanıda pitüiter ve adrenal bez hastalıkları, menstrüel düzensizlikler, hiperandrojenizme sebep olan hastalıklar, bazı ilaçlar, androjen salgılayan tümörler göz önünde bulundurulmalıdır. PKOS'ta hiperandrojenizmin kaynağı overlerdir.

DHEA-S, 17 Hidroksiprogesteron (17OHP), serum total testosteron (tT), tiroid stimulan hormon (TSH), serbest triiyodotrionin (sT<sub>3</sub>), serbest tiroksin (sT<sub>4</sub>), FSH, LH, prolaktin (PRL) ölçümleri yapılmalıdır.

PKOS'lu kadınlarda artmış LH seviyesi çok yaygın bir bulgudur.<sup>61</sup> PKOS'lu kadınlardaki gonadotropin profili artmış serum LH seviyesi ve FSH'ın LH'a oranı ile karakterizedir.<sup>62</sup> LH seviyesi ve FSH/LH oranı tanı için gerekli olmasa da bu hastalarda hipotalamik-hipofizer-over aksının bozukluğunun tespitinde önemli bir rol oynar. FSH/LH oranı PKOS tanısında halen tartışma konusudur, çünkü PKOS'lu kadınlarda gonadotropin seviyelerinin ölçümü farklı şartlarda değişik sonuçlara yol açmaktadır.<sup>63</sup>

<sup>64</sup> Testesteronun yarısı androstenedionun periferik dönüşümünden, diğer yarısı da eşit miktarlarda over ve adrenalden salgılanır. Testosteronun, %69'u SHBG'e, bağlı, %30'u albümine bağlı ve % 1'i de serbest haldedir. Serbest halde ki testosteron ve çok az da albümine bağlı testosteron androjen etkisi gösterirler. PKOS'ta serbest testosteron seviyesi yüksektir. Testosteronun hirsütizm ve anovulasyonu olan hastaların yaklaşık %70'inde artmış olduğu gözlenmiştir. Aşırı yüksek testosteron seviyeleri adrenal tümör düşündürdüğü için bu ekarte edilmelidir.<sup>65</sup>

Adrenal kaynaklı androjen üretiminin belirlenmesinde DHEA-S testleri kullanılır. DHEA ve sülfat formunun hemen tamamı adrenal bez tarafından üretilir. DHEA hızla metabolize olduğundan ölçülen değerleri anlamlı olmamaktadır. DHEA-S'nin yarılanma ömrü uzun olduğu için adrenal bez aktivitesini gösterebilir.

Androjenlerin temel kaynağı over olmasına rağmen DHEA-S gibi adrenal androjeler PKOS'lu kadınların %36-%50 sinde yükselmiştir.<sup>66</sup> Androjen seviyesi

yükseldiğinde sorunun over kaynaklı mı yoksa adrenal bez kaynaklı mı olduğunu anlamak için yani konjenital adrenal hiperplazi'yi ekarte etmek için 17 OHP seviyesine bakılmalıdır. Kronik anovulasyon ve hirsutizm bulguları olan bir hastaya 17-OHP testi yapılarak 21-hidroksilaz enzim eksikliğinin varlığı tespit edilerek konjenital hiperplazi ve PKOS'un ayrımı yapılabilir.

Tiroid hastalıklarının ayırıcı tanısında da prolaktin ile ilgili bozukluklar değerlendirmeye alınabilir. PKOS'de hafif-orta düzeylerde prolaktin yüksekliği görülebilir.<sup>67</sup>

PKOS'ta SHBG ve plazma sT seviyelerinin de bakılması önemlidir. Kişide SHBG az ise androjen daha az bağlanır ve androjen fazlalığı olur. Bundan dolayı sT ölçümünün faydalı olabileceğini düşünenler vardır. Ancak sT ölçümü pahalı bir yöntemdir Androstenedion; adrenal bez ve overler tarafından salgılanır, tanı açısından tT'ye benzer özelliktedir. Fakat PKOS tanısında kullanımı hakkında fazla bilgi yoktur. Androstenedion SHBG'e bağlanmadığından tahmini total androjen düzeyini gösterir.<sup>32, 68</sup>

### **2.1.8. PKOS'lu kadınların Uzun Dönemde Karşılaşabilecekleri Sağlık Riskleri**

PKOS'un kadın sağlığıyla ilişkili bu metabolik bir bozukluk olmasından dolayı uzun vadede sağlığı tehdit edecek risklerin gelişmesi muhtemeldir.

#### **2.1.8.1. Dislipemi-Disfibrinojenemi- Koroner arter hastalığı**

PKOS'da lipit profili bozukluğu, obezite, insülin direnci, hipertansiyon ve hiperandrojenizm koroner arter hastalığı için risk oluşturabilirler.

PKOS'lu kadınlarda kardiyovasküler hastalık için hipertansiyon, dislipidemi, diyabet ve obezite gibi klasik risk faktörleri ile C-reaktif protein (CRP), homosistein ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi klasik olmayan risk faktörlerinin prevalansı

artmıştır. Brezilya’da PKOS olan ve olmayan kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada PKOS’lu kadınlarda hipertansiyon riskinin iki kat fazla olduğu tespit edilmiştir.<sup>69</sup>

Dislipidemi riski PKOS’lu kadınlarda hiperandrojenizm ve obesite nedeni ile artan ve yaygın gözlenen metabolik bozukluktur.<sup>70</sup> İnsülin rezistansının dislipidemide anahtar rolü bulunmaktadır. HDL/ LDL oranı azalır ve trigliseridler artar. Artmış trigliserit ve LDL seviyeleri ile azalmış HDL seviyeleri PKOS’ta BMI’nden bağımsız olarak gözlenebilir. Multifaktöryel sebeplerden kaynaklanabilmekle beraber insülin rezistansı aracılığıyla indüklenen lipoliz ve ekspresyonu azalan hepatik lipaz ve lipoprotein lipaz bu değişikliklerde rol oynarlar.<sup>71</sup> Yapılan çalışmalarda PKOS’lu kadınların %70’inde lipid düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur.<sup>72</sup>

İnsülin rezistansı, plazminojen aktivatör sistemin inhibisyonu ve artmış kan basıncı, PKOS ve kardiyovasküler hastalık arasında ki ilişkinin araştırılmasında pozitif delil olarak ele alınmıştır. PKOS’ta fibrinolitik aktivite bozulur. İnsülin artışı ile Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) seviyesi artar. Kilo kaybı ve insülin duyarlılığını artırıcı ajanlar PAI-1 seviyesini azaltır böylece kardiyovasküler hastalık riski azalır. Dislipidemi, santral obezite varlığı, insülin rezistansı ve değişmiş olan androjen/östrojen oranı PKOS’lu hastalarda kardiyovasküler hastalık için risk faktörüdür.<sup>73,74</sup>

### **2.1.8.2. Hipertansiyon**

Üreme çağında ve yeni tanı almış PKOS’lu kadınlarda da hipertansiyon görülebilse de özellikle uzun dönemde risk faktörü olabileceğini destekleyen çalışmalar mevcuttur. Yapılan uzun süreli retrospektif çalışmalarda PKOS geçmişi olan postmenopozal kadınlarda kontrollere göre hipertansiyon açısından belirgin yükseklik tespit edilmiştir.<sup>75</sup> PKOS’lu kadınlarda obezite ve insülin rezistansı nedeniyle hipertansiyon gelişimi riski vardır.<sup>76</sup>

### 2.1.8.3. Metabolik Risk ve Tip 2 Diyabet Riski

PKOS'ta obezite tipik olarak bel/ kalça oranının arttığı santral obezite şeklindedir normal kilodaki PKOS'lu kadınlarda da bu oran artmış olarak bulunmuştur.<sup>77</sup> Viseral yağlanma insülin rezistansı ile ilgili olduğundan PKOS'ta sağlık riskleri, karın çevresi ve kilo artışı ile ilişkilidir. Ayrıca, aşırı santral yağlanma, yüksek trigliserid düzeyleri ve düşük HDL kolesterol düzeyleri ile kötüleşmiş dislipidemik profili yansıtır.<sup>78</sup> Özellikle de, obezitesi olan PKOS'lu hastalarda, metabolik sendrom gelişme riski daha da artmaktadır. Bu nedenle karın çevresi ölçümü, metabolik sendromu öngörebilmek açısından oldukça önemlidir.

PKOS'un esansiyel etiyolojik faktörü olan insülin rezistansı obeziteye katkı sağlar. Obeziteden bağımsız olarak da intrinsik insülin rezistansının görüldüğü çeşitli bulgularla desteklenmiştir. İnsülin reseptör üzerindeki aşırı serin fosforilasyonuna ve post reseptör moleküllerinde defektlerden dolayı oluşan anormaliteler bu bulgulara örnektir. PKOS'taki hücrel ve moleküler insülin rezistans mekanizması Tip 2 diabetes mellitus ve obezitedeki insülin rezistans mekanizmasından farklıdır. Hepatik insülin rezistansı sadece PKOS'lu obez kadınlarda görüldüğü için mekanizma iyi anlaşılmıştır. İnsülin rezistansı aynı zamanda obezite olmaksızın da oluşur. PKOS'lu zayıf kadınlarda prevalansı %75'dir.<sup>79, 80</sup>

PKOS'ta overler tarafından androjen üretiminin artmasıyla ve hepatik SHBG üretiminin azalmasıyla, insülin rezistansı ve hiperinsülinemi gelişir. Bunun sonucunda serbest androjen fazlalığı ortaya çıkar.<sup>81</sup> İlk kez 1987 yılında Dunaif ve arkadaşları PKOS'lu kadınlarda glukoz intoleransının daha fazla olduğunu söylemişlerdir. Sonraki çalışmalarda da %15 tip 2 diyabet olduğu söylenmiştir. Bu oran normal populasyon için %2-3 kadardır. Legro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %7.5 tip 2 diyabet, %31.1 bozulmuş glukoz toleransı olduğu söylenmiştir. Ehrman ve arkadaşları oral glukoz

tolerans testi (OGTT) ile %35 oranında bozulmuş glukoz toleransı tespit etmişlerdir. OGTT bu hastalıkta glukoz toleransı bozuklukların belirlenmesinde ideal bir metottür. Yapılan bu çalışmalara göre etnik kökenin etkisinin olmadığı PKOS'lu kadınlarda tip 2 diyabet riskinin kilo ve yaş kontrollü gruba göre 5-10 kat arttığı sonucuna varılmaktadır. Ayrıca obezite ve aile öyküsü de ekstra risk faktörüdür.<sup>82</sup>

PKOS ve diyabette insülin rezistansı olması aradaki ilişkiyi ortaya koysa da hangi hastada hangi klinik durumun oluşacağı bilinmeyip eş zamanlı ovaryan ve pankreatik defektlerin bu her iki durumun meydana gelmesine neden olduğu düşünülmelidir.

#### **2.1.8.4. PKOS'da Jinekolojik Maligniteler**

PKOS bir ömür boyu süren multisistemik ve multifaktöryel bir bozukluk olarak kabul edildiğinden endometrial, over ve meme kanseri gibi kanserlerin gelişmesinde artmış risk faktörleri ile ilişkili olabileceği araştırılmaktadır.

PKOS'da anovulasyon, endometriumun östrojenin mitojenik etkilerine maruz kalmasına ve progesteronla karşılanamayan bu etkinin sürekli olmasına neden olur. Bu da endometrial hiperplazi ve endometrium kanser riskinin artmasına sebep olur.

PKOS'lu kadınlarda, endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom riskini arttıran temel nedenin uzun süreli karşılanmamış östrojen etkisi olduğu bilinmektedir. Hiperinsulinemi, obezite ve kronik anovulasyon östrojen miktarındaki artışa neden olmaktadır. Fakat PKOS'lu kadınlarda endometriyal kanser sıklığının ya da endometriyal kansere bağlı ölümlerin artmış olduğu gösterilememiştir.<sup>79</sup>

Meme kanseri ve PKOS için risk faktörlerinin klinik belirti ve bulguları oldukça benzer olduğundan PKOS ve meme kanseri arasında pozitif ilişki olabileceği düşünülmektedir. Androjen ve insülin seviyelerindeki artışın meme kanseri riski ile pozitif ilişkili olduğu öne sürülmüştür.<sup>83</sup>

PKOS ve meme kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran önceki çalışmalara göre PKOS'ta meme kanseri için artmış<sup>84, 85</sup> ve azalmış<sup>86</sup> riskler gibi çelişkili sonuçlar rapor edilmiştir.

PKOS'un etiyolojisinin tam olarak anlaşılammış olması, semptomlarının kişiden kişiye farklılık göstermesi, altta yatan hormonal nedenler PKOS ve meme kanseri arasında çelişkili sonuçların elde edilebileceğini düşündürmektedir.

#### **2.1.8.5. Diğer Riskler**

Kardiyovasküler hastalık, metabolik bozukluklar ve onkolojik riskler yanında son yıllarda yapılan çalışmalarda PKOS'lu kadınlarda sağlıklı kadınlara oranla düşük yaşam kalitesi ve depresyon prevalansında artış gözlenmiştir.<sup>87</sup> Devam eden çalışmalarda anksiyetede de artış saptanmıştır.<sup>88</sup>

#### **2.2. Total Oksidan-Antioksidan Sistemler ve Oksidatif Stres**

Oksidan moleküller, organizmada metabolik reaksiyonlarda üretildiği gibi, çevresel faktörler nedeniyle de üretilirler. Üretimleri sonucunda organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana getirirler. Oksidatif stres, oksidan üretiminde artış veya antioksidan kapasitede yetersizlik sebebiyle dengenin bozulması ve dengenin oksidan (serbest radikal) üretimine kayması anlamına gelir.

Serbest radikaller, ekzojen veya endojen kaynaklı olarak meydana gelen oldukça etkili kimyasal faktörlerdir. Serbest radikal oluşumunu arttıran nedenler Tablo 2.2'de gösterilmiştir. Serbest radikallerin çoğu oksijen içerirler ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT) olarak bilinirler. ROT konsantrasyonlarına göre biyolojik sistemler için faydalı ve zararlı olabilirler. Yüksek konsantrasyonları zararlı etkiler meydana getirir; lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerin oksidasyonuna sebep olurlar. ROT membran proteinleri ile reaksiyona girerek proteinlerin fonksiyonlarının bozulmasına ve denaturasyona sebep olabilirler. Lipitler üzerine etkisi ise selüler organel membranı ve

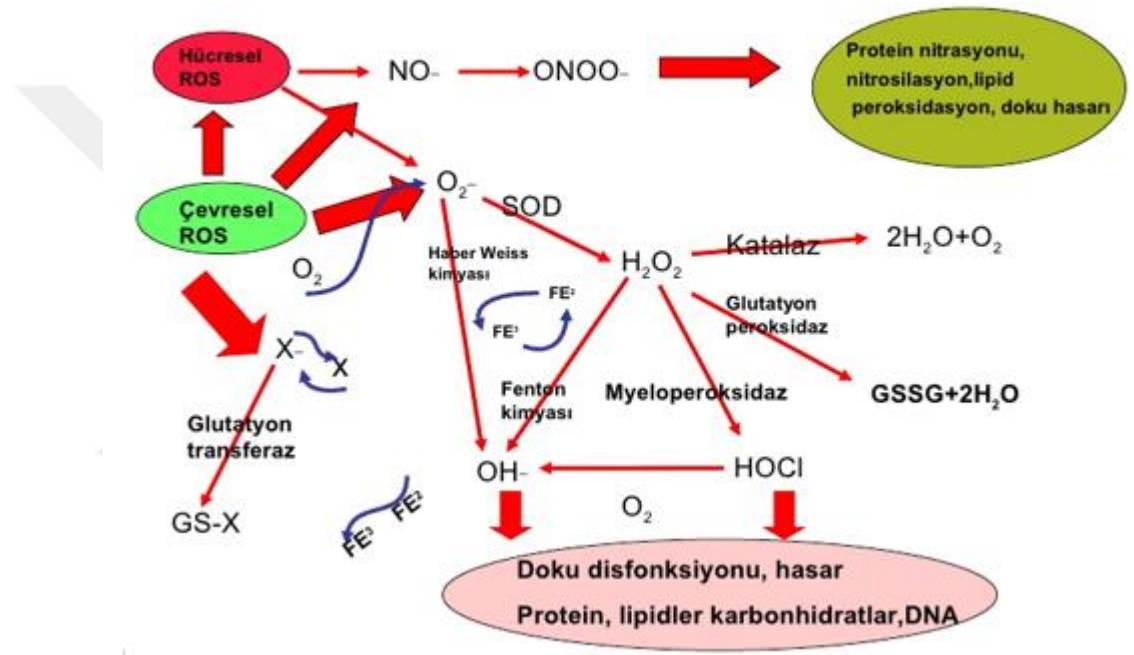
hücre membranında hasara yol açmasıdır. DNA üzerine etkisi ise zincirde kırılmalara ve gen ekspresyonuna sebep olmasındır.<sup>89, 90</sup>

**Tablo 2.2.** Serbest radikal oluşumunu artıran nedenler

<b>Ekzojen Faktörler</b>	<b>Endojen Faktörler</b>
Çevresel (sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon vb.)	Diyet ile antioksidanların alımını etkileyen koşullar (İştahsızlık, kolestaz, malabsorbsiyon vb.)
Diyetsel (aşırı alkol, demir ve bakır alımı, fazla kalorili beslenme-obezite vb.)	Doku hasarı ve kronik hastalıklar (Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon vb.)
İlaçlar (antidepresanlar, kanser ilaçları, glutasyon tüketen ilaçlar vb.)	Fiziksel egzersiz / sedanter yaşam
Virüsler	Stres
	Yaşlılık

Oksijenin, biyolojik reaksiyonlar için önemi büyüktür ancak normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda büyük zararlar verebilmektedirler. Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri kimyasal reaktivitesi oldukça yüksek olan oksijen formlarıdır.<sup>91</sup> Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu eşlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırmaktadır. Protein, lipid, DNA ve nükleotid gibi birçok biyolojik molekülü etkileyerek vücutta hasara neden olmaktadır. Bu zararın yaşlanmada etki gösterdiği, çeşitli kanser türlerine, bağışıklık sisteminde zayıflamaya, diyabete, kalp-damar hastalıklarına, sinir sistemi dejeneratif hastalıklarına sebep olduğuna dair

çalışmalar bulunmaktadır.<sup>92, 93</sup> Serbest radikallerin en önemli kaynaklarından birisi oksijendir. ROT, Süperoksid ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), peroksil radikali ( $ROO^{\cdot}$ ), alkoksil radikali ( $RO^{\cdot}$ ), hidroperoksil radikali ( $ROOH^{\cdot}$ ), ve lipid peroksitleridir.<sup>94,95</sup> Reaktif Azot Türleri (RNT) ise nitrik oksid radikali ( $NO^{\cdot}$ ), azot dioksit ( $NO_2$ ) ve peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot-}$ ) 'ten oluşmaktadır.



Şekil 2.5. ROT ve antioksidanların etkileri<sup>95</sup>

### 2.2.1. Süperoksit Radikalleri ( $O_2^{\cdot-}$ )

Süperoksit radikali, aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur ve zayıf bir oksidandır. En kolay ve en fazla oluşan serbest radikaldir. Oksidatif strese neden olan reaksiyonları başlatabilir.  $H_2O_2$  kaynağıdır.<sup>96</sup>

Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali ( $HO_2^{\cdot}$ ) oluşturmak üzere protonlanır. Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon

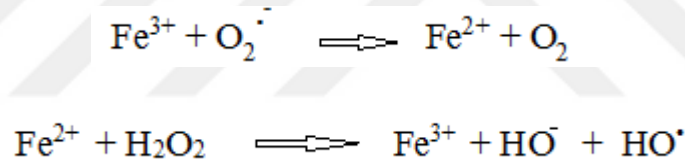
reaksiyonunda moleküler oksijen ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> meydana gelir.

### 2.2.2. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

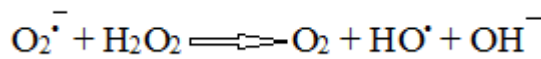
Hidrojen peroksit gerçekte, süperoksidin (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Radikal olmayan ürünler meydana geldiği için bu reaksiyona dismutasyon reaksiyonu denilir, spontan gerçekleşebildiği gibi da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi katalizi ile de gerçekleşebilir.<sup>96</sup> Hidrojen peroksit bir serbest radikal değildir. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikalini (OH<sup>•</sup>) oluşturur.

### 2.2.3. Hidroksil Radikali (OH<sup>•</sup>)

Fe<sup>2+</sup> veya diğer geçiş metallerinin varlığında **Fenton reaksiyonu**



ile süperoksit radikalinin (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) varlığında **Haber-Weiss reaksiyonu**



sonucu oldukça reaktif olan hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>) oluşmaktadır. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır.<sup>96</sup>

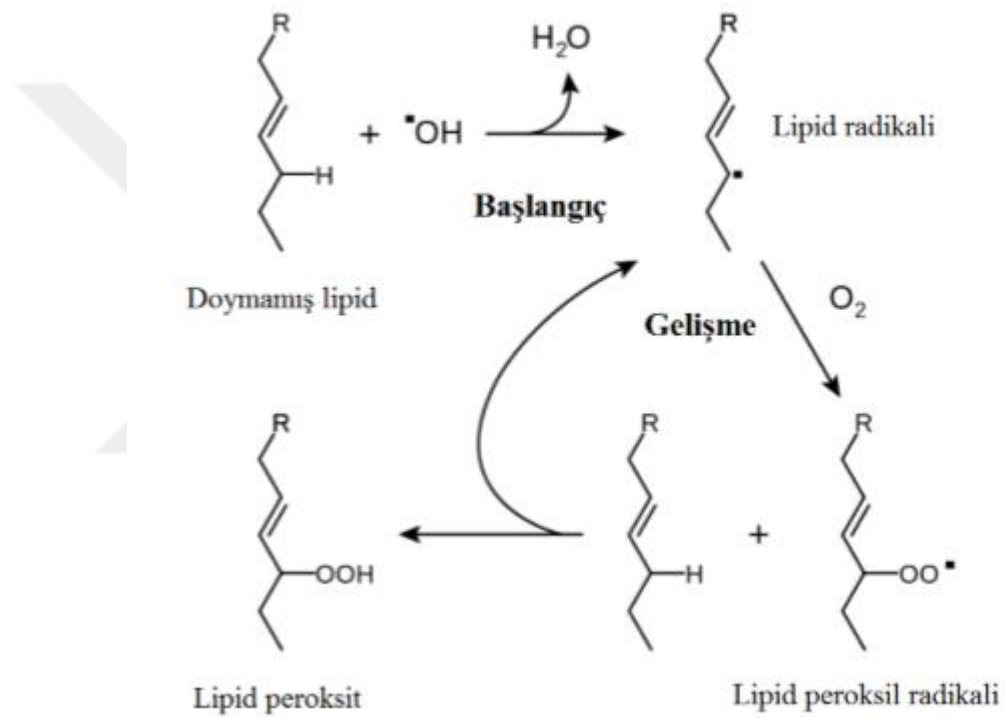
## 2.3. Oksidatif Stresin Proteinler Üzerine Etkisi

Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen türleri veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu meydana gelir. Bu oksidasyon ile proteinin üç boyutlu yapısı bozulur ve sonuçta enzim aktivitesinde azalma, reseptör aracılı endositozda bozulma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör

aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkınlık, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitede artış meydana gelir.<sup>97</sup>

#### 2.4. Oksidatif Stresin Lipidler Üzeine Etkisi

ROT en çok lipitleri etkiler. Lipit çift tabakada bulunan doymamış yağ asitleri serbest radikaller ile reaksiyona girerler ve lipit peroksidasyonuna sebep olurlar ve lipit peroksit oluştururlar (Şekil 2.4.).<sup>98</sup> Lipit peroksidasyonu oksidatif stresin belirlenmesinde kullanılan iyi bir belirteçtir.<sup>99, 100</sup>



Şekil 2.6. Lipit peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan toksik ürünlerden biri de malondialdehit (MDA) tir. MDA yüksek elektrofilik özellik gösterir, yüksek toksisiteye sahiptir, DNA ve proteinlerle reaksiyona girebilir. MDA kararlı ve kullanışlı ölçüm tekniği ile lipit peroksidasyonunun belirlenmesinde sıkça kullanılan bir belirteçtir.<sup>99, 101</sup>



Şekil 2.7. Malondialdehit

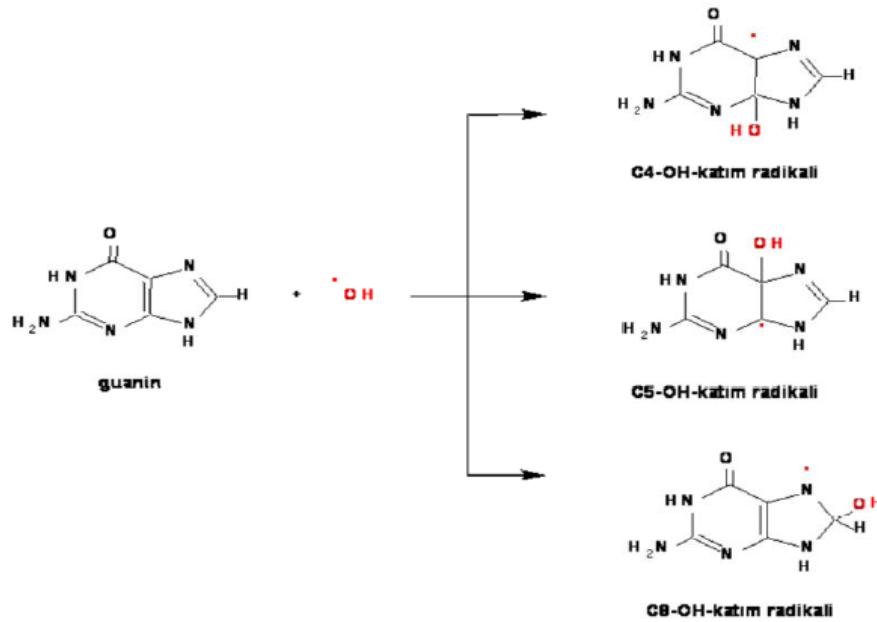
## 2.5. Oksidatif Stresin DNA Üzerine Etkisi

DNA yapısı; endojen, eksojen faktörler ve ROT tarafından hasara uğramaktadır. Oksidatif stres; tek ve çift zincir kırıklarına, deoksiriboz hasarına, DNA-protein çapraz bağlanmasına, kromatin yapısının bozulmasına ve DNA tamir sistemlerinde hasarlara sebep olabilir. Serbest radikallerin DNA üzerindeki etkileri ile mutasyonlar, karsinogenez ve yaşlanmada rol oynadıkları bilinmektedir.<sup>102, 103</sup>

ROT, DNA'da pürin ve pirimidin bazlarında değişikliklere sebep olarak çok sayıda baz hasar ürününün oluşmasına yol açar. ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve  $H_2O_2$  DNA bazları ile reaksiyona girmez. Sadece ( $OH^{\cdot}$ ) radikalleri DNA'daki dört bazdan birine bağlanarak farklı ürünlerin oluşmasında rol alırlar. Guanin bazı hasarın en çok görüldüğü bazdır, iyonizasyonu düşüktür ve oksidasyona yatkındır.<sup>104, 105</sup>

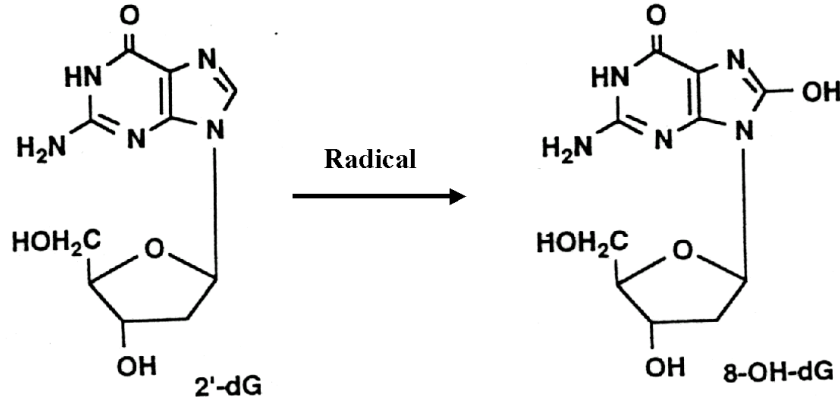
### 2.2.5.1. Guanininin 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozine Oksidasyonu

Guaninin C4, C5, C8 pozisyonlarına hidroksil radikali eklenmesiyle C4-OH-, C5-OH- ve C8-OH- ekleme radikalleri oluşur. ( $OH^{\cdot}$ ) ile guanin bazının reaksiyonu şekilde verilmiştir.



Şekil 2.8. Hidroksil radikali ile guanin bazının reaksiyonu<sup>106</sup>

OH<sup>\*</sup> radikalinin 8. karbona katılmasıyla oluşan katılma ürünü radikali 1 proton ve 1 elektron kaybeder ve 8- hidroksiguanine (8-OH guanin) okside olur.<sup>107</sup> 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ise 8-OH guanin'in deoksiriboz'a bağlanmış halidir.



Şekil 2.9. 2-deoksiguanozinin 8-OHdG'ye oksidasyonu<sup>108</sup>

8-OHdG oksidatif DNA hasarının belirlenmesinde kullanılan, mutajenitesi iyi bilinen duyarlı bir belirteçtir. 8-OHdG'nin 2'-deoksiguanozine oranı genellikle DNA'nın enzimatik ve asidik hidrolizi sonrasında ölçülür.<sup>109</sup> DNA'daki modifiye baz düzeyleri 1 lezyon/10<sup>6</sup> DNA bazı seviyesinde veya daha düşük seviyelerde ölçülebilmektedir.

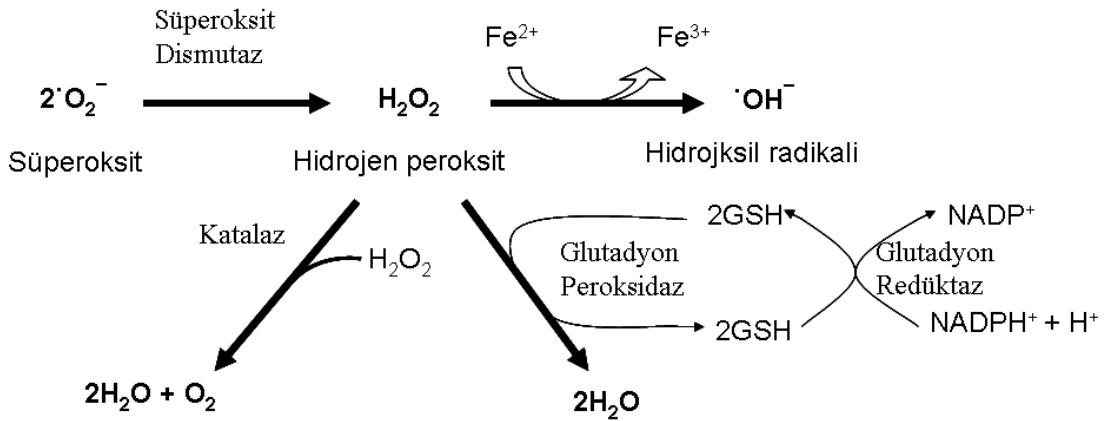
8-OHdG, DNA replikasyonu sırasında sitozin yerine adeninle eşleşerek G:C→T:A mutasyonuna neden olur. DNA üzerindeki 8-OHdG bileşikleri 8-oksoguanin glikozilazlar tarafından kesilerek uzaklaştırılır. Onarım yetersiz olduğu koşullarda hasar kalıcı hale gelir.<sup>110, 111</sup>

## 2.5. Antioksidan Sistemler

Vücutta serbest radikal oluşumunu ve neden olabileceği hasarı engellemek için antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Antioksidan savunma sistemleri ROS'ların aktivitelerini azaltarak, daha zayıf moleküllere dönüştürerek veya hasarlı molekülleri tamir ederek etkilerini gösterirler. Antioksidan savunma sistemleri, enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Tablo 2.3'de Enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar gösterilmiştir.<sup>112 113</sup>

**Tablo 2.3.** Enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar <sup>114</sup>

Enzim antioksidanlar	Enzim olmayan antioksidanlar
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Laktoferrin, Transferin
Katalaz (CAT)	β-karoten, Ürik asit
Glutasyon Peroksidaz (GPx)	Vitamin E, Glutasyon
Glutasyon Redüktaz (GR)	Vitamin C, Melatonin
Glutation-S-Transferazlar (GST)	Selenyum, Bilirubin
	Albümin, Sistein
	Seruloplazmin, Ubikinon



**Şekil 2.10.** Antioksidan enzimler ile süperoksit radikalının suya indirgenmesi<sup>113, 114</sup>

## 2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

### 2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz

SOD süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyerek hücre içinde ilk savunma gerçekleştiren antioksidan enzimdir. Daha sonra SOD enzimi ile oluşan hidrojen peroksit glutasyon peroksidaz ve katalaz enzimi ile suya dönüştürülerek etkisiz hale getirilir.<sup>115</sup>



SOD, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korur. Oksijenin fazla kullanıldığı dokularda SOD aktivitesi yüksektir.

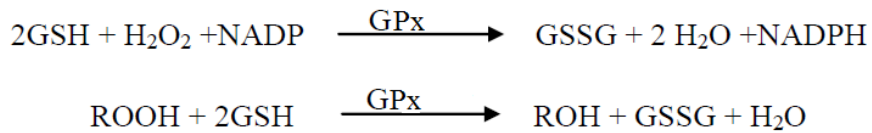
SOD enziminin iki tane izoenzimi vardır.

1. Mitokondride bulunan, tetramerik Mn içeren (Mn-SOD) izoenzim
2. Sitozolde bulunan dimerik bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren (Cu-Zn-SOD) izoenzim

Cu-Zn-SOD izomerinde Cu katalitik olarak aktif kısmıdır. Bu katalitik etkiyi histidindeki imidazol halkası ile etkileşerek gösterir. Reaksiyon için gerekli olan protonlar imidazol halkasından sağlanır.<sup>116</sup>

### 2.5.1.2. Glutasyon Peroksidaz

İlk olarak eritrositlerde tespit edilen glutasyon peroksidaz yüksek miktarlarda sitozolde daha düşük miktarlarda ise mitokondride bulunan tetramerik yapıda bir enzimdir. Yapısında selenosistein bulunur bu nedenle bir selenoproteindir. Katalitik aktivitesi selenyum düzeyi ile ilişkilidir.<sup>117</sup> Enzim hidrojen peroksidin suya dönüştüğü reaksiyonu katalizleyerek glutasyonun sülfhidril grubunu disülfid hale getirerek yükseltmektedir.<sup>118</sup>



Fagositik hücrelerde önemli bir fonksiyonu vardır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikmesine ve hücre hasarına yol açar. GPx peroksitlerin alkollere dönüşümünü katalize ederek; eritrosit, zar lipidleri, hücre zarı, subselluler ve selluler membranların oksidatif etkiden korunmasını sağlar.<sup>119</sup>

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Hasta Seçimi**

Bu çalışma, Aralık 2014 ve Aralık 2015 tarihleri arasında prospektif olarak planlandı. Erzurum Nenehatun Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesine; hirsutizm, infertilite ve adet düzensizliği şikayetleri ile başvuran tüm hastalar PKOS yönünden değerlendirildi. PKOS tanısı, 2003 Rotterdam tanı kriterleri dikkate alınarak oligo-anovulasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm ve polikistik over görüntüsü gibi üç kriterden ikisinin bulunması ile konuldu. Buna göre tiroid hastalığı, hiperprolaktinemisi, Cushing Sendromu, ve diyabet gibi endokrin hastalığı olmayan 99 PKOS'lu hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubuna ise farklı nedenlerle polikliniğe başvuran normoovulator 47 kişi dahil edildi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı. (26.12.2013, Karar No:2) Çalışmaya katılacak tüm kadınlara gönüllü onam formu doldurtularak çalışma hakkında bilgi verildi ve onayları alındı. Ayrıca polikistik over sendrom anamnez formunu doldurmaları istendi. Bu forma göre hastalar hakkında kişisel bilgiler elde edildi. Ayrıca boy uzunlukları, bel çevreleri ve kilo ölçümleri yapılarak forma eklendi.

##### **3.1.2. Numune Alınması ve Numunelerin Hazırlanması**

Çalışma kapsamına dahil edilen hastalardan ve kontrol grubundan bir adet EDTA'lı tam kan tüpüne (8-OHdG ölçümü için) ve 2 adet jelli biyokimya tüplerine venöz kan örnekleri alındı. Biyokimya tüplerine alınan kanlar 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Tüpün bir tanesi Nenehatun Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesinin laboratuvarına bırakıldı ve orada biyokimyasal (glukoz) ve hormonal ( FSH, LH, E<sub>2</sub>, PRL, tT, sT<sub>3</sub>, sT<sub>4</sub>, TSH) analizler yapıldı. EDTA'lı tam kan ve diğer biyokimya tüpünde ki serum ependorflara bölünerek diğer analizlerin (8-OHdG,

MDA, SOD, GPx) çalışılacağı güne kadar -80°C’de derin dondurucuda saklandı.

### 3.1.3. Kullanılan Kimyasallar, Cihaz ve Ekipmanlar

Tablo 3.1’de çalışmada kullanılan kimyasallar, kitler ve bunların temin edildiği firmalar gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan cihaz ve aletlerle ilgili bilgi ise Tablo 3.2’de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Kullanılan kimyasallar / kitler

<b>Kimyasal/Kit adı</b>	<b>Firma</b>
Glutasyon Peroksidaz Ölçüm Kiti	Glutathione Peroxidase Assay Kit / Cayman Chemical
Süperoksit Dismutaz Ölçüm Kiti	Superoxide Dismutase Assay Kit / Cayman Chemical
DNA İzolasyon Kiti	QIAamp DNA Mini Kit (50) / Qiagen
2-Tiyobarbütirik asit (TBA, C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> S)	Sigma
Asetik asit (CH <sub>3</sub> COOH)	Sigma
Sodyum dodesilsülfat (SDS, C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> NaO <sub>4</sub> S)	Merck
Sodyum hidroksit (NaOH)	Merck
Asetonitril	Sigma-Aldrich
Etanol (%96-100)	Sigma
Formik Asit	Merck
1,1,3,3-tetrametoksipropan	Sigma
n-Butanol	Merck
Piridin	Sigma

**Tablo 3.2.** Kullanılan cihazlar/aletler

<b>Cihaz/Alet</b>	<b>Firma</b>
HPLC cihaz	Agilent 1100

**Tablo 3.2.** (Devamı)

İnkübatör	Eppendorf Thermo Stat Plus
Santrifüj	Beckman Coulter
Derin dondurucu (-80°C)	Sanyo
Vorteks	Velp Scientifica
Mikroplate okuyucu spektrofotometre	BioTek
Hormon analizörü Cobas 6000	Roche
Hormon analizörü Immulite 2000	Siemens
96 kuyucuklu mikroplate	Termo
Pipetler (2-20µL, 20-200µL, 100-1000µL)	Ependorf
C 18 ters faz (250 mm*4.6 mm*4.0 µm) HPLC Kolonu	GL Sciences
Vial –kapak septum set	AIM
Magnetik Karıştırıcı	Fisher
Hassas terazi	Denver Instrument
Etüv	Heraeus

### 3.2. Metot

#### 3.2.1. 8-Hidroksi-2'Deoksiguanozin Ölçümü

##### DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu yapmak için Qiagen marka DNA izolasyon mini kit kullanıldı. Ependorflara alınan 2 mL tam kan örnekleri dondurucudan çıkarıldı ve çözümleri beklendi. Çözünen numuneler vortekslenerek homojen hale getirildi. Daha sonra kit prosedürü uygulandı.

Prosedür:

1. 20 µL Proteinaz K 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine pipetlendi.

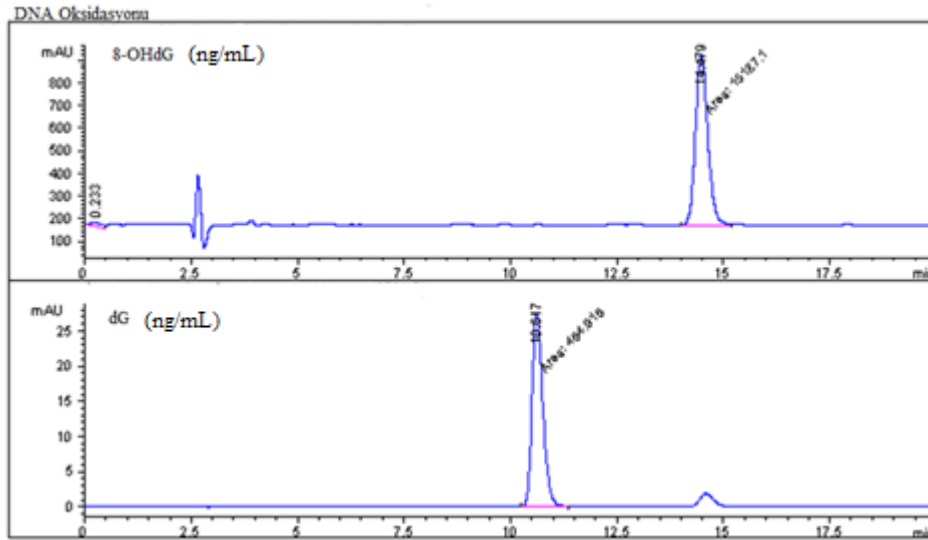
2. 200 µL kan örneği mikrosantrifüj tüpüne eklendi.
3. 200 µL Lysis buffer AL (Lizis tamponu) eklendi ve 15 saniye vortekslendi.
4. 56 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
5. Mikrosantrifüj tüpü çeperinde kalan damlacıkları indirmek için kısa süreli santrifüj yapıldı.
6. 200 µL etanol eklendi ve 15 saniye vortekslendi.
7. Hazırlanan karışım dikkatli bir şekilde altında toplama tüpü içeren spin kolana aktarıldı. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Altta kalan toplama tüpü temiz tüp ile değiştirildi
8. Spin kolona 500 µL buffer AW1 (yıkama solüsyonu) eklendi. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi ve tekrar toplama tüpü değiştirildi.
9. 500 µL AW2 (yıkama solüsyonu) eklendi. 14000 rpm'de 3 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpü değiştirildi.
10. Spin kolondan artıkları çıkarmak için (kolonu kurutmak için) bu kez içindeki kolonla birlikte tüpler boş olarak 16000 rpm'de santrifüj yapıldı ve tekrar temiz tüplerle değiştirildi.
11. 200 µL buffer AE (elüsyon tamponu) eklendi. 15-25 °C'de inkübe edildi daha sonra 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. DNA izolasyonu tamamlanarak çalışılacak numune örnekleri elde edildi.

### **Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile 8-OHdG ve 2'deoksi guanozin (dG) Analizi**

İzole edilen DNA örneklerinden 200 µL alındı ve amber renkli vial tüplere aktarıldı. Üzerine 200 µL formik asit (%60, v/v) ilave edildi ve vialler 150 °C etüvde 30 dakika bekletilerek hidroliz işlemi yapıldı. Vialler soğumaya bırakıldı. Daha sonra formik asiti uzaklaştırmak için -20 °C'de donduruldu ve sonra çözdüdü. Dakikada 1

ml akış hızına sahip olan asetonitril (97: 3, v/v) içeren 0.05 M potasyum fosfat (pH 5.5) tamponundan meydana gelen mobil fazdan 200 µL alınarak viallere aktarıldı ve vialler cihaza aktarıldı.<sup>120</sup>

8-OHdG ve dG seviyeleri elektrokimyasal (HPLC-ECD) ve ultraviyole (HPLC-UV) dedektörlerle HPLC cihazında ölçüldü. dG konsantrasyonu 245 nm'de UV dedektörde ölçüldü. 8-OHdG ise elektrokimyasal dedektör (600 mV) ile ölçüldü. HPLC analizinden dG ve 8-OHdG miktarları, sigma marka dG ve 8-OHdG standartları kullanılarak belirlendi. DNA hasarı göstergesi olarak 8-OHdG/dG  $\times 10^6$  olarak verildi.<sup>(108, 110).</sup>



Şekil 3.1. 8-OHdG standart grafiği

### 3.2.2. Malondialdehit Ölçümü

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın ölçüm prensibi, MDA ile tiyobarbitirik asitin (TBA) reaksiyonu sonucunda oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de absorpsiyonunun ölçülmesi dayanmaktadır.<sup>121</sup>

#### Kullanılan Çözeltiler:

1. TBA Çözeltisi (% 0.9): 0.9g TBA bir miktar saf suda hafifçe ısıtılarak çözünür (daha kolay çözünmesi için bir kaç damla NaOH çözeltisi ilave edilebilir),

hacim 100 mL'ye tamamlanır. Çalışmadan hemen önce taze olarak hazırlanmalıdır.

2. Piridin/n-Bütanol Çözeltisi (1/15): 30 mL 1-bütanole 2 mL piridin eklenerek hazırlanır.
3. SDS Çözeltisi (% 8.1): 4.05 g SDS saf suda çözünür, hacim 50 mL'ye tamamlanır.
4. Asetik Asit Çözeltisi (% 20): %100'lük asetik asitten 20 mL alınır ve son hacim saf suyla 100 mL'ye tamamlanır.
5. Stok Standart Çözeltisi (200 µM): 1,1,3,3-tetraetoksipropandan 25 µL alınıp 500 mL saf suda karıştırılarak çözünür. Taze hazırlanmalıdır. Seri dilüsyonla stok standarttan 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, ve 0 (saf su kullanılır) µM'lik standartlar hazırlanır.

### MDA Ölçümü

Dondurucudan çıkarılan serumlar tamamen çözdürüldü ve vortekslendi. 2mL'lik ependorflara Tablo 3.3'deki çözeltiler pipetlendi.

**Tablo 3.3.** MDA ölçümü

	<b>Numune</b>	<b>Standart</b>	<b>Kör</b>
	<b>Tüpü</b>	<b>Tüpü</b>	<b>Tüpü</b>
<b>SDS %8,1</b>	50 µL	50 µL	50 µL
<b>Asetik Asit %20</b>	375 µL	375 µL	375 µL
<b>TBA %0,9</b>	375 µL	375 µL	375 µL
<b>Numune</b>	50 µL	-	-
<b>Standart</b>	-	50µL	-
<b>Distile su</b>	175 µL	175 µL	225 µL

Ependorflar vortekslendi ve inkübatörde 95°C’de 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler, fazlar karıştırılmadan, çeşme suyu altında soğutuldu. Her bir ependorfun süpernatantından 500 µL alınarak temiz bir ependorfa aktarıldı. Her bir ependorfa aşağıdaki pipetlemeler yapıldı:

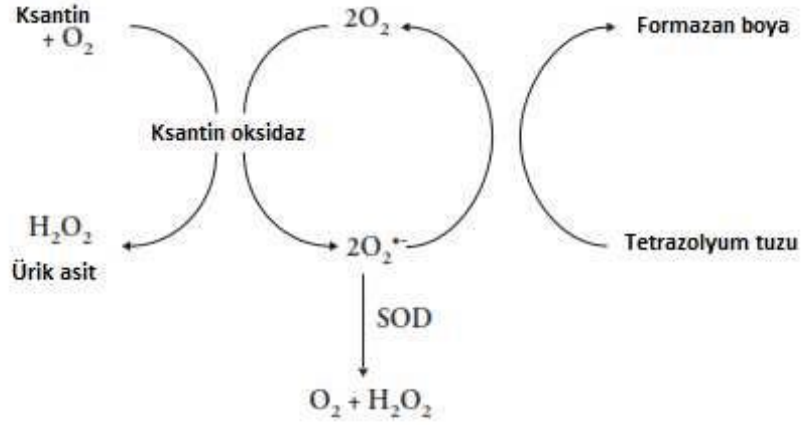
**Tablo 3.4.** MDA ölçümü

	<b>Numune</b>	<b>Standart</b>	<b>Kör</b>
	<b>Tüpü</b>	<b>Tüpü</b>	<b>Tüpü</b>
Distile su	37.5 µL	37.5 µL	37.5 µL
n-Bütanol/piridin	187.5 µL	187.5 µL	187.5 µL

Ependorflar vortekslendi, 3500 rpm’de 10 dakika santifüj edildi. Fazlar karıştırılmadan üst fazdan 200 µL alınarak mikropate kuyucuklarına pipetlendi ve mikropate okuyucuda 532 nm’de köre karşı absorbanlar okundu. Standart grafik yöntemi ile cihazın yazılım programı (KC Junior) kullanılarak numunelerin konsantrasyonları hesaplandı. Konsantrasyon µmol/L olarak ifade edildi.

### **3.2.3. Süperoksit Dismutaz Ölçümü**

SOD ölçümü için Cayman (A.B.D.) marka ticari kit kullanıldı. Ksantin oksidaz enzimi ksantinden ürik asit oluşumunu katalizler. Oluşan süperoksit (O<sub>2</sub>) radikali, süperoksit dismutaz enzimi ile moleküler oksijen ve hidrojen peroksiti oluşturur. Oluşan süperoksit, SOD enziminin etkisinin yetersiz kaldığı durumlarda tetrazolyum tuzu ile reaksiyona girerek formazan boyasını oluşturur ve SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür.



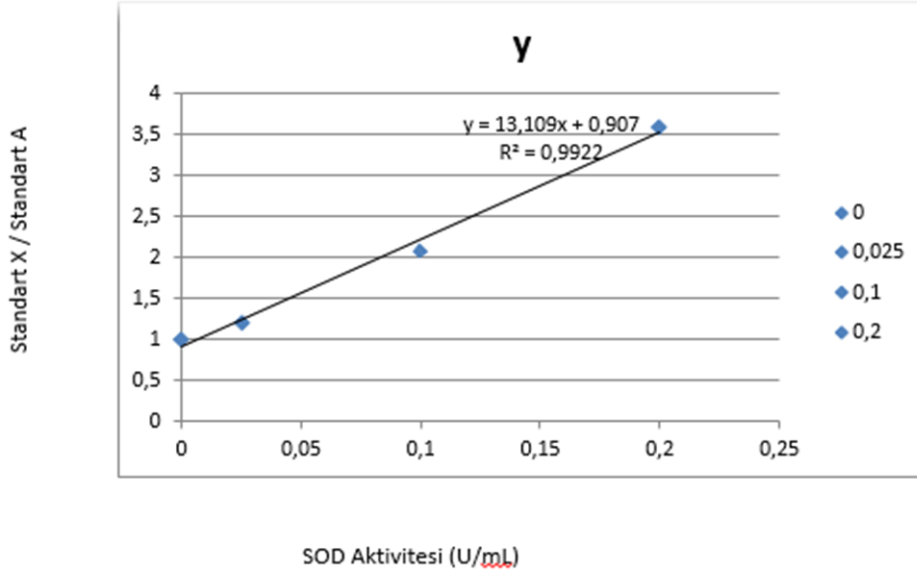
**Şekil 3.2.** Tetrazolyum tuzun oluşumu

### Test prosedürü

1. Tetrazolyum içeren radikal detektörden mikroplate'in standart kuyucuklarına 200  $\mu$ L pipetlenir.
2. Standartlardan sonra numune kuyucuklarına 200  $\mu$ L radikal detektör pipetlenir.
3. Numune ve standart kuyucuklarına 20  $\mu$ L ksantin oksidaz eklenir.
4. Mikroplate üzeri kapatılarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır.
5. İnkübasyon sonunda 440-460 nm'de absorbans ölçümü yapılır.

### Hesaplama

Körün absorbansı, standartların ve örneklerin absorbanslarına bölündü. Doğrusal oranlar (LR) elde edildi ve oluşturulan bu yeni değerler ile grafik oluşturuldu. Elde edilen eğrinin değerleri ile örneklerin SOD konsantrasyonu (U/ml) hesaplandı.



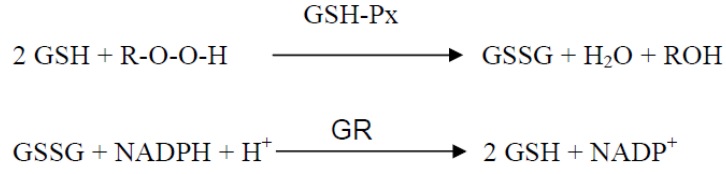
Şekil 3.3. SOD eğrisi

$$\text{SOD (U/mL)} = \left[ \left( \frac{\text{örnek doğ. oran} - y \text{ kesişim}}{\text{eğim}} \right) \times \frac{0,23 \text{ mL}}{0,01 \text{ mL}} \times \text{numune dilüsyonu} \right]$$

Denklemden doğrusallaştırılmış değerler (sample LR) kullanıldı. Oluşturulan grafiğin sabit değeri (y-intercept) ve eğimi (slope) kullanıldı. 0.23ml kuyucuğa konulan toplam hacim, 0.01ml ise örnek hacmidir.

### 3.2.4. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü

GPx ölçümü için Cayman marka ticari kit kullanıldı. GPx enzimi hidrojen peroksidin su ve singlet oksijene çevrilmesini katalizler ve bunuda redükte glutasyonu (GSH) okside glutatyon (GSSG) çevirerek gerçekleştirir. GSSG oluşum hızı GPx enziminin aktivitesini göstermektedir. GSSG'nin glutasyon redüktaz enzimi ile tekrar GSH'a dönüştürülmesi esnasında ortamda bulunan indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kullanılır. Ortamdaki NADPH'nin oksidasyonu 340nm dalga boyundaki absorbanı düşürür ve bu absorban farkı ile GPx aktivitesi belirlenir.



### Test Prosedürü

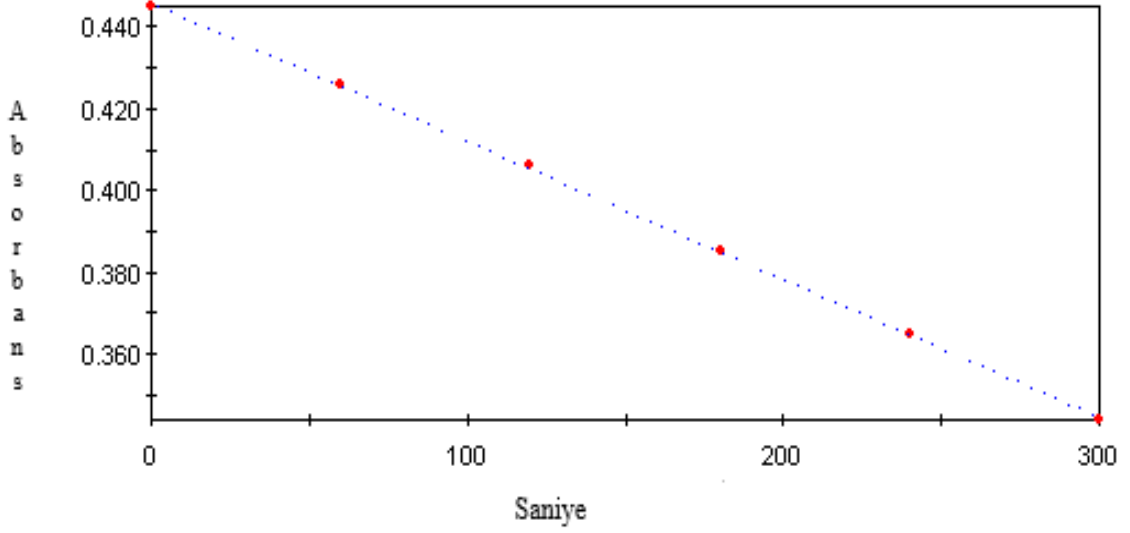
1. Kör: 5mM EDTA içeren, pH 7.6 olan 50mM Tris-HCl tamponundan (Assay buffer) ve 120 µL ve NADPH, glutatyon, glutatyon redüktaz içeren karışımdan (Co-substrate mixture) 50 µL alınarak üç adet kuyucuğa pipetlenir.
2. Pozitif Kontrol: 100 µL Assay buffer, 50 µL Co-substrate mixture ve 20 µL GPx kontrol çözeltisinden üç adet kuyucuğa pipetlenir.
3. Numune: 100 µL Assay buffer, 50 µL Co-substrate mixture ve 20 µL numunelerden kuyucuklara pipetlenir.
4. Reaksiyonu başlatmak için 20 µL hidroperoksit bütün kuyucuklara pipetlenir.
5. Mikroplate birkaç saniye dikkatlice çalkalanır.
6. 340 nm'de kinetik okuma yapılır.

### Hesaplama

Kör, kontrol ve numunelerin her bir dakikadaki absorpsanları ( $\Delta A_{340}$ ) ölçülerek kaydedilir. Ardından kaydedilen absorpsan değerleri kullanılarak aradaki absorpsan farkı bulunur ve bu değer ile GPx aktivitesi hesaplanır.

$$\Delta A_{340} / \text{dk} = \frac{|A_{340}(\text{Zaman2}) - A_{340}(\text{Zaman1})|}{\text{Zaman 2}(\text{dk}) - \text{Zaman 1}(\text{dk})}$$

$$\text{GPx aktivite} = \frac{\Delta A_{340} / \text{dk}}{0.00373 \mu\text{M}^{-1}} \times \frac{0.19 \text{ ml}}{0.02 \text{ ml}} \times \text{numune dilüsyonu} = \text{nmol/dk/ml}$$



Şekil 3.4. GPx eğrisi

### 3.2.5. Hormon Parametrelerinin Ölçümü

FSH, LH, DHEAS, E<sub>2</sub>, PRL, tT ölçümü Siemens Immulite 2000 analizöründe kemilüminesans yöntem ile yapıldı.

TSH, sT<sub>3</sub>, sT<sub>4</sub> ise Roche Cobas 6000 analizöründe elektrokemilüminesans yöntemiyle ölçüldü.

### 3.2.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 20.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken sonuçlar Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart sapma (SD) olarak verildi. Kolmogorov-Smirnov Z testine göre normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında parametrik testlerden Independent Samples T testi ve Pearson corelasyon, normal dağılım göstermeyen veriler için ise nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi ve Spearman corelasyon uygulandı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$ , çok anlamlılık ise  $p < 0.001$  olarak değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmaya PKOS'lu 99 hasta ve 47 sağlıklı kişi dahil edilmiştir.

Hasta ve sağlıklı kontrol grubunun demografik özellikleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Hasta ve kontrol grubu demografik özellikleri

Değişken	Hasta grubu ( $\bar{x}\pm SD$ )*	Kontrol grubu ( $\bar{x}\pm SD$ )*	p değeri
Yaş (yıl)	22.45±5.15	22.46±3.95	0.987
Kilo (kg)	67.70±18.91	59.02±8.79	0.003
Boy (cm)	159.85±15.57	162.04±4.69	0.028
Bel çevresi (cm)	84.91±15.57	72.87±7.70	0.000
VKİ ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	26.41±6.83	22.35±3.17	0.000

\* $\bar{x}\pm SD$ : ortalama±standart sapma

VKİ ile kilo, boy ve bel çevresi ölçümleri PKOS'lu hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı derecede farklı idiler. (sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ )

Hirşütizm değerlendirilmesi Ferriman–Gallwey Skorumaya Sistemine uygun olarak yapıldı.

**Tablo 4.2.** PKOS'lu hastalarda hirşütizm skorlaması

Hirşütizm	Hasta grubu %	Kontrol grubu %
0.derece	32.3	0
1.derece	42.4	0
2.derece	25.3	0

Hirşutizm skorlaması yapılan hastalarda 0. derece, 1. derece ve 2. derece olarak belirlenen skorlamaya göre hastaların %32.3'ü 0.derece, %42.4'ü 1.derece ve %25.3'ü de 3.derece olarak belirlendi.

**Tablo 4.3.** PKOS'lu hastalarda polikistik over görüntü yüzdesi

USG	Hasta grubu	Kontrol grubu
	%	%
<b>1.derece PKO</b>	81.8	0
<b>2.derece PKO</b>	18.2	0

Hastalara yapılan ultrasonografik görüntüleme de 12 adete kadar olan kist görüntüleri 1.derece PKO, 12'nin üzerinde kist görüntüsüne sahip PKOS'lular da 2.derece PKO kabul edildi. Çalışmaya dahil edilen kadınların %81.8'i 1.derece PKO'lu ve %18.2'sinin 2.derece PKO'lu olduğu bulundu.

**Tablo 4.4.** PKOS'lu hastalardaki adet düzeninin yüzdesi

Adet düzeni	Hasta grubu	Kontrol grubu
	%	%
<b>Normal</b>	22.2	85.1
<b>Oligomenore</b>	65.7	0
<b>Polimenore</b>	1	12.8
<b>Metroraji</b>	11.1	2.1

Çalışmaya katılan PKOS'lu kadınlar arasında %22.2 normal adet kanaması olan, %65.7 oligomenoreli (seyrek adet görme), %1 polimenoreli (sık adet görme) ve %11.1 metrorajili (düzeni belli olmayan kanama) kadın olduğu belirlendi.

Kontrol grubunda ise %85.1 normal adet düzenine sahip kadın %12.8 polimenoreli kadın ve %2.1'de metrorajili kadın olduğu belirlendi.

**Tablo 4.5.** Hasta ve kontrol grubunda serum hormon seviyeleri

Parametreler	Hasta grubu	Kontrol grubu	p değeri
<b>FSH (mIU/mL)</b>	5.42±2.49	5.18±3.10	0.624
<b>LH (mIU/mL)</b>	7.97±5.91	5.47±4.11	0.015
<b>E<sub>2</sub> (ng/L)</b>	80.51±62.38	101.24±78.89	0.088
<b>PRL (ng/mL)</b>	12.62±6.44	12.44±15.14	0.030
<b>DHEAS (µg/dL)</b>	234.59±88.89	194.50±79.75	0.009
<b>tT (ng/dL)</b>	40.28±22.28	29.63±12.17	0.003
<b>TSH (mIU/mL)</b>	2.37±1.14	1.97±0.71	0.028
<b>sT<sub>3</sub> (pg/mL)</b>	3.25±0.54	3.05±0.41	0.003
<b>sT<sub>4</sub> (ng/dL)</b>	1.20±0.27	1.24±0.16	0.349
<b>LH/FSH</b>	1.57±1.11	1.09±0.68	0.007

Yapılan hormon analizlerinde serum LH, PRL, DHEAS, tT, TSH ve sT<sub>3</sub> düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ).

FSH hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksekti ancak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). E<sub>2</sub> ve sT<sub>4</sub> hasta grubunda kontrol grubuna göre düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ )

**Tablo 4.6.** Hasta ve kontrol gruplarında oksidan ve antioksidan parametreler

Parametreler	Hasta grubu	Kontrol grubu	p değeri
<b>8-OHdG (8-OHdG/dG)</b>	1.92±0.81	0.45±0.15	0.000
<b>MDA (nmol/mL)</b>	10.51±4.85	6.37±2.90	0.000
<b>SOD (U/mL)</b>	27.87±14.62	40.06±21.20	0.000
<b>GPx (nmol/min/mL)</b>	103.39±15.95	111.84±19.81	0.006

Hasta grubunda 8-OHdG ve MDA seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0.01$ ).

SOD ve GPx hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0.01$ ).

**Tablo 4.7.** VKI<25 ve VKI≥25 olan kadınların hormon seviyeleri ile oksidan ve antioksidan seviyeleri

Parametreler	VKI<25 olan PKOS'lu kadınlar n=52 x±SD	VKI≥25 olan PKOS'lu kadınlar n=47 x±SD	p değeri
FSH (mIU/mL)	5.54±2.17	5.28±3.10	0.612
LH (mIU/mL)	8.53±6.16	7.35±5.62	0.325
E <sub>2</sub> (ng/L)	76.17±58.18	85.32±67.02	0.469
PRL (ng/mL)	14.11±7.54	10.97±4.49	0.054
DHEAS (μg/dL)	225.80±74.86	244.31±102.10	0.303
tT (ng/dL)	37.16±16.92	43.74±26.77	0.143
TSH (mIU/mL)	2.43±1.19	2.30±1.08	0.670
8-OHdG (8-OHdG/dG)	1.86±0.68	1.98±0.93	0.471
MDA (nmol/mL)	10.30±4.71	10.74±5.03	0.652
SOD (U/mL)	29.39±12.67	26.18±16.49	0.276
GPx(nmol/min/mL)	103.29±16.62	103.49±15.35	0.951

Hasta grubunda VKI<25 olan ve VKI≥25 olan kadınlar arasında hormon ve oksidan/antioksidan parametreler arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

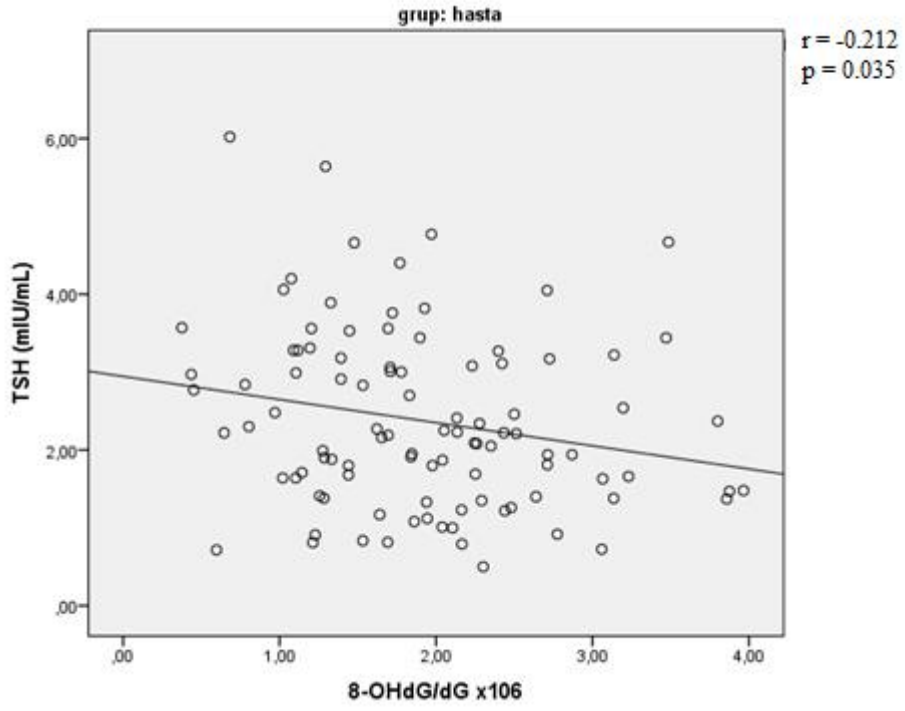
**Tablo 4.8.** VKİ<25 olan PKOS'lu kadınlarda ve kontrol grubunda hormon seviyeleri ile oksidan ve antioksidan seviyeleri

Parametreler	VKİ<25 olan PKOS'lu kadınlar n=52 x±SD	Kontrol grubu n=47 x±SD	p değeri
FSH (mIU/mL)	5.54±2.17	5.18±3.10	0.505
LH (mIU/mL)	8.53±6.16	5.47±4.11	0.010
E <sub>2</sub> (ng/L)	76.17±58.18	101.24±78.89	0.073
PRL (ng/mL)	14.11±7.54	12.44±15.14	0.054
DHEAS (µg/dL)	225.80±74.86	194.50±79.75	0.047
tT (ng/dL)	37.16±16.92	29.63±12.17	0.023
TSH (mIU/mL)	2.43±1.19	1.97±0.71	0.022
8-OHdG (8-OHdG/dG)	1.86±0.68	0.45±0.15	0.000
MDA (nmol/mL)	10.30±4.71	6.37±2.90	0.000
SOD (U/mL)	29.39±12.67	40.06±21.20	0.003
GPx(nmol/min/mL)	103.29±16.62	111.84±19.81	0.017

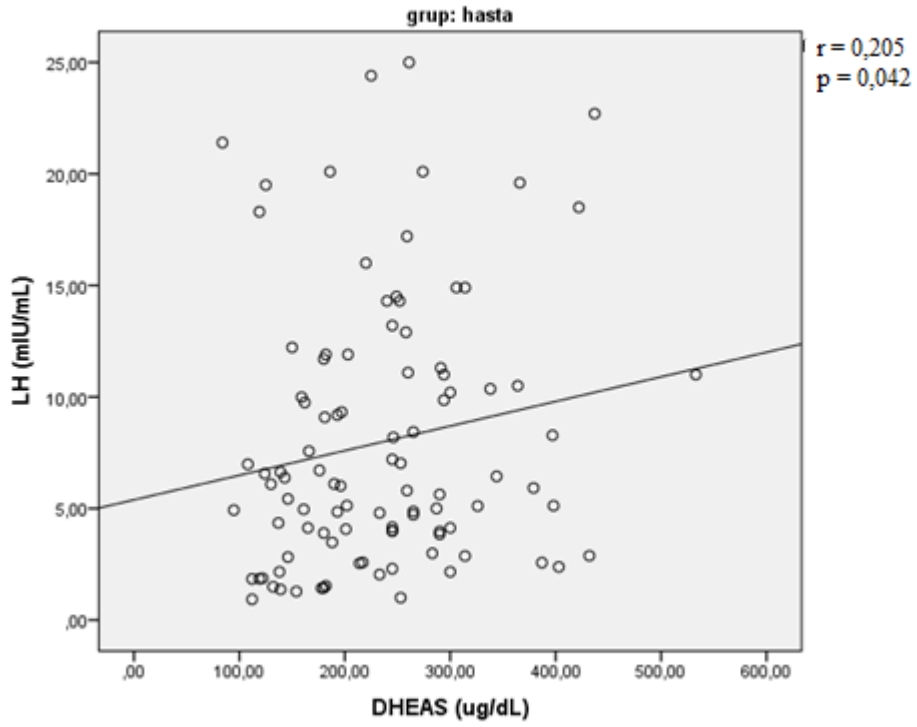
**Tablo 4.9.** VKİ≥25 olan PKOS'lu kadınlarda ve kontrol grubunda hormon seviyeleri ile oksidan ve antioksidan seviyeleri

Parametreler	VKİ≥25 olan PKOS'lu kadınlar n=47 x±SD	Kontrol grubu n=47 x±SD	P
FSH (mIU/mL)	5.28±2.83	5.18±3.10	0.870
LH (mIU/mL)	7.35±5.62	5.47±4.11	0.068
E <sub>2</sub> (ng/L)	85.32±67.02	101.24±78.89	0.295
PRL (ng/mL)	10.97±4.49	12.44±15.14	0.527
DHEAS (µg/dL)	244.31±102.10	194.50±79.75	0.010
tT (ng/dL)	43.74±26.77	29.63±12.17	0.003
TSH (mIU/mL)	2.30±1.08	1.97±0.71	0.084
8-OHdG (8-OHdG/dG)	1.98±0.93	0.45±0.15	0.000
MDA (nmol/mL)	10.74±5.03	6.37±2.90	0.000
SOD (U/mL)	26.18±16.49	40.06±21.20	0.000
GPx(nmol/min/mL)	103.49±16.49	111.84±19.81	0.017

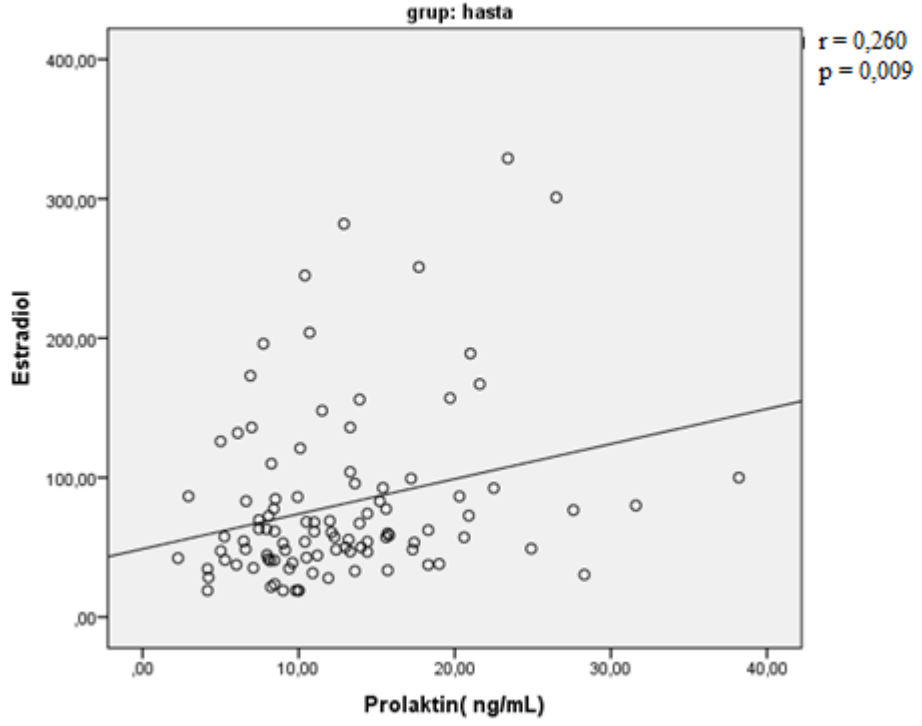
Korelasyonlara ait grafikler Şekil 4.1-7'de verilmiştir



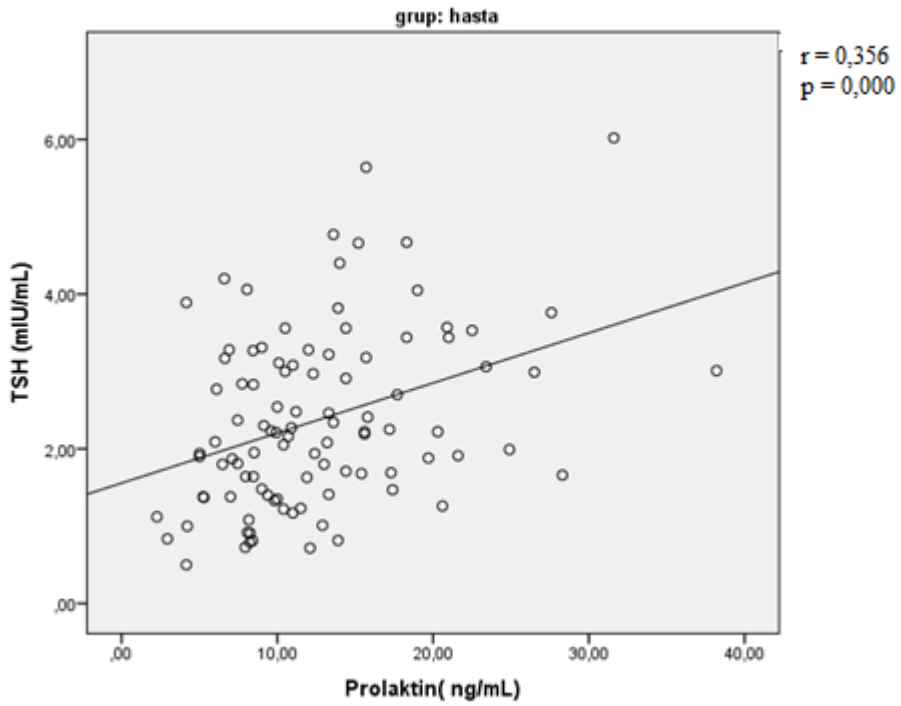
Şekil 4.1. Hasta grubunda TSH ve 8-OHdG/dG x10<sup>6</sup> arasındaki korelasyon



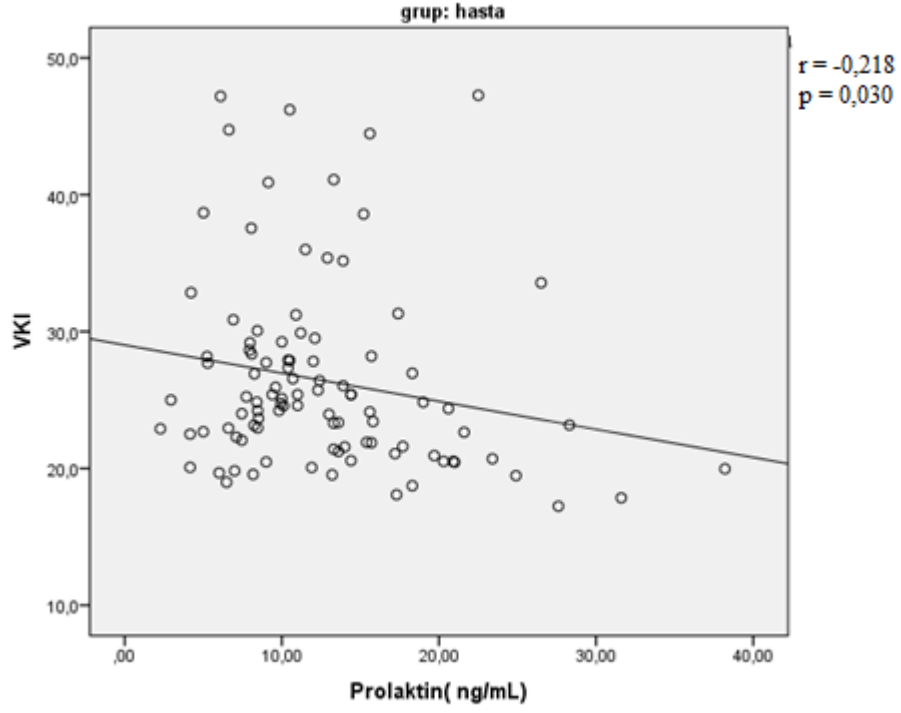
Şekil 4.2. Hasta grubunda LH ve DHEAS arasındaki korelasyon



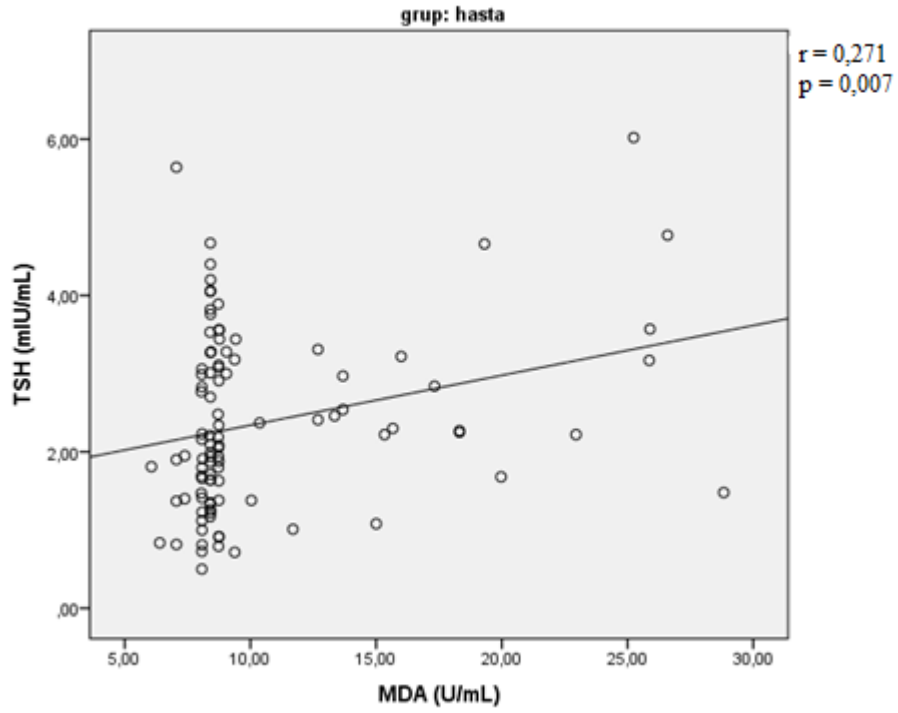
Şekil 4.3. Hasta grubunda E<sub>2</sub> ve Prolaktin arasındaki korelasyon



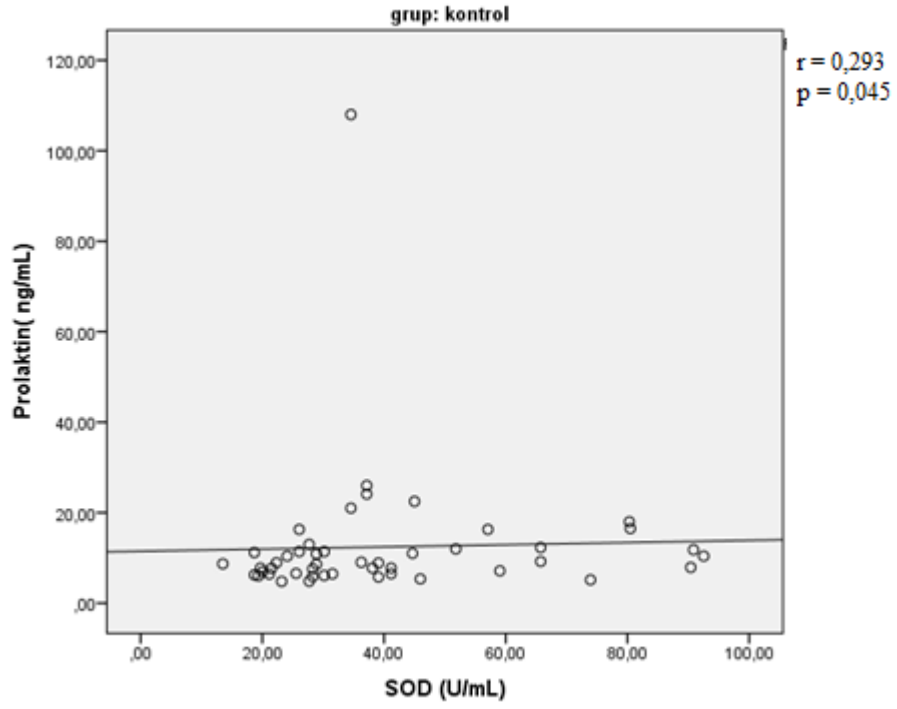
Şekil 4.4. Hasta grubunda TSH ve PRL arasındaki korelasyon



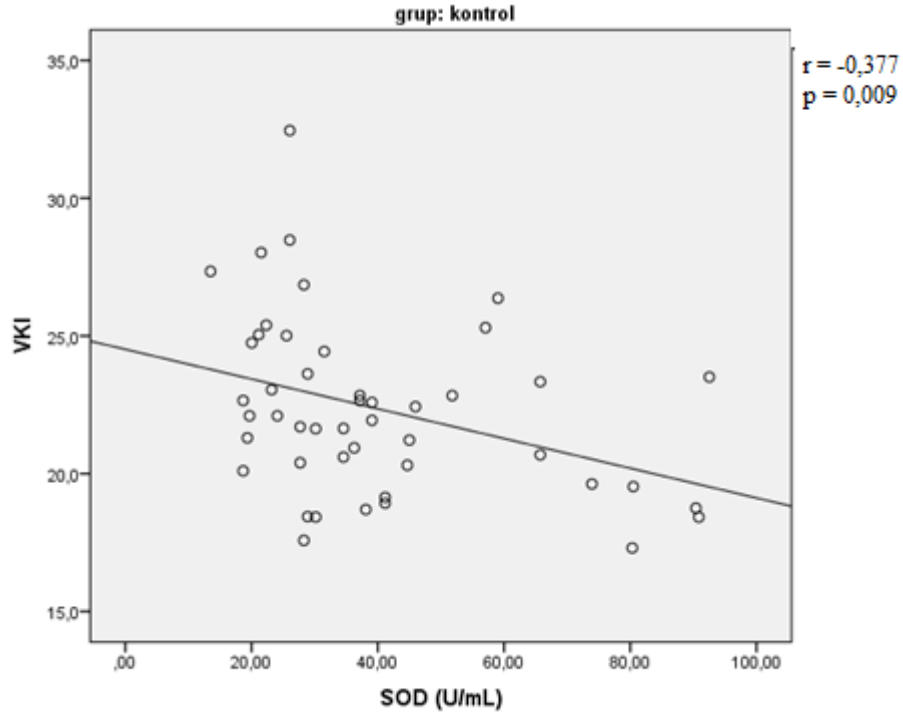
Şekil 4.5. Hasta grubunda VKİ ve PRL arasındaki korelasyon



Şekil 4.6. Hasta grubunda MDA ve TSH arasındaki korelasyon



Şekil 4.7. Kontrol grubunda SOD ve PRL arasındaki korelasyon



Şekil 4.8. Kontrol grubunda SOD ve VKİ arasındaki korelasyon

## 5. TARTIŞMA

Polikistik over sendromu üreme çağında kadınlarda en sık rastlanan bir endokrinolojik hastalık tablosu olup premenstruel kadınlarda hiperandrojenemi ve kronik anovulasyonla karakterizedir. PKOS, ilk etapta üreme sorunlarıyla ilgili bulgularla kendini gösterse de, yapılan ayrıntılı tetkik ve muayeneler sonucunda anlaşılmıştır ki, çoklu metabolik bozukluklarla seyreden bir sendromdur.

Multisistemik metabolik bir sendrom olarak PKOS uzun dönemde; tip 2 diyabet, lipid profili bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, depresyon ve endometriyum, over ve meme kanseri gibi hastalık riskleri taşıması nedeniyle de ön plana çıkmaktadır.<sup>73, 87</sup>

PKOS'un obezite ile ilgisinin olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Vücutta yağ oranı artışı, seks steroidleri ile ilgili dengelerde bozukluğa yol açabilmektedir. Yağ dokusu androjen, östrojen ve progesteron için bir depodur. Yağ dokusundaki stromal vasküler hücrelerde androjenlerin östrojenlere aromatisasyonu ve dolayısıyla östrojen miktarı artmaktadır. Obezlerde östrojen/androjen oranında artış, diğer taraftan SHBG'de azalma görülmektedir. Buna bağlı androjen dönüşümü hızlanmakta, bunu karşılamak için androjen sentezi artmaktadır. Sonuçta serbest östrojen ve testosteron miktarları artar. Santral obezitesi olan kadınlarda insülin düzeylerindeki artış, direkt olarak overlerde androjen sentezini arttırmaktadır.<sup>122, 123</sup> PKOS'lu kadınların yaklaşık olarak %50'si fazla kilolu veya abdominal obezitesi olanlardan oluşmaktadır. Obezite bağlantılı hiperinsülinemi hiperandrojenizm gelişmesinde anahtar rol oynayabilir.

Oksidan/antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması şeklinde tanımlanan oksidatif stres, birçok hastalığın ortaya çıkması ve gelişmesinde risk faktörüdür. PKOS patogenezinde de, oksidatif stres ve ROT'un etkili olduğu yapılan çalışmalar ile bilinmektedir. PKOS'un patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte

oksidatif stres ve genetik faktörlerin önemli bir rol oynadıkları da bilinmektedir. ROT fazla miktarda oldukları zaman proteinlerde, lipidlerde ve nükleik asitlerde hasara yol açmaktadırlar. Lipidlerde peroksidasyona neden olarak öncelikle membran fonksiyonlarında ve buna bağlı olarak da hücrel fonksiyonlarda bozukluklara yol açarlar. PKOS'ta ROT'un yapımının arttığı veya antioksidan sistem parametrelerinin yetersiz kaldığı belirtilmektedir. DNA hasarı ve oksidatif stres ile uyarılmış metilasyonun tümör patogenezinin erken evresinde rolü olduğu gösterilmiştir. PKOS'lu hastalardaki olağan dışı artmış oksidatif stres, mekanistik olarak, genetik değişikliklere ve kanser riskinin artmasına neden olmaktadır. PKOS'lu hastalarda oksidatif stresin, önemli derecede, insülin rezistansı, inflamasyon, hiperandrojenemi ve over, endometrium ve meme kanserleri ile ilişkili olduğu tanımlanmaktadır. Obezite, İR, enflamasyon ve hiperandrojenemi birlikteliği ile görülen oksidatif stres artışının, PKOS ve endometrial kanserlerinin belirteci olduğu da belirtilmektedir. Diğer taraftan, obezlerle yapılan in vivo çalışmalarda aşırı androjen fazlalığının oksidatif stresi, insülin rezistansını ve inflamasyonu uyardığını göstermişlerdir.<sup>124, 125</sup>

DNA'nın stabil bir molekül olmasının yanında, hücrenin yaşamı boyunca sıklıkla oksidatif stresin yol açtığı DNA hasarı ile karşılaşmaktadır. Günümüzde tanımlanan bazı hasar ürünlerinden biri de 8-OHdG'dir. Hücrede O<sub>2</sub>'nin %90'ı mitokondriyel tarafından tüketilmektedir. Oksidatif ajanlara karşı koruyucu histon proteinleri mitokondriyel DNA'da bulunmadığından mitokondriyel DNA'da oksidatif hasar nükleer DNA'dan çok daha fazla olmaktadır. 8-OHdG'nin mitokondriyel DNA'da daha fazla bulunduğu ve daha hızlı mutasyona uğradığı yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir.<sup>126</sup> Bundan dolayı, 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının direkt belirteci olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarının tayininde belirteç olarak kullanılmaktadır.

Biz bu çalışmada, çok çeşitli bulgularla kendini gösteren multisistemik bir hastalık olan PKOS'ta, lipit peroksidasyonunun ve DNA hasarının nasıl değiştiğini, oksidatif stres ve 8-OHdG arasındaki ilişkiyi, hormonların nasıl etkilendiğini, antioksidan parametrelerin seviyelerinin değişiminin nasıl olduğunu, hasta ve sağlıklı kontrol grubu değerleri ile karşılaştırarak araştırdık.

PKOS tanısı, 2003 Rotterdam tanı kriterleri dikkate alınarak oligo-anovulasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm ve polikistik over görüntüsü gibi üç kriterden ikisinin bulunması ile konuldu. Bizim çalışmamızda çalışmaya dahil edilen 99 hastada polikistik over görüntüleri ultrasonografik ölçümlerle tespit edildi. Hiperandrojenizmin tespit edilebilmesi için PKOS'a spesifik olan hormon analizleri yapıldı.

Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri istatistiksel verilere göre incelendi ve PKOS'lu kadınlarda kilo, bel çevresi ve vücut kitle indekslerinin kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu. Hasta grubunda kontrol grubuna göre; LH, DHEA-S, tT, 8-OHdG ve MDA düzeyleri anlamlı derecede yüksek ve SOD ve GPx aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Ayrıca PKOS'lu grup kendi içinde  $VKİ < 25$  olan hastalar ve  $VKİ \geq 25$  olan hastalar olarak da kontrollerle kıyaslandı.  $VKİ < 25$  olan hastalarda da bu parametrelerin seviyeleri, kontrol grubuna göre total hasta grubundaki gibiydi. Varalakshmi ve ark.<sup>127</sup> obez olmayan PKOS'lu kadınlarda oksidatif stresin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında MDA seviyesini kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Köninger ve ark.<sup>128</sup> Yaptıkları çalışmada  $VKİ \geq 25$  olan hastalarda tT ve LH seviyelerini kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Yapılan çalışmalarda genellikle obezlerde oksidatif stres parametrelerinin artmış olduğu gösterilmesine rağmen bazı çalışmalarda da zayıf PKOS'lu kadınlarda oksidatif stres parametrelerinin artmış olduğu

gösterilmiştir.<sup>129</sup> Bizim çalışmamızdaki bu sonuçlar yukarıda belirttiğimiz literatürdeki sonuçlarla uyumaktadır.

Balen A ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada yüksek VKİ'nin yüksek serum testosteron düzeyleri ve yüksek hirsutizm prevalansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur.<sup>130</sup> Çeğil Y.<sup>131</sup> tez çalışmasında VKİ ile hem total hem de serbest testosteron arasında pozitif korelasyon saptamıştır. Çeğil Y.'nin çalışması ile benzer olarak bizim çalışmamızda da  $VKI \geq 25$  olan grupta  $E_2$  ve tT seviyeleri  $VKI < 25$  olan gruptan daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca  $VKI < 25$  olan grupta VKİ ile DHEAS arasında pozitif korelasyon bulunurken VKİ ile LH arasında negatif korelasyon tespit edildi.  $VKI < 25$  olan gruptaki bu sonuç, literatürde verilen, obezitenin LH'yı artırdığı bilgisiyle uyumlamakta olup, kilosu düşük PKOS'lularda LH'nin artmasında ilgili diğer faktörlerin de etkilerinin varlığına işaret etmektedir. tT ile VKİ arasında her iki hasta grubu arasında korelasyon bulunamadı. Brower ve ark.'nin<sup>132</sup>, 494 PKOS hastası ve 178 kontrol grubu üzerinde yaptıkları çalışmada tT, sT ve seviyeleri PKOS grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş. Legro ve ark.<sup>133</sup> yaptıkları çalışmada PKOS ve sağlıklı kontrol grubunu karşılaştırmış ve PKOS hastalarında DHEAS ve testosteron seviyelerini sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulmuşlardır. Biz de hasta grubunda tT ve DHEAS seviyelerini, sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek bulduk. Bu da sağlıklı bireylerde androjenlerin daha çok adrenel kaynaklı olduğunu ve PKOS'lu kadınlarda ise overin birincil androjen kaynağı olduğunu düşündürmektedir.

PKOS'ta LH'daki artış overde androjen yapımını arttırmaktadır. Salgılanan bu androjen hormonlar yağ dokusunda östrojene dönüşmektedir. Östrojenlerin oksidatif stresin ortaya çıkması ve önlenmesinde önemli rolü vardır. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarla,  $E_2$ 'nin ROT üzerinden sperm hücresinde oksidatif strese yol açtığı ve bu

yolla da DNA hasarlarını artırdığı gösterilmiştir.<sup>134</sup> E<sub>2</sub>'nin özellikle mitokondride hidrojen peroksid üretimini artırarak bu etkiyi gösterdiği bilinmektedir.<sup>135</sup> Bunun bir sonucu olarak anti-östrojenlerin, DNA hasarlarının tedavisinde kullanılması gündeme gelmiştir. Ülkü E. ve ark.<sup>136</sup> ile İnan C. ve ark.<sup>137</sup>, yaptıkları çalışmalarda, hasta grubunda E<sub>2</sub> seviyelerini kontrol grubuna göre düşük bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da total hasta grubunda E<sub>2</sub> seviyeleri düşüktü, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. VKİ  $\geq 25$  olan hasta grubu ile VKİ  $< 25$  olan hasta grubu karşılaştırıldığında E<sub>2</sub> seviyesi VKİ  $\geq 25$  olan hasta grubunda VKİ  $< 25$  olan gruba göre yüksekti ancak bu fark anlamlı değildi. Çeçil Y.'de<sup>131</sup> yaptığı çalışmada VKİ  $\geq 25$  olan çalışma grubunda bizim çalışmamızla benzer sonuçlar bulmuştur.

PKOS ve hiperprolaktinemi, kadınlardaki menstruel bozukluk etiolojisinde rol oynayan faktörler arasında yer almaktadırlar. Klinik pratikte PKOS'un klinik, hormonal ve ultrasonografik verileri ile hiperprolaktineminin ilişkili olduğuyla sık sık karşılaşılma ile beraber, şu anda, bu iki patoloji arasında fizyopatolojik bir bağ olduğunu gösteren hiçbir kanıt yoktur. Bu nedenle PKOS'lu kadınlardaki hiperprolaktineminin başta makroprolaktinemi olmak üzere etyolojik nedenlerinin ayrıca araştırılmasının gereğine vurgu yapılmaktadır.<sup>138</sup> PKOS'da prolaktineminin nedeninin araştırıldığı bir çalışmada; 82 PKOS'lu hasta çalışmaya alınmış, prolaktin sonuçları PKOS'u olmayan insülin resistanslı 42 kadınla karşılaştırılmıştır. 13 hastada yüksek prolaktin (% 16) seviyeleri tespit edilmiştir. Bunların 9'unda pituitar tümör, 2'inde oral kontraseptif kullanımı, 1'inde buspiron ve tianeptin kullanımı, 1 vakada da makroprolaktinemi tespit edilmiştir. PKOS'lu hastalardaki artmış prolaktin seviyesinin araştırılması gerektiği, farklı sebeplerinin de olabileceği ve PKOS için bir klinik belirteç olmadığı sonucuna varılmıştır.<sup>139</sup> İnan C. ve ark.<sup>137</sup> çalışmalarında, PRL seviyelerini hasta grubunda anlamlı yüksek bulmuşlardır ancak bu yükseklik istatistiksel olarak

anlamli değildi. Yine aynı çalışmada LH/FSH oranı ve LH seviyesi anlamli yüksek bulunmuştur. Bizim alışmamızda da PRL seviyesi PKOS'lu grupta kontrol grubuna göre anlamli yüksek bulundu. Yine LH/FSH oranı ve LH seviyesini de anlamli yüksek bulduk. Bu da, artmış LH düzeyinin overlerde androjenlerin üretimini etkilediğini ve sonucunda da follikül gelişiminde duraklama olduğunu düşündürmektedir.

Oksidatif stresin birçok önemli patolojik süreçte rol oynadığı, son zamanlarda yapılan araştırma ve yayınlarda gösterilmiştir. Hüresel metabolizmanın aşırı ROT üretimini ortadan kaldırabilen ve temelde SOD, GPx ve CAT enzimlerinden oluşan hücrenin sahip olduğu etkili antioksidan savunma sistemi, ROT düzeyinin fizyolojik sınırların altında sabit tutulmasını sağlar.<sup>140</sup> Toksik oksijen radikalleri aerobik canlılarda sürekli oluşmakta ve bazı durumlarda organizma bu molekülleri fizyolojik yarar sağlamak üzere oluşurmaktadır. Serbest oksijen radikallerini ortadan kaldıran enzimler hücrelerin oksidatif hasardan korunmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Malonaldehid lipid peroksidasyon ürünlerinden biridir. Malonaldehide oksitlenmiş membran lipidinin kendi fonksiyonunun bozulmuş olmasının yanında bu oksidasyon ürünü membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna da neden olmaktadır. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerinin bozulmasına yol açmaktadır.

Sabuncu ve ark.<sup>141</sup> yaptığı çalışmaya göre PKOS' lu hastalarda kardiyovasküler komplikasyon gelişmeden önce, oksidatif stresin arttığı ancak buna cevap olarak antioksidan düzeyinin yeterli yükselemediği gösterilmiştir. Bu alışmada PKOS'lu hastalarda MDA, SOD düzeyleri yüksek bulunurken, antioksidan sistemin biyokimyasal belirteci olan GSH düzeyinin ise düşük olduğu saptanmıştır.

Gao ve ark.<sup>101</sup> 52 PKOS'lu ve 57 sağlıklı kontrolle yapmış oldukları çalışmada PKOS'lu kadınlarda MDA ve 8-OHdG düzeylerinde önemli bir artış olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da PKOS'lu kadınlarda kontrollere oranla MDA ve 8-OHdG seviyelerinde artış gözlemlendi.

Bausenwein ve ark.<sup>118</sup> obez kadınlar üzerinde yürüttükleri çalışmada, foliküler sıvıda ve serumda SOD ve GPx aktivitesini incelemişlerdir. PKOS'lu obez kadınlarda ve PCOS'suz obez kadınlarda hem serum hem de foliküler sıvıda SOD aktivitesinde bir farklılık olmadığını, PKOS olmayan obezlerde ise GPx aktivitesini yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise VKİ $\geq$ 25'den olan PKOS'lularda SOD aktivitesi anlamlı olarak düşük bulundu. Zou ve ark.<sup>142</sup> PKOS'lularda kanser riskinin artışında, oksidatif stresin önemli bir potansiyele sahip olduğunu belirtmektedirler. Bizim çalışmamızda PKOS'lu olgularda serum MDA düzeyleri; hem VKİ $<$ 25 ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hem de VKİ $\geq$ 25 ile kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. SOD ve GPx aktiviteleri ise VKİ $<$ 25 ve VKİ $\geq$ 25 olan hasta gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulundu. Bu veriler, PKOS'lu olgularda antioksidan kapasitenin yetersiz kaldığını ve hastaların yüksek oksidatif stres altında olduklarını göstermektedir.

DNA baz hasarı ölçümlerinde, elektron yoğunluğunun daha fazla olması nedeniyle serbest radikallerin etkisine daha çok maruz kalan baz olan Guanine ait modifiye guaninler çalışılmıştır. Özellikle 8-OHGua bazı ve onun şeker bağlı nükleozit hali olan 8-OHdG, HPLC ve LC-MS gibi cihazlarla ölçülmüştür. Her ikisinin de ölçüm sonuçları DNA hasarı belirteci olarak kabul edilmektedir. HPLC-ECD ve HPLC-UV kullanılarak kantitatif 8-OHdG analizi, oksidatif DNA hasarının tespitinde son derecede duyarlı, seçici ve laboratuvarlarda en sık kullanılan yöntem olup, 8-OHdG ve dG miktarlarının birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.<sup>143</sup>

Ateş O. ve ark.<sup>144</sup> kataraktlı hastalar üzerinde oksidatif DNA hasarını incelemek üzere yaptıkları çalışmada, 8-OHdG ve MDA seviyelerini HPLC ile ölçmüş ve kontrollere göre her iki parametreyi de anlamlı yüksek bulmuşlardır. Ancak 8-OHdG ve MDA arasında korelasyon tespit edememişlerdir. Sova H.ve ark.<sup>145</sup> VKİ<27 ve VKİ≥27 olmak üzere iki gruba ayırdığı PKOS'lu hasta grubunda literatürdeki çalışmaların aksine 8-OHdG seviyesini anlamlı düşük bulmuşlardır. Hamurcu Z. ve ark.<sup>146</sup> PKOS'lu kadınlarla kontrol grubunu karşılaştırmış ve anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bizim çalışmamızda da 8-OHdG seviyeleri VKİ<25 ve VKİ≥25 olan gruplar ayrı ayrı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulundu. Sonuçlardaki bu farklılıkların analiz yöntemlerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada elde edilen veriler özetlendiğinde:

1. PKOS için spesifik hormonlardan; LH, PRL, DHEAS ve tT çalışılmıştır ve bu hormonların kan konsantrasyonları, hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
2. Lipid peroksidasyon ürünü MDA'nın konsantrasyonunun, PKOS'lu grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.
3. Antioksidan enzimlerden GPx ve SOD aktivitesinin, PKOS grubunda daha düşük olduğu gözlenmiştir.
4. DNA hasar ürünü olan 8-OHdG'nin PKOS grubunda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

PKOS'lu kadınlarda yapılan bu çalışmadaki ve literatürdeki az sayıdaki çalışmaların sonuçlarından; bu hastalarda patolojik seviyelerdeki hormon metabolizmasıyla oksidan stresin arttığı, bunun yanında antioksidan savunma sistemi parametrelerinin de az veya yetersiz kaldığı görülmektedir.

Sonuç olarak; PKOS'lu hastalarla yapılan çalışmalarda, hastalıkla ilgili hormonların pulsatil salınımları göz önünde bulundurularak, hem tanıda hem de tedavide, örnek alımının çok zamanlı olarak standardize edilmesi ve analiz edilecek parametrelerin ölçüm yöntemlerinin standardize edilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Landay M, Huang A, Azziz R. Degree of hyperinsulinemia, independent of androgen levels, is an important determinant of the severity of hirsutism in PCOS. *Fertility and Sterility*, 2009, 92: 643-7.
2. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*, 2005, 352: 1223-36.
3. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertility and Sterility*, 2009, 91: 456-88.
4. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress tests: overview on reliability and use. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2007, 11: 383-399.
5. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi. *YYU Veteriner Fakultesi Dergisi*, 2009, 20: 79 - 83.
6. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod*, 2010, 25: 544-51.
7. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89: 2745-9.
8. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *AJOG*, 1935, 29: 173-181.
9. Yen SS. The polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1980, 12: 177-207.
10. Hopkinson ZE, Sattar N, Fleming R, Greer IA. Polycystic ovarian syndrome: the metabolic syndrome comes to gynaecology. *Bmj*, 1998, 317: 329-32.

11. Crete J, Adamshick P. Managing polycystic ovary syndrome: what our patients are telling us. *J Holist Nurs*, 2011, 29: 256-66.
12. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*, 2009, 91: 456-88.
13. Taghavi M, Fatemi S. Association of Macroprolactinemia in Patients Presenting with Hyperandrogenic Symptoms. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2008, 10: 273-276.
14. Kovanci E, Buster J., E., . Polycystic Ovary Syndrome. *Reproductive Endocrinology and Infertility*, 2006, 8: 893-910
15. Haji Shafiha M ZT, Salari Lak SH. Investigating validity criteria of vaginal ultrasound (ovarian volume, the ovarian stroma and the stromal surface of the ovary) in the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Urmia Medical Journal* 2007, 3: 538-543.
16. Pişkinpaşa S, Yıldız BO,. Polikistik over sendromu. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2005, 36: 168-174.
17. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*, 2004, 19: 41-7.
18. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnosis criteria for polycystic ovarian syndrome. Towards a rational approach. *Blackwell Scientific* 1992: 377-84.
19. Van Der Meer M, Hompes PG, De Boer JA, Schats R, Schoemaker J. Cohort size rather than follicle-stimulating hormone threshold level determines ovarian sensitivity in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83: 423-6.

20. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2004, 81: 19-25.
21. Dunaif A. Insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2006, 86 Suppl 1: S13-4.
22. Williamson K, Gunn AJ, Johnson N, Milsom SR. The impact of ethnicity on the presentation of polycystic ovarian syndrome. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2001, 41: 202-6.
23. Leon Speroff, Robert H. Glass, Kase NG. Hormone Biosynthesis, Metabolism and mechanism of action. İçinde: *In Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Philadelphia, Lipincott Williams and Wilkins, 1999.
24. Franks S. Polycystic ovary syndrome in adolescents. *Int J Obes (Lond)*, 2008, 32: 1035-41.
25. Hayes FJ, Taylor AE, Martin KA, Hall JE. Use of a gonadotropin-releasing hormone antagonist as a physiologic probe in polycystic ovary syndrome: assessment of neuroendocrine and androgen dynamics. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83: 2343-9.
26. Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest*, 1976, 57: 1320-9.
27. Lerchbaum E, Schwetz V, Giuliani A, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Opposing effects of dehydroepiandrosterone sulfate and free testosterone on metabolic phenotype in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2012, 98: 1318-25.e1.
28. Lobo RA. Hirsutism in polycystic ovary syndrome: current concepts. *Clin Obstet Gynecol*, 1991, 34: 817-26.

29. Rittmaster RS. Differential suppression of testosterone and estradiol in hirsute women with the superactive gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide. *J Clin Endocrinol Metab*, 1988, 67: 651-5.
30. Waldstreicher J, Santoro NF, Hall JE, Filicori M, Crowley WF, Jr. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with polycystic ovarian disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization. *J Clin Endocrinol Metab*, 1988, 66: 165-72.
31. Catteau-Jonard S, Dewailly D. Pathophysiology of polycystic ovary syndrome: the role of hyperandrogenism. *Front Horm Res*, 2013, 40: 22-7.
32. Levitas E, Levitas A, Koifman A., "Hyperandrogenism, Functional". *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, (2004), 2: 504-508
33. Lobo RA, Kletzky OA, Campeau JD, diZerega GS. Elevated bioactive luteinizing hormone in women with the polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 1983, 39: 674-8.
34. Deslypere JP, Verdonck L, Vermeulen A. Fat tissue: a steroid reservoir and site of steroid metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*, 1985, 61: 564-70.
35. Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Zborowski JV, Remsberg KE, Kuller LH. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20: 2414-21.
36. Legro RS, Kusanman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med*, 2001, 111: 607-13.
37. O'Meara NM, Blackman JD, Ehrmann DA, Barnes RB, Jaspan JB, Rosenfield RL, Polonsky KS. Defects in beta-cell function in functional ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993, 76: 1241-7.

38. Ehrmann DA. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome. *Curr Diab Rep*, 2002, 2: 71-6.
39. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril*, 2002, 77: 1095-105.
40. Ciaraldi TP, el-Roeiy A, Madar Z, Reichart D, Olefsky JM, Yen SS. Cellular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992, 75: 577-83.
41. Dunaif A. Hyperandrogenic anovulation (PCOS): a unique disorder of insulin action associated with an increased risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med*, 1995, 98: 33s-39s.
42. Barnes R, Rosenfield RL. The polycystic ovary syndrome: pathogenesis and treatment. *Ann Intern Med*, 1989, 110: 386-99.
43. Speroff L, Glass RH, Kase NG,. *Clinical Gyneacologic Endocrinology and Infertility*. Baskı. Baltimore. , Williams &Wilkins, 1973.
44. Aslan BK. Polikistik Over Sendromunun Hemşirelik Öğrencilerinde Prevalansı. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Ana Bilim Dalı Erzurum Atatürk Üniversitesi 2014.
45. Qin KN, Rosenfield RL. Role of cytochrome P450c17 in polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol*, 1998, 145: 111-21.
46. Pusalkar M, Meherji P, Gokral J, Chinnaraj S, Maitra A. CYP11A1 and CYP17 promoter polymorphisms associate with hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 2009, 92: 653-9.
47. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 2004, 81: 19-25.

48. Hart R, Hickey M, Franks S. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2004, 18: 671-83.
49. Azziz R. The evaluation and management of hirsutism. *Obstet Gynecol*, 2003, 101: 995-1007.
50. C L. Androgen metabolism and clearance. İçinde:Azziz R NJ, Dewailly D (editör). Philadelphia, Lippincott- Raven Publishers, 1997: 37-46.
51. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertility and Sterility*, 2009, 91: 456-488.
52. Elting MW, Korsen TJ, Rekers-Mombarg LT, Schoemaker J. Women with polycystic ovary syndrome gain regular menstrual cycles when ageing. *Human Reproduction*, 2000, 15: 24-28.
53. ACOG Practice Bulletin No. 108: Polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol*, 2009, 114: 936-49.
54. Palomba S, Falbo A, Orio F, Zullo F. Insulin-sensitizing agents and reproductive function in polycystic ovary syndrome patients. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2008, 20: 364-73.
55. Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L, Wang P. Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. *Fertility and Sterility*, 2001, 75: 46-52.
56. Li M, Youngren JF, Dunaif A, Goldfine ID, Maddux BA, Zhang BB, Evans JL. Decreased insulin receptor (IR) autophosphorylation in fibroblasts from patients

- with PCOS: effects of serine kinase inhibitors and IR activators. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2002, 87: 4088-4093.
57. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, Fiorini S, Cognigni GE, Filicori M, Morselli-Labate AM. Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2000, 85: 2767-2774.
58. Pfeifer SM, Kives S. Polycystic ovary syndrome in the adolescent. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2009, 36: 129-52.
59. Rotterdam E, ASRM-Sponsored P. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 2004, 81: 19.
60. Speroff L CR, Kase NG. . . ;. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. . 7th ed, Bask1. Philadelphia, Williams and Wilkins, , 2005: 465-91.
61. Taylor AE. Gonadotropin dysfunction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 2006, 86 Suppl 1: S12.
62. Taylor AE, McCourt B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, Hall JE. Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 2248-56.
63. Turhan NÖ, Toppare MF, Seçkin NC, Dilmen G, l u, in c. The predictive power of endocrine tests for the diagnosis of polycystic ovaries in women with oligoamenorrhea. *Gynecologic and obstetric investigation*, 1999, 48: 183-186.

64. Cho LW, Jayagopal V, Kilpatrick ES, Holding S, Atkin SL. The LH/FSH ratio has little use in diagnosing polycystic ovarian syndrome. *Annals of clinical biochemistry*, 2006, 43: 217-219.
65. Aslaf M. *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite*. 7th Baskı. 2007: 515.
66. Carmina E, Lobo R. Prevalence and metabolic characteristics of adrenal androgen excess in hyperandrogenic women with different phenotypes. *Journal of endocrinological investigation*, 2007, 30: 111-116.
67. Geisthovel F. A comment on the European Society of Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine consensus of the polycystic ovarian syndrome. *Reprod Biomed Online*, 2003, 7: 602-5.
68. Oláh KS. The modern management of hirsutism. *Reviews in Gynaecological Practice*, 2004, 4: 211-220.
69. Martins Wde P, Soares GM, Vieira CS, dos Reis RM, de Sa MF, Ferriani RA. [Cardiovascular risk markers in polycystic ovary syndrome in women with and without insulin resistance]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2009, 31: 111-6.
70. Çiçek MN, Akyürek, C, Çelik, Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları Ve Doğum Bilgisi. Kaya H, Desdicioğlu R. Polikistik Over Sendromu. Ankara 2004: 1138-53.
71. Talbott E, Clerici A, Berga SL, Kuller L, Guzick D, Detre K, Daniels T, Engberg RA. Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic ovary syndrome: results of a case-control study. *J Clin Epidemiol*, 1998, 51: 415-22.
72. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG, Kandarakis SA, Chrousos GP. Pathophysiology and types of dyslipidemia in PCOS. *Trends Endocrinol Metab*, 2007, 18: 280-5.

73. Wild RA, Painter PC, Coulson PB, Carruth KB, Ranney GB. Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 1985, 61: 946-51.
74. Franks S. Polycystic ovary syndrome: a changing perspective. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1989, 31: 87-120.
75. Tsilchorozidou T, Overton C, Conway GS. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2004, 60: 1-17.
76. Carmina E, Lobo RA. Polycystic ovary syndrome (PCOS): arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84: 1897-9.
77. Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S, Labate AM, Venturoli S, Paradisi R, Zannarini L. Insulin and androgen relationships with abdominal body fat distribution in women with and without hyperandrogenism. *Horm Res*, 1993, 39: 179-87.
78. Lord J, Thomas R, Fox B, Acharya U, Wilkin T. The central issue? Visceral fat mass is a good marker of insulin resistance and metabolic disturbance in women with polycystic ovary syndrome. *BJOG*, 2006, 113: 1203-9.
79. Stepto NK, Cassar S, Joham AE, Hutchison SK, Harrison CL, Goldstein RF, Teede HJ. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulaemic clamp. *Hum Reprod*, 2013, 28: 777-84.
80. Vrbikova J, Hainer V. Obesity and polycystic ovary syndrome. *Obes Facts*, 2009, 2: 26-35.

81. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocr Rev*, 2012, 33: 981-1030.
82. Druckmann R, Rohr UD. IGF-1 in gynaecology and obstetrics: update 2002. *Maturitas*, 2002, 41 Suppl 1: S65-83.
83. Gunter MJ, Hoover DR, Yu H, Wassertheil-Smoller S, Rohan TE, Manson JE, Li J, Ho GY, Xue X, Anderson GL, Kaplan RC, Harris TG, Howard BV, Wylie-Rosett J, Burk RD, Strickler HD. Insulin, insulin-like growth factor-I, and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101: 48-60.
84. Cowan LD, Gordis L, Tonascia JA, Jones GS. Breast cancer incidence in women with a history of progesterone deficiency. *Am J Epidemiol*, 1981, 114: 209-17.
85. Kim J, Mersereau JE, Khankari N, Bradshaw PT, McCullough LE, Cleveland R, Shantakumar S, Teitelbaum SL, Neugut AI, Senie RT, Gammon MD. Polycystic ovarian syndrome (PCOS), related symptoms/sequelae, and breast cancer risk in a population-based case-control study. *Cancer Causes Control*, 2016, 27: 403-14.
86. Gammon MD, Thompson WD. Polycystic ovaries and the risk of breast cancer. *Am J Epidemiol*, 1991, 134: 818-24.
87. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased risk for abnormal depression scores in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*, 2011, 117: 145-52.
88. Dokras A, Clifton S, Futterweit W, Wild R. Increased prevalence of anxiety symptoms in women with polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 2012, 97: 225-30 e2.
89. Mishra P, Samanta L. Oxidative stress and heart failure in altered thyroid States. *ScientificWorldJournal*, 2012, 2012: 741861.

90. Corbi G, Conti V, Russomanno G, Longobardi G, Furgi G, Filippelli A, Ferrara N. Adrenergic signaling and oxidative stress: a role for sirtuins? *Front Physiol*, 2013, 4: 324.
91. (Nawar WW. Lipids. . İçinde:Fennema OR (editör). In “*Food Chemistry*”, New York, Marcel Dekker, 1996: pp: 225-319.
92. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 49: 1773-82.
93. Naito Y, Yoshikawa T. What is oxidative stress. *JMAJ*, 2002, 45: 271-276.
94. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006, 160: 1-40.
95. Cooper CE, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*, 2002, 30: 280-5.
96. Brent JA, Rumack BH. Role of free radicals in toxic hepatic injury I. Free Radical Biochemistry. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 1993, 31: 139-171.
97. Kayalı R, Çakatay U. Protein Oksidasyonunun Ana Mekanizmaları. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2004, 35.
98. Lakshman MR, Gottipati CS, Narasimhan SJ, Munoz J, Marmillot P, Nylen ES. Inverse correlation of serum paraoxonase and homocysteine thiolactonase activities and antioxidant capacity of high-density lipoprotein with the severity of cardiovascular disease in persons with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 2006, 55: 1201-1206.
99. Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N, Pinlaor S, Yongvanit P, Kawanishi S, Murata M. Oxidative stress and its significant roles in

- neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 2014, 16: 193-217.
100. Jetawattana S. Free radical & radiation Biology; Malondialdehyde (MDA) a lipid oxidation product. *Spring*, 2005, 77: 222.
101. Gao H, Meng J, Xu M, Zhang S, Ghose B, Liu J, Yao P, Yan H, Wang D, Liu L. Serum heat shock protein 70 concentration in relation to polycystic ovary syndrome in a non-obese Chinese population. *Plos One*, 2013, 8: e67727.
102. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress tests: overview on reliability and use. Part I. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2007, 11: 309-42.
103. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*, 2003, 17: 1195-214.
104. Wiseman H, Kaur H, Halliwell B. DNA damage and cancer: measurement and mechanism. *Cancer letters*, 1995, 93: 113-120.
105. Dizdaroglu M. Chemistry of free radical damage to DNA and nucleoproteins. *DNA and free radicals*, 1993: 19-39.
106. Tufan EE. DNA onarım enzimi OGG1 SER326CYS polimorfizmi ile akciğer kanseri ilişkisinin Türk popülasyonunda araştırılması ve oksidatif hasarın biyogöstergesi 8-OHdG ölçümü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı. Yüksek lisans tezi, Ankara, : Gazi Üniversitesi, 2007.
107. De Martinis BS, BIANCHI MDLP. Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection. *Pharmacological research*, 2002, 46: 129-131.
108. Kasai H. Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis. *Free Radic Biol Med*, 2002, 33: 450-6.

109. Loft S, Fischer-Nielsen A, Jeding IB, Vistisen K, Poulsen HE. 8-hydroxydeoxyguanosine as a urinary biomarker of oxidative DNA damage. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 1993, 40: 391-404.
110. Yokuş B, Çakir DÜ. İnvivo Oksidatif Dna Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine. *Turkiye Klinikleri Journal Of Medical Sciences*, 2002, 22: 535-543.
111. Cheng KC, Cahill DS, Kasai H, Nishimura S, Loeb LA. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G----T and A----C substitutions. *J Biol Chem*, 1992, 267: 166-72.
112. Yokuş B, Çakir DÜ. Kanser Biyokimyası. *Dicle Üniv Vet. Fak Derg* 2012 : 1(2): 7-18.
113. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Turk J Biochem*, 2006, 31: 51-56.
114. Köken T, Serteser M, Kahraman A, Gökçe Ç, Demir S. Changes In Serum Markers Of Oxidative Stress With Varying Periods Of Haemodialysis. *Nephrology*, 2004, 9: 77-82.
115. Peng C, Wang X, Chen J, Jiao R, Wang L, Li YM, Zuo Y, Liu Y, Lei L, Ma KY. Biology of ageing and role of dietary antioxidants. *BioMed research international*, 2014, 13.
116. Flohe L. [10] Superoxide dismutase assays. *Methods in enzymology*, 1984, 105: 93-104.
117. Zeybekoğlu G, Kılıç N, Yıldırım Z, Özer Ç, Babül A. Sıçan karaciğerinde leptinin antioksidan sistemlere etkisi. *Turk J Biochem* 2012, 37 (4): 452-456.

118. Bausenwein J, Serke H, Eberle K, Hirrlinger J, Jogschies P, Hmeidan FA, Blumenauer V, Spanel-Borowski K. Elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and of catalase activity in follicular fluid of obese women. *Molecular human reproduction*, 2010, 16: 117-124.
119. Karataş F, Aşkin U, Halifeoğlu İ, Dönder E. Guatr'lı Hastalarda Antioksidan Vitaminler (A, E ve C), Selenyum Ve Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeylerinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Tıp)*, 2006, 20: 277-280.
120. Kaur H, Halliwell B. Measurement of oxidized and methylated DNA bases by HPLC with electrochemical detection. *Biochem J*, 1996, 318 (1): 21-3.
121. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351-8.
122. Despres JP. Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome? *Ann Med*, 2006, 38: 52-63.
123. Acien P, Quereda F, Matallin P, Villarroya E, Lopez-Fernandez JA, Acien M, Mauri M, Alfayate R. Insulin, androgens, and obesity in women with and without polycystic ovary syndrome: a heterogeneous group of disorders. *Fertility and Sterility*, 1999, 72: 32-40.
124. Zuo T, Zhu M, Xu W. Roles of Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome and Cancers. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 8589318.
125. Urbanek M. The genetics of the polycystic ovary syndrome. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2007, 3: 103-11.
126. Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86: 9697-701.

127. Desai V, Prasad NR, Manohar SM, Sachan A, Narasimha SR, Bitla AR. Oxidative stress in non-obese women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Diagn Res*, 2014, 8: CC01-3.
128. Koninger A, Edimiris P, Koch L, Enekwe A, Lamina C, Kasimir-Bauer S, Kimmig R, Dieplinger H. Serum concentrations of afamin are elevated in patients with polycystic ovary syndrome. *Endocr Connect*, 2014, 3: 120-6.
129. Kuşçu NK, Var A. Oxidative stress but not endothelial dysfunction exists in non-obese, young group of patients with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2009, 88: 612-7.
130. Balen A, Michelmore K. What is polycystic ovary syndrome? Are national views important? *Hum Reprod*, 2002, 17: 2219-27.
131. Çeğil Y . Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Hormon Düzeyleri İle İnsülin Düzeylerinin Araştırılması. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı. (Uzmanlık Tezi) Edirne: Trakya Üniversitesi, 2009
132. Brower M, Brennan K, Pall M, Azziz R. The severity of menstrual dysfunction as a predictor of insulin resistance in PCOS. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: E1967-71.
133. Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84: 165-9.
134. Cemeli E, Schmid TE, Anderson D. Modulation by flavonoids of DNA damage induced by estrogen-like compounds. *Environ Mol Mutagen*, 2004, 44: 420-6.

135. Felty Q, Xiong WC, Sun D, Sarkar S, Singh KP, Parkash J, Roy D. Estrogen-induced mitochondrial reactive oxygen species as signal-transducing messengers. *Biochemistry*, 2005, 44: 6900-9.
136. Uludağ EÜ, Gözükara İ, Kucur SK, Yılmaz H, Kamalak Z, Kılıç H, Arıkan Ş, Kargılı A. Polikistik over sendromunda kardiyovasküler hastalık risk faktörü olarak C-reaktif protein düzeyi ve obezite. *Dicle Tıp Dergisi*, 2013, 40.
137. Inan C, Karadag C. Correlation between ovarian morphology and biochemical and hormonal parameters in polycystic ovary syndrome. *Pak J Med Sci*, 2016, 32: 742-5.
138. Robin G, Catteau-Jonard S, Young J, Dewailly D. [Physiopathological link between polycystic ovary syndrome and hyperprolactinemia: myth or reality?]. *Gynecol Obstet Fertil*, 2011, 39: 141-5.
139. Filho RB, Domingues L, Naves L, Ferraz E, Alves A, Casulari LA. Polycystic ovary syndrome and hyperprolactinemia are distinct entities. *Gynecol Endocrinol*, 2007, 23: 267-72.
140. Wispe JR, Bell E, Roberts R. Assessment of lipid peroxidation in newborn infants and rabbits by measurements of expired ethane and pentane: influence of parenteral lipid infusion. *Pediatric research*, 1985, 19: 374-379.
141. Sabuncu T, Vural H, Harma M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clin Biochem*, 2001, 34: 407-13.
142. Zuo T, Zhu M, Xu W. Roles of Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome and Cancers. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015, 2016.
143. Shigenaga MK, Park JW, Cundy KC, Gimeno CJ, Ames BN. In vivo oxidative DNA damage: measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA and urine

- by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Methods Enzymol*, 1990, 186: 521-30.
144. Ates O, Alp HH, Kocer I, Baykal O, Salman IA. Oxidative DNA damage in patients with cataract. *Acta Ophthalmol*, 2010, 88: 891-5.
145. Sova H, Morin-Papunen L, Puistola U, Karihtala P. Distinctively low levels of serum 8-hydroxydeoxyguanosine in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 2010, 94: 2670-3.
146. Hamurcu Z, Bayram F, Kahriman G, Donmez-Altuntas H, Baskol G. Micronucleus frequency in lymphocytes and 8-hydroxydeoxyguanosine level in plasma of women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*, 2010, 26: 590-5.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p><b>Adı Soyadı:</b> Elif POLAT</p> <p><b>Doğum tarihi:</b> 14.02.1980</p> <p><b>Doğum Yeri:</b> Erzurum</p> <p><b>Medeni Hali:</b> Evli, 2 çocuk</p> <p><b>Uyruğu:</b> T.C.</p> <p><b>Adres:</b> Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM</p> <p><b>Tel:</b> 0442 234 66 12</p> <p><b>Faks:</b> 0449 234 66 11</p> <p><b>E-mail:</b> elif.polat@atauni.edu.tr</p>
Eğitim
<p><b>Lise:</b> Mehmet Akif Ersoy Lisesi (1998)</p> <p><b>Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi (2003)</p> <p><b>Yüksek Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (2007-2010)</p> <p><b>Doktora:</b> Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (2010-2016)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p><b>İngilizce:</b> Orta derecede (ÜDS 60,00 (Mart-2007))</p> <p><b>Almanca:</b></p> <p><b>Rusça:</b></p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

## EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Polikistik over sendromlu hastalarda nükleik asit hasarı: 8-hidroksi 2'-deoksi guanozin seviyeleri ve oksidatif stres parametreleri			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr.Elif POLAT			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	BAP Projesi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	Atatürk Üniversitesi			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz Girişimsel Olmayan Gözlemsel Klinik Araştırmalar				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>	<b>Tarihi</b>	<b>Versiyon Numarası</b>	<b>Dili</b>		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
<b>DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>	<b>Açıklama</b>				
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	BAP Projesi			
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Karar No:2		Tarih: 26.12.2013			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

<b>KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b>	
<b>ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI</b>	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
<b>BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:</b>	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hülya AKSOY	Biyokimya	Atatürk Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Zekeriya AKTÜRK	Aile Hekimliği	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mustafa GÜL	Fizyoloji	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hamit ACEMOĞLU	Tıp Eğitimi / Halk Sağlığı	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Zekai HALICI	Farmakoloji	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Zeynep ÇAKIR	Acil Tıp	Atatürk Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK	Tıbbi Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. M. Erdem SAĞSÖZ	Biyofizik	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uz. Dr. Fuat LALOĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Sağlık Bakanlığı	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Aslihan ÖNAL	Hukuk	Sağlık Bakanlığı	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Şef Necla TILKIDÖĞEN	Serbest	Sağlık Bakanlığı	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma