



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA İNSÜLİN
DİRENCİ İLE PLAZMA APELİN VE GHRELİN DÜZEYLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. SERKAN BORAZAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Engin Güney

AYDIN-2012

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA İNSÜLİN
DİRENCİ İLE PLAZMA APELİN VE GHRELİN DÜZEYLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. SERKAN BORAZAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Engin Güney

AYDIN-2012

ÖNSÖZ

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince büyük emekleri ve katkıları olan, bilgi ve deneyimleri ile her zaman yol gösteren, her aşamada yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm başta değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Engin GÜNEY ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. V. Gürhan KADIKÖYLÜ olmak üzere, Prof. Dr. Ali Önder KARAOĞLU, Prof. Dr. M. Hadi YAŞA, Prof. Dr. Taşkın ŞENTÜRK, Prof. Dr. A. Zahit BOLAMAN, Prof. Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Prof. Dr. Harun AKAR, Prof. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU, Prof. Dr. Vahit YÜKSELEN, Prof. Dr. Sabri BARUTÇA, Prof. Dr. Nezih MEYDAN, Doç. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Mediha AYHAN, Yrd. Doç. Dr. Adil COŞKUN, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL'a, tez çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. İmran KURTÖMÜRLÜ ve Yrd. Doç. Dr. Mukadder SERTER'e;

Her zaman yanımda olan eşime ve bana her konuda destek olan ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme teşekkür ederim.

Dr. Serkan Borazan

Aydın, 2012

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ	iv
KISALTMALAR	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. POLİKİSTİK OVER SENDROMU	2
2.1.1. Tanı Kriterleri.....	2
2.1.2. Fizyopatoloji.....	2
2.1.3. Klinik Bulgular.....	4
2.1.4. Laboratuvar Bulguları.....	5
2.1.5. Tedavi.....	6
2.2. İNSÜLİN DİRENCİ VE HİPERİNSÜLİNEMİ	7
2.2.1. İnsülin Direnci Ölçüm Metodları.....	8
2.3. APELİN VE GHRELİN	9
2.3.1. Apelin.....	9
2.3.2. Ghrelin	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Hasta Grubu Seçimi.....	11
3.2. ÇALIŞMA PROTOKOLÜ VE TESTLER	12
3.2.1. Hiperinsülinemik Öglisemik Klemp Testinin Uygulanışı.....	12
3.2.2. Plazma Apelin ve Ghrelin Düzeyinin Hesaplanması.....	16
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	16
4. BULGULAR	16
5. TARTIŞMA	21
6. SONUÇLAR	26
7. TÜRKÇE ÖZET	27
8. İNGİLİZCE ÖZET	29
9. KAYNAKLAR	31

ŞEKİLLER VE TABLolar DİZİNİ

Sayfa no

Şekil 1: Ferriman-Gallwey skalası.....	5
Şekil 2: İnsülin direnci ve PKOS.....	8
Şekil 3: Ghrelin peptidinin moleküler yapısı.....	10
Tablo I: İnsulin ve glukoz dozları.....	15
Tablo II: Demografik ve antropometrik ölçümler.....	17
Tablo III: Biyokimyasal parametreler.....	18
Tablo IV: HOMA-IR, M değeri, apelin ve ghrelin düzeyi.....	18
Tablo V: Polikistik over sendromlu hastalarda M değeri ile antropometrik, laboratuvar ve diğer verilerin karşılaştırılması.....	19
Tablo VI: Polikistik over sendromlu hastalarda serum apelin düzeyi ile antropometrik, laboratuvar ve diğer verilerin karşılaştırılması.....	20
Tablo VII: : Polikistik over sendromlu hastalarda Ferriman-Gallwey skoru ile HOMA-IR ve M değerinin karşılaştırılması.....	21

KISALTMALAR

HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment- Insulin Resistance

LH: Luteinizan Hormon

GnRH: Gonadotropin Releasing Hormon

FSH: Foliküler Stimulan Hormon

TSH: Tiroid Stimüle Edici Hormon

GHRH: Growth Hormon Releasing Hormon

DHEAS: Dehidroepiandrosteron Sülfat

CYP: Sitokrom

11 β -OH: 11 β eta-Hidroksilaz

SHBG: Sex Hormon Binding Globulin

HAIR-AN: Hyperandrogenism Insulin Resistance and Acanthosis Nigricans

β -HCG: β eta-Human Chorionic Gonadotropin

17 α -OH progesteron: 17Alfa-Hidroksi Progesteron

APJ: Apelin Reseptörü

NICHHD: National Institutes of Health and National Institute of Child Health and Human Development

PPAR- γ : Peroxisome Proliferator Activated Receptor-Gamma

ESHRE/ASRM: European Society for Human Reproduction and Embryology ve American Society for Reproductive Medicine

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Polikistik Over Sendromu (PKOS), oligo-anovülasyon, hiperandrojenizm ve polikistik overler ile karakterize, hipotalamo-hipofizer disfonksiyon, steroidogenez bozukluğu, intraovarian faktörler, insülin direnci, genetik faktörler, anormal granüloza hücreleri, enzimatik defektler gibi birkaç sistemin bozuk çalışmasının sinerjistik etkisi sonucu ortaya çıkan, multifaktöriyel bir hastalıktır (1). Üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrinolojik bozukluktur (2). İnfertilite, Tip 2 Diabetes Mellitus (DM), endometrium kanseri, dislipidemi ve koroner arter hastalığı gibi hastalıklara eşlik eder ve önemli sağlık sorunlarına yol açabilir (3). Çok sayıda klinik, laboratuvar ve deneysel verilere rağmen hala fizyopatolojisi hakkında tereddütler vardır.

Polikistik Over Sendromu temelinde insülin direnci içeren bir hastalıktır (4). İnsülin direncinin laboratuvar değeri olarak gösterilmesi için birkaç yöntem mevcuttur. Klinik kullanımda en pratik ölçüm metodu HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment) iken, öglisemik insülin klemp testi insülin direncinin belirlenmesinde altın standart test kabul edilmektedir (5,6).

Apelin, yağ dokusundan sentezlenen bir sitokindir. Santral sinir sistemi, kardiyovasküler sistem gibi bir çok sistem üzerine etkileri olduğu bilinen apelinin son yıllarda insülin direnci üzerine etkileri araştırılmaktadır. Yakın zamanda apelinle ilgili yapılan çalışmalarda, apelin ile insülin düzeyi arasında ilişki olduğu ve apelinin insülin duyarlılığında rolü olabilebileceği gösterilmiştir (7,8). Ghrelin, mideden sentezlenen peptid yapıda bir hormondur (9,10). Enerji dengesi, besin alımı ve kilonun düzenlenmesinde aktif rol oynar. Ghrelin seviyesinin PKOS'lu hasta gruplarında kontrol gruplarına göre azaldığı tespit edilmiş ve azalan ghrelin seviyelerinin insülin direnci ve diabet riskini arttırdığı bildirilmiştir (11,12).

Bu çalışmada, temelinde insulin direnci içeren bir hastalık olan PKOS'lu hastalarda, altın standart test olarak kabul edilen öglisemik klemp testi kullanarak belirlediğimiz insülin direnci ile plazma apelin ve ghrelin düzeyleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. POLİKİSTİK OVER SENDROMU

Polikistik over sendromu oligo-anovülasyon, hiperandrojenizm ve polikistik overler ile karakterizedir (1). İlk olarak 1935 yılında yedi hastadan oluşan bir seride amenore, hirsutizm ve polikistik overlerle karakteristik semptomlar topluluğu olarak tanımlanmıştır (13). Üreme çağındaki kadınların yaklaşık %5-10'unda PKOS bulunmaktadır (2). Bu hastaların, %35-45'inde insülin direnci ve %7-10'unda Tip 2 DM mevcuttur (3).

2.1.1. TANI KRİTERLERİ

'National Institutes of Health and National Institute of Child Health and Human Development' (NICHD) konsensus konferansında 1990 yılında tanı kriterleri belirlenmiştir. Bu kriterlerde ovulatuvar disfonksiyon, hiperandrojenizmin saptanması ve hiperandrojenizmle seyreden diğer hastalıkların dışlanması gerektiği belirtilmiştir (14).

'European Society of Human Reproduction and Embryology' nin 2003 yılında Madrid'de yapılan toplantısında konu tartışılmış ve değiştirilen tanı kriterleri ile; PKOS tanımı, Cushing sendromu, hiperprolaktinemi, tiroid çalışma bozuklukları, klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi gibi PKOS benzeri kliniğe yol açabilecek diğer nedenlerin ekarte edilmesinden sonra, aşağıdaki üç kriterden en az ikisinin bulunması şeklinde ifade edilmiştir (15).

1. Oligo-anovülasyon
2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları
3. Polikistik overler

Polikistik overlerin ultrasonografik tanımı overlerde 2-9 mm çaplı 12 adet veya üzerinde follikül görülmesi ya da over hacminin 10 mililitreden fazla saptanması olarak yapılmış, kistlerin tek bir overde görülmesi yeterli kabul edilmiştir.

2.1.2. FİZYOPATOLOJİ

Polikistik over sendromunun etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkmış kompleks bir hastalık olarak değerlendirilmektedir. Sendromun fizyopatolojisinde gonadotropin salınımında değişiklikler, steroidogenez defektleri, insülin direnci ve genetik faktörler başlıca rol oynamaktadır.

1- Gonadotropin sekresyon defektleri:

Polikistik over sendromunda gonadotropin sekresyon defekti tanımlanmıştır. Luteinizan hormon (LH) pulslarının amplitüdü ve frekansı ile ortalama serum LH konsantrasyonu artmış olarak tespit edilmektedir. Bu değişikliklere gonadotropin releasing hormon (GnRH) salınım sıklığının artışı, GnRH'a yanıt artışı ve yüksek östrojen düzeylerinin neden olduğu düşündürmektedir (16). Polikistik over sendromlu hastalarda LH'un aksine hipofizer folliküler stimulan hormon (FSH) sekresyonu erken folliküler fazda belirgin düşük olarak tespit edilmektedir (17). Düşük FSH düzeyinin nedeni tam olarak anlaşılamamakla beraber kronik karşılanmamış östrojenin negatif etkisi ile artmış GnRH pulsatilitesinin LH- β gen ekspresyonunu FSH- β gen ekspresyonuna göre daha fazla artırması patogeneizde rol oynadığı düşünülen iki mekanizmadır (18).

2- Steroidogenez değişiklikleri:

Polikistik over sendromunda artmış LH düzeyi overlerde steroidogenez androjenlerin üretimi yönünde etkiler. Bunun sonucunda folikül gelişiminde duraklama olur. Teka hücrelerinde insülin, İnsülin like growth factor-1 ve 2 reseptörlerinin uyarılmasının over androjen üretiminde etkileri olduğu saptanmıştır (19). Polikistik over sendromu olan hastaların %20-50'inde artmış DHEAS ve 11 β -OH androstenedion seviyeleri adrenal bezin artmış androjen üretimini göstermektedir (20).

3- İnsülin salınım ve etki bozuklukları:

İnsülin direnci ve beraberinde kompensatuvar hiperinsülinemi hem zayıf hem de obez PKOS hastalarında sık görülen bir bulgudur (4). Polikistik over sendromunda insülin direnci ve hiperinsülinemi overde teka hücrelerinde androjen sentezini arttırarak ve ayrıca karaciğerde seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) düzeyinde azalmaya yol açarak serbest testosteron düzeyini arttırmaktadır. Metforminle tedavi edilen PKOS'lu kadınlarda ilk trimester gebelik kayıplarında önemli bir azalma gösterilmiş ve PKOS'da insülin direnci ile tekrarlayan gebelik kayıpları arasında muhtemel ilişki ileri sürülmüştür (21).

4- Genetik faktörler:

Polikistik over sendromlu bazı hastaların anne ve kız kardeşlerinde hiperandrojenizm ve menstrual disfonksiyonun artmış sıklıkta bulunmasının yanısıra, baba ve erkek kardeşlerde de serum androjen düzeylerinin artmış olduğu görülmektedir (22). Genetik defektlerin incelendiği değişik çalışmalar sendromun kompleks, poligenik bir bozukluk olduğunu göstermektedir (23). Polikistik over sendromu ile ilişkili genetik araştırmalarda hastalıkla ilişkili anormallikler değerlendirilmiş ve steroid hormonlar, karbonhidrat metabolizması ve gonadotropin sekresyonu ile ilgili aday genlere odaklanılmıştır. Steroid biyosentezinde rol oynayan CYP17,

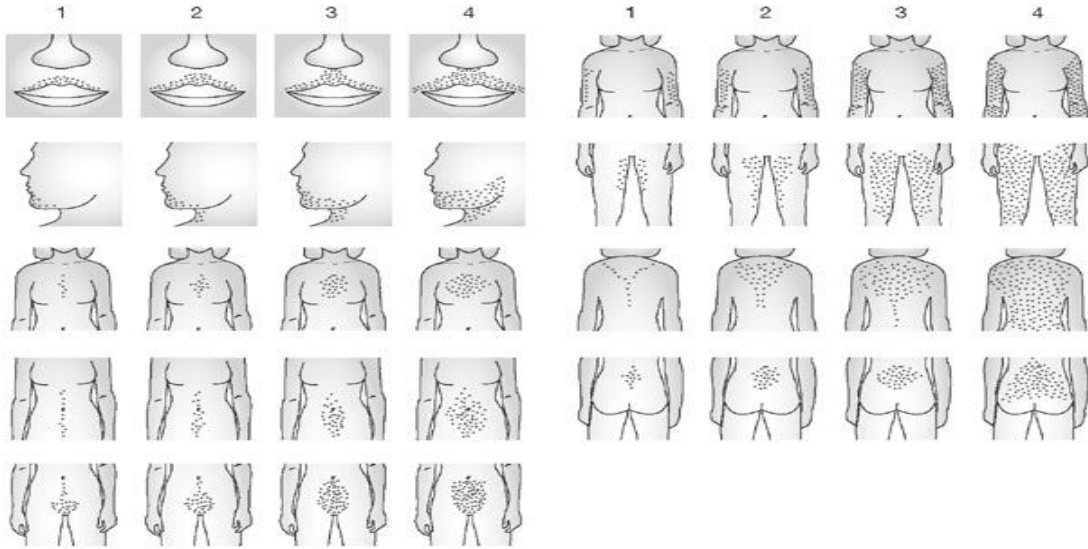
CYP11A ve CYP2 genleri ile androjen reseptör geni ve follistatin gen defektlerinin etiyolojide rol oynayabileceği üzerinde durulmaktadır (24).

2.1.3. KLİNİK BULGULAR

Polikistik over sendromu genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstrüel düzensizlikler, hiperandrojenizm bulguları ve infertilite ile karşımıza çıkmaktadır (25). Menstrüel düzensizlikler; oligo-amenore, disfonksiyonel uterus kanaması; hiperandrojenizm ise hirsutizm, akne, ciltte yağlanma ve androjenik alopesi olarak kendini gösterir. Fizik muayenede obezite en dikkat çekici bulgu iken, nadiren virilizasyon bulguları ve akantosis nigrikans da saptanabilir.

Polikistik over sendromunda görülen anovulasyon peripubertal dönemde başlayan, oligo veya amenore şeklinde görülen bir durumdur. Kanamanın zamanı önceden bilinemez. Bununla birlikte düzenli adet görülmesi de mümkündür (26). Oligoovulasyon PKOS'lu kadınların %70'inde görülür (27).

Hirsutizm, PKOS'da sık görülen, androjen fazlalığının klasik klinik bulgusudur (28). Hirsutizm, modifiye Ferriman-Gallwey metodu ile değerlendirilir (29). Bu metod ile üst dudak, çene, göğüs bölgesi, sırtın alt ve üst kısımları, alt ve üst abdomen, kol ve bacakların üst kısımları olmak üzere toplam dokuz alanda kıl dağılımı 0-4 arasında skorlandırılır. Toplam Ferriman-Gallwey skorunun 8 ve üzerinde olması hirsutizm olarak tanımlanır. Hafif hirsutizm 8-12 arası, orta hirsutizm 13-18 arası ve ağır hirsutizm 19-36 arasındaki değerler için geçerlidir. Akne, ciltte yağlanma ve androjenik alopeside hiperandrojenizme bağlı olarak karşımıza çıkabilmektedir. Etnik özellik ve bireysel farklılıklara bağlı olarak her hastada hirsutizm bulunmayabileceği de akılda tutulmalıdır (30). Ferriman-Gallwey skalası şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: Ferriman-Gallwey skalası

Polikistik over sendromunda obezite görülme sıklığı %40-60 olarak bildirilmektedir (31). Obezite sıklıkla bel/kalça oranının arttığı santral obezite tipinde olup, PKOS'lu hastalara ek riskler getirmektedir (32). Normal vücut ağırlığına sahip PKOS hastalarında da ağırlık yönünden eşleştirilmiş sağlıklı kontrollere göre bel/kalça oranı artmıştır (33).

Virilizasyon bulguları (ses kalınlaşması, erkek tipi kellik vb.) PKOS'lularda nadirdir. Görülmesi durumunda androjen üreten tümör gibi hiperandrojeneminin diğer nedenleri akla getirilmelidir (34).

Akantozis nigrikans, epidermal hiperkeratozis ve dermal fibroblast proliferasyonu ile oluşan; en sık olarak ense, deri kıvrımları, dirsek ve vulvada görülebilen koyu, kadife plaklar şeklindedir (35). Belirgin artmış pigmentasyona rağmen melanosit sayısında artma veya melanosit depolanması yoktur. Hiperinsülineminin varlığı ve şiddeti ile ilişkilidir (36). Hiperandrojenizm ile birlikte bulunursa HAIR-AN sendromu olarak adlandırılır. Hirsutizmlı kadınların %2-5'inde meydana gelir (37).

Klasik olarak PKOS'da infertilitenin primer sebebi anovulasyondur. Anovulasyona neden olan LH hipersekresyonu ile infertilite arasında kompleks bir ilişki vardır. Çeşitli çalışmalarda LH hipersekresyonunun erken gebelik kayıpları ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (38).

2.1.4. LABORATUVAR BULGULARI

Polikistik over sendromunda tek başına tanı koyduracak biyokimyasal test henüz bulunmamaktadır. Hastaların laboratuvar bulguları, over ve adrenal kökenli androjenik hormonlarda artışla karakterizedir. Ayrıca, LH düzeylerinde ve LH/FSH oranında artış olabilir. Yüksek LH düzeyi ve normal FSH ile LH/FSH>2 olması tanıda yardımcı bir parametredir.

Olgularda hiperinsülinemi ve insülin direnci saptanabilir (4). Açlık insülin ve açlık glukoz değerleri ile hesaplanan HOMA-IR, insülin direncini değerlendirmede kullanılır. Plazma testosteron düzeyi genellikle yüksektir. Testosteron bağlayan globulinlerde azalmaya bağlı serbest testosteron düzeyi artar. Plazma testosteron düzeyi artmış kadınlarda deksametazon supresyon testi, plazma kortizol, testosteron ve üriner steroid düzeylerinin ölçümü bize androjen fazlalığının over ya da adrenal bez kaynaklı olup olmadığı hakkında bilgi verebilir.

Polikistik over sendromu tanısı koyabilmek için benzer kliniğe neden olabilecek hastalıkların ekarte edilmesi gerekir. Amenore nedenlerini ekarte edebilmek için β -HCG, prolaktin ve Tiroid stimüle edici hormon (TSH) düzeyleri; hiperandrojenizmin diğer sebeplerini ekarte edebilmek için DHEAS, androstenedion ve 17α -OH progesteron düzeyleri belirlenmelidir.

Serum testosteron düzeyi ovaryan hiperandrojenizm için, DHEAS ise adrenal hiperandrojenizm için en iyi belirteçtir. Serbest testosteron ölçümü SHBG düzeyinden etkileneceği için tanısal değeri daha fazladır (26).

Polikistik over morfolojisi, bir overde 12 veya daha fazla 2-9 mm çapında follikül bulunması ve/veya over volümünün 10 cm^3 ' ün üzerinde olmasıdır. Polikistik over sendromu tanısı için ultrasonografik olarak polikistik over morfolojisinin gösterilmesi gerekli değildir. Çünkü sağlıklı kadınların %20' sinde bu morfoloji bulunabilir (39).

2.1.5. TEDAVİ

Tedavi hedefleri hiperandrojenizmin kontrol edilmesi, menstrüel disfonksiyonun düzeltilmesi ve fertilitenin sağlanmasıdır (40). Klinik hiperandrojenizmin tedavisinde farmakolojik yaklaşımlar androjenlerin baskılanması ve hedef organ etkilerinin azaltılması şeklindedir. Tedavi sonuçları altı ay sonunda ortaya çıkar. Tedavide oral kontraseptifler, uzun etkili GnRH analogları ve insülin duyarlılığını arttırıcı ajanlar kullanılabilir. Spironolakton, siproteron asetat ve flutamid gibi androjen reseptör blokerleri ile finasterid gibi 5α -redüktaz inhibitörü kullanılabilir. Kombine oral kontraseptifler menstrüel siklusu düzenlerler, endometrium koruyucu etkiye sahiptirler ve androjen düzeyini azaltırlar.

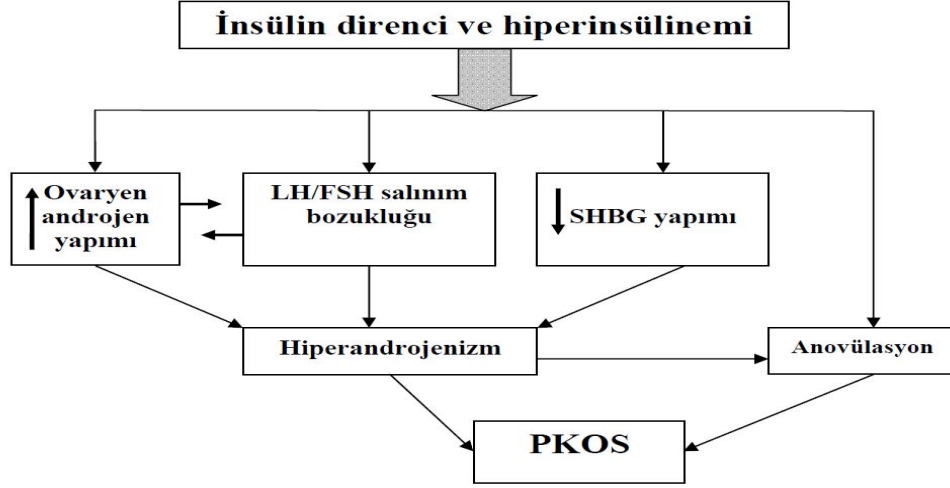
Ovülasyon indüksiyonunda ilk seçenek klomifen sitrattır. İnsülin duyarlılığını arttırıcı ajanlardan en sık kullanılan ajan bir biguanid olan metformindir. Metformin etkisini esas olarak karaciğerde insülin duyarlılığını arttırarak ve glukoneogenezi inhibe ederek gösterir. Klomifen sitrat ile beraber kullanıldığında ovülasyon ve gebelik oranlarında artış sağlamakta, ancak gonadotropinlerle beraber kullanıldığında ovülasyon yanıtı açısından etkili olmamaktadır (41). Thiazolidinedionlar, "*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma*"

(PPAR- γ)' ya bağlanarak insulin duyarlılığında artış sağlar. Polikistik over sendromunda hiperandrojenizm ve ovulatuvar disfonksiyon üzerine olumlu etkisi olduğunu gösterilmiştir (40).

2.2. İNSÜLİN DİRENCİ VE HİPERİNSÜLİNEMİ

İnsülin direnci, insülinin hücre düzeyindeki metabolik olaylara etkisinin veya insüline karşı hücre düzeyinde normalde olması beklenen duyarlılığın azalması olarak tanımlanır. Polikistik over sendromu patofizyolojisinde insülin direncinin önemli rolü vardır. Polikistik over sendromlu kadınların yaklaşık %50-70'inde değişik derecelerde insülin direnci mevcut olduğu tespit edilmiştir (42,43). İnsülin direnci hücresel olarak; reseptör öncesi düzeyde insülin direnci (dolaşan insülin antagonistleri, iskelet kası morfolojisi, kan akımı ve kapiller endotel hücrelerinde bozukluk), reseptör düzeyindeki insülin direnci (mutasyonlar) ve reseptör sonrası düzeyindeki insülin direnci olarak üç sınıfa ayrılır. Bunlardan en önemleri reseptör ve reseptör sonrası düzeyde meydana gelen olaylardır. Bunlar insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesinin azalması, sinyal ileti sisteminde bozukluklar, glukoz transport ve fosforilasyonunda azalma, glikojen sentetaz aktivitesinde azalma ve glikoliz-glukoz oksidasyonunda defektlerdir (44).

Polikistik over sendromlu hastalarda, hiperinsülinemik öglisemik klemp testi esnasında yapılan kas biyopsilerinde, glukoz alımında azalma olduğu saptanmıştır (45). Başka bir çalışmada ise iskelet kaslarından saflaştırılarak elde edilen insülin reseptörlerinin fosforilasyonunun anormal olduğu gösterilmiştir (46). İnsülin direnci ve PKOS arasındaki ilişki şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. İnsülin direnci ve PKOS

2.2.1. İNSÜLİN DİRENCİ ÖLÇÜM METODLARI

İnsülin direncinin değerlendirilmesi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bunlar; bazal insülin düzeyi, glukoz/insülin oranı, intravenöz insülin tolerans testi, oral glukoz tolerans testi, HOMA ve öglisemik hiperinsülinemik klemp testleridir. En sık kullanılan yöntem HOMA-IR yöntemidir. Matthews ve arkadaşları (5) tarafından tanımlanan HOMA testi, hem insülin direncini hem de hücre fonksiyonunu gösterebilen açlık plazma glukozu ve insülin düzeyleri kullanılarak hesaplanan kolay bir testtir.

İlk olarak 1979 yılında De Fronzonun tanımladığı öglisemik klemp testi, diğer yöntemlere göre pratik olmamakla birlikte, periferik insülin direncini belirlemede altın standart olarak kabul edilmektedir (6). Testin temel prensibi hiperinsülinemik bir ortam yaratarak, bu ortamda normoglisemi sağlamak amacıyla verilen glukozun kullanım hızını saptamaya dayanır. Teste 16 saat açlık sonrasında başlanır. Kan şekeri düzeyleri sık takip edilirken, sürekli insülin infüzyonu yapılarak dolaşımda yüksek ve sabit bir insülin düzeyi oluşturulmaya çalışılır. Aynı zamanda verilen glukoz infüzyonu ile kan glukozu normal düzeylerde tutulmaktadır. Hastalarda normoglisemik düzeyi sürdürebilmek için verilen glukoz miktarı, uygulanan insüline karşı oluşan duyarlılık indeksini göstermektedir. İnsülin direnci olan bireylerde glukoz kullanım hızı azalmış olarak bulunur. İnvaziv bir işlem olması nedeniyle rutinde değil, araştırma amacıyla kullanılan çok değerli bir testtir (5).

2.3. APELİN VE GHRELİN

2.3.1. APELİN

Yetişkin memelilerde yağ dokusu adiposit olarak adlandırılan lipid dolu hücrelerden oluşmaktadır. Yağ dokusundan kaynaklanan adipokinlerin hiperlipidemi, diyabet, hipertansiyon ve ateroskleroz gibi hastalıkların patogeneğinde rol oynadıkları gösterilmiştir. Bu adipokinlerden yakın zamanda tespit edilenlerden biri olan apelin ilk olarak sığır mide özsu-yundan elde edilmiştir (9). Apelinin santral sinir sistemi, kalp, akciğer, meme dokusu gibi birçok organda sentezlendiği ve reseptörünün bulunduğu gösterilmiştir (47). İnsanlarda apelin geni Xq25-26.1 kromozomu üzerinde bulunmakta ve 77 aminoasitten oluşan bir pro-peptid olarak kodlanmaktadır (48). Apelin reseptörü (APJ) özellikle beyinde olmak üzere tüm periferik dokularda yaygın olarak bulunmaktadır (49).

Apelin sağlam endotel dokusunda nitrik oksit bağımlı vazodilatasyon yaparken, hasarlı endotelde endotelden bağımsız, direk düz kas hücreleri üzerinden vazokonstriksiyon yapmaktadır. Farelerde doza bağımlı olarak myokard kontraktilitesini arttırdığı tespit edilmiştir (50). Anjiogeneze üzerinde de önemli rolü vardır. Hipotalamusta oksitosin ve vazopresinin sentez edildiği bölgeler olan supraoptik ve paraventriküler nükleuslarda aşırı miktarda apelin ve APJ tespit edilmesi, apelinin su dengesinin düzenlenmesinde de rolü olduğunu düşündürmüştür (51). Vücut kitle indeksi (VKİ) 31- 34 arasında olan insanlarda, yaş gurubu aynı obez olmayanlara göre plazma apelin düzeyi iki kat fazla bulunmuştur (7). Yirmibeş morbid obez olguda ise plazma apelin düzeyi zayıf insanlara göre 5 kat daha fazla bulunmuştur (52). Bu bilgiler, apelinin adipoz dokudan kontrollü bir şekilde salınan yeni bir adipokin olduğunu desteklemektedir (53).

2.3.2. GHRELİN

Gastrointestinal sistem tarafından üretilen, iştah ile vücut ağırlığı üzerinde etkileri olan peptit yapıda bir hormondur. Ghrelin midenin oksintik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip X/A hücreleri tarafından üretilmektedir. Ghrelin, orta zincirli bir yağ asidi olan n-oktanoik asit türevidir olan 28 aminoasitli bir peptiddir (Şekil 3) (10).



Şekil 3. Ghrelin peptidinin moleküler yapısı

İnsan ghrelin geni 3p25-26 kromozomu üzerinde lokalizedir. Başlıca kaynağı mide olmakla birlikte hipotalamus, hipofiz bezi, böbrek, akciğer, plasenta, testis ve pankreasta da üretilmektedir. Sekresyonunun düzenlenmesindeki mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır (54).

Plazma ghrelin konsantrasyonu insanlarda sabah 2’de pik yapar. İnsülin salınımına zıt olarak öğünlerden önce 2 katına çıkıp öğünden bir saat sonra bazal düzeylere geriler (55). Plazma ghrelin seviyesi düşük proteinli öğünler tarafından artırılırken, yüksek yağlı diyetler tarafından azaltılır. Vücut kitle indeksi ile ters orantılıdır ve konsantrasyonu obez, diyabetiklerde düşükken anoreksiya nervozalı hastalarda yüksektir (56,57).

Ghrelin, büyüme hormonu salgılatıcı hormon salınımını artırırken, somatostatin salınımını azaltır. Adipojenik molekül olup kilo alımına yol açar ve enerji homeostazının düzenlenmesinde rol alır. İştah artımı üzerine güçlü bir etkisi olduğu düşünülür. Farelerde ghrelinin intravenöz verilmesi gastrik asit sekresyonu ve gastrik motiliteyi doz bağımlı olarak uyarır. Bu etkinin atropin ile bloke edilip, H₂ reseptör antagonistleri ile bloke edilememesi ghrelinin vagus siniri yoluyla gastrik fonksiyonu etkilediğini düşündürür (58,59).

Ghrelin, büyüme hormonu salgısını artırarak ve insülin sekresyonunu azaltarak kan glukoz düzeylerini arttırır. Bazı kaynaklarda ghrelinin, büyüme hormonu reseptör antagonistleri ile birlikte verildiğinde insülin direncini artırdığı gösterilmiştir (60).

Ghrelin, kalp hızını değiştirmeden arter basıncını azaltır ve kalp yetmezlikli hastalarda kardiyak outputu artırır (61).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA GURUBU SEÇİMİ

Çalışmaya 1.2.2012-1.5.2012 tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalına başvuran 17 hasta dahil edildi. 17 PKOS’lu hasta çalışma gurubunda, 14 sağlıklı premenopozal kadın ise kontrol gurubunda yer aldı. Polikistik over sendromu tanısı 'European Society for Human

Reproduction and Embryology' ve 'American Society for Reproductive Medicine' (ESHRE/ASRM 2003) tanı kriterlerine göre belirlendi. Cushing sendromu, hiperprolaktinemi, tiroid çalışma bozuklukları, klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi gibi PKOS benzeri kliniğe yol açabilecek diğer nedenlerin ekarte edilmesinden sonra, aşağıdaki üç kriterden en az ikisini taşıyan hastalar PKOS olarak kabul edildi.

1-Oligo-anovulasyon,

2-Klinik hirsutizm ve/veya hiperandrojenizmin biyokimyasal bulguları,

3-Ultrasonografi ile polikistik over morfolojisinde 2-9 mm çapında, 12 adet veya daha fazla folikül saptanması (tek overde görüntülenmesi yeterli) veya 10 mililitrenin üzerinde over hacmi olması (tek overde ölçüm yeterli)

Hiperandrojenizm bulgusu olan hirsutizm, Ferriman-Gallwey metodu ile değerlendirildi. Bu metod ile üst dudak, çene, göğüs bölgesi, sırtın alt ve üst kısımları, alt ve üst abdomen, kol ve bacakların üst kısımları olmak üzere toplam dokuz alanda kıl dağılımı 0-4 arasında skorlandırılarak toplam Ferriman-Gallwey skoru 8 ve üzerindeki değerler hirsutizm olarak değerlendirildi. Kontrol gurubuna ise öyküsünde herhangi bir hastalık ve menstrüel düzensizlik olmayan 14 sağlıklı kadın alındı.

Tip 1 DM, Tip 2 DM, postmenopozal, prolaktinoma, konjenital adrenal hiperplazi, koroner arter hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, bilinen malignite öyküsü olan hastalar ve PKOS tanı kriterlerini taşımayan hastalar çalışma dışında tutuldu.

Polikistik over sendromu tanısı konulan hastaların vücut kompozisyonlarının değerlendirilmesi için Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı polikliniğinde bulunan biyoelektrik impedans cihazı ile biyoimpedans analizi yapılarak VKİ, vücut yağ oranı, vücut total su oranı hesaplandı. Holtain Skinfold Caliper cihazı ile non-invaziv olarak deri kıvrım kalınlığı ölçüldü. Vücut kitle indeksi kilogram/metrekare (kg/m^2), vücut yüzey alanı ise m^2 cinsinden hesaplandı.

Çalışma öncesinde Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı. Etik kurul onayı alındıktan sonra (karar numarası:2012/3) çalışma Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı ve Biyokimya Anabilim Dalı işbirliği ile gerçekleştirildi. Hastalara ve kontrol gurubuna çalışmanın amacı, yapılacak işlemler anlatıldı ve çalışma hakkında ayrıntılı olarak bilgilendirilmiş onam formu verilerek yazılı onamları alındı.

3.2. ÇALIŞMA PROTOKOLÜ VE TESTLER

3.2.1.HİPERİNSÜLİNEMİK ÖĞLİSEMİK KLEMP TESTİNİN UYGULANIŞI

Hastalar 16 saatlik açlıktan sonra sabah saat 09.00'da teste alındı. Hastalar en az 20 °C oda sıcaklığında, sırt üstü yatar pozisyonda çalışmaya alındı. Hastaların venöz kan örneklerini

almak için, sağ kol antekubital venlerine branül yerleştirildi. Venöz kanın arteriyalizasyonu sağlamak amacıyla, sağ kol 60 °C sabit ısı sağlayan termostatlı ısıtıcıda 30 dakika süreyle infüzyon yapılmaksızın ısıtıldı. Çalışmanın sonuna kadar sabit derecede sağ kol ısıtılmaya devam edildi.

Sol koldan, 150 cc %0,9'luk serum fizyolojik içine 45 ünite kristalize insülinle birlikte hastadan önceden alınan 2 cc kan konulan solüsyon ve %20 dekstroz solüsyonun gitmesi için 22 gauge branül ve çift lümenli musluk kullanılarak ayrı bir yol hazırlandı. Hasta kanının ilave edilmesi, insülinin plastik yüzeye yapışmasına engel olmak amacıyla yapıldı. Bu solüsyonların verilmesi için infüzyon pompaları kullanıldı. Hastaların çalışma süresince başlangıç ve daha sonraki her 10 dakikada bir kan glukoz değerlerinin ölçümünde Accu-Check marka glukometre kullanıldı.

Her vakanın işlem öncesinde vücut yüzeyi hesaplanarak verilecek sabit hızdaki insülin ve glukoz miktarı hesaplandı. 0-1. dakika (dk) 127.6 mU/m², 1-2dk 113.6 mU/m², 2-3.dk 101.2 mU/m², 3-4.dk 90.2mU/m²'den insülin infüzyonu yapıldı. 4-5.dk'da 80.2 mU/m²'den insülin infüzyonu yapılırken 2 mg/kg'dan aynı koldan glukoz infüzyonu başlatıldı.

İnsülin infüzyonları 5-6 dk 71.4 mU/m², 6-7.dk 63.6 mU/m², 7-8.dk 56.8 mU/m², 8-9.dk 50.4 mU/m², 9- 10dk 45.0 mU/m², 10-11.dk 40 mU/m²'den azaltılan dozlarla verilerek 11. dk'dan itibaren 120.dk'ya kadar 40 mU/m²'den sabit hızda verildi. 4.dk'dan 11.dk'ya kadar 2 mg/kg/dk'dan verilen glukoz miktarı 2.5 mg/kg/dk'ya arttırılıp glukometreyle kan şekeri ölçümü yapıldı.

Klemp testi esnasında verilecek insülin ve glukoz dozlarını belirten form Tablo 1'de gösterilmiştir. Termostatlı düzenekte bulunan sağ koldaki arteriyalize venden alınan kan örneğinden glukometreyle 10 dakikada bir glisemi düzeyleri ölçülerek, hastanın bazal glisemi değerinin $\pm\%10$ 'unda tutulacak şekilde glukoz infüzyon hızı çalışma sonuna kadar sürdürüldü.

Verilecek insülin solüsyonunun ml/saat biriminden hesaplanması

$$\text{İnsülin} = \frac{\text{Vücut yüzey alanı (m}^2\text{)} \times \text{dakika insulin sabitesi} \times 60}{300}$$

Verilecek glukoz miktarının ml/saat biriminden hesaplanması

$$A = \frac{\text{Vücut ağırlığı (kg)} \times 100 \times b \times 60}{20000}$$

*A: Verilecek glukoz miktarı

*b: Önceden belirlenmiş mg/kg biriminden verilmesi gereken glukoz miktarı

Glisemi düzeyine göre glukoz infüzyon hızı değiştirilerek öglisemi sağlandı ve test sonlandırıldıktan sonra 15 dakika daha glukoz infüzyonuna devam edildi. Glukoz kullanım hızı (M değeri) hesaplandı. 20-30, 40-50, 60-70, 80-90 ve 100-110. dakikalardaki glukoz infüzyon miktarlarının ortalaması alındı. Sırası ile a1, a2, a3, a4, a5 olarak guruplandı.

$$C1 = \frac{a1 \times 20000}{\text{Vücut ağırlığı (kg)} \times 100 \times 60}$$

Yukarıdaki formüle göre her 20 dakikalık intervaller için C değerleri hesaplandı. C1, C2, C3, C4, C5 değerleri bu şekilde hesaplandıktan sonra toplamaları alındı. Düzeltme değeri gerektiğinde alttaki formüle göre hesap edildi. Düzeltme değeri; ölçülen glukoz değeri bir önceki değerden yüksek saptandıysa uygulandı. Ortalama C değerinden ortalama DD değeri çıkartılarak bulunan sonuç bize mg/kg/dk cinsinden M değerini verdi.

$$DD1 = (C2 - C1) \times 0.095 \text{ (Düzeltme katsayısı)}$$

$$M = \text{ortalama C değeri} - \text{ortalama DD değeri (mg/kg/dk)}$$

Tablo I: İnsülin ve glukoz dozları

ADI SOYADI:	BOY:	KİLO:	VYA:
SÜRE	İNSÜLİN DOZU	GLUKOZ DOZU	KAN GLUKOZ DÜZEYİ
0-1 dk	127.6 mU/m ²	-	-
1-2 dk	113.6 mU/m ²	-	-
2-3 dk	101.2 mU/m ²	-	-
3-4 dk	90.2 mU/m ²	-	-
4-5 dk	80.2 mU/m ²	2 mg/kg/dk	-
5-6 dk	71.4 mU/m ²	2 mg/kg/dk	-
6-7 dk	63.6 mU/m ²	2 mg/kg/dk	-
7-8 dk	56.8 mU/m ²	2 mg/kg/dk	-
8-9 dk	50.4 mU/m ²	2 mg/kg/dk	-
9-10 dk	45.0 mU/m ²	2 mg/kg/dk	-
10-20 dk	40.0 mU/m ²	2.5 mg/kg/dk	(10. dk)
20-30 dk	40.0 mU/m ²		(20. dk)
30-40 dk	40.0 mU/m ²		(30. dk)
40-50 dk	40.0 mU/m ²		(40. dk)
50-60 dk	40.0 mU/m ²		(50. dk)
60-70 dk	40.0 mU/m ²		(60. dk)
70-80 dk	40.0 mU/m ²		(70. dk)
80-90 dk	40.0 mU/m ²		(80. dk)
90-100 dk	40.0 mU/m ²		(90. dk)
100-110 dk	40.0 mU/m ²		(100. dk)
110-120 dk	40.0 mU/m ²		(110. dk)
			(120. dk)

3.2.2. PLAZMA APELİN VE GHRELİN DÜZEYİNİN HESAPLANMASI

Plazma apelin seviyeleri ELISA metodu ile (Human Apelin -12 ELISA kit, katalog no EK-057-23; Phoenix Pharmaceuticals) çalışıldı. Plazma ghrelin düzeyi ise yine ELISA metodu ile (Human ghrelin ELISA kit, katalog no: HADP-61K , Linco Research) ölçüldü.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Science, version 17.0) kullanılarak değerlendirildi. Verilerin analizlerinin karşılaştırılmasında Kolmogorov-Smirnov testi ile dağılım yapıları değerlendirildikten sonra Student t-Test ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Korelasyon analizlerinde grupların dağılım yapılarına göre Spearman nonparametrik korelasyon testi ile pearson korelasyon testi uygulandı.

4. BULGULAR

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalında yapılan bu çalışmaya, PKOS tanısı alan 17 kadın hasta ve kontrol gurubu olarak 14 sağlıklı kadın alındı. Hasta gurubunun yaş ortalaması 23 ± 4 , kontrol gurubunun yaş ortalaması 25 ± 1 idi ve iki grup arasında fark yoktu ($p>0.05$).

Hasta ve kontrol gurubu antropometrik ölçümler açısından karşılaştırıldığında kilo ($p<0.001$), VKİ ($p<0.001$), vücut yağ oranı ($p=0.009$), vücut su oranı ($p=0.007$) ile triseps ($p<0.001$) ve subskapular deri kıvrım kalınlığı ($p<0.001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Hasta gurubunda VKİ, kilo, vücut yağ oranı, triseps ve subskapular deri kıvrım kalınlıkları kontrol gurubuna göre yüksek; vücut su oranı ise düşük saptandı.

Hasta gurubunun hepsinde Ferriman-Gallwey skoru 8'in üzerinde olup, kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek saptandı (<0.001).

Hasta ve kontrol gurubunun demografik ve antropometrik özellikleri Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II: Demografik ve antropometrik ölçümler

Parametreler	PKOS (n=17)	Kontrol (n=14)	p
Yaş	23±4	25±1	>0.05
Boy (cm)	164.1±5.6	163.6±6.9	>0.05
Kilo (kg)	76.1±17.9	54.1±5.3	<0.001
VKI (kg/m ²)	28.5±7.4	20.2±1.7	<0.001
Vücut yağ oranı (%)	35.2±10.9	25.8±7.1	0.009
Vücut su oranı (%)	47.1±7.9	54.1±4.9	0.007
Deri kıvrım kalınlığı (Subskapular) (cm)	5.4±1.5	3.5±0.5	<0.001
Deri kıvrım kalınlığı (Trisepts) (cm)	5.7±1.6	3.7±0.5	<0.001
Ferriman-Gallwey skoru	15.1±3.8	2.5±0.7	<0.001

Polikistik over sendromlu hasta grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında açlık insülin düzeyi (p=0.001), HOMA-IR (p=0.003), testesteron (p<0.001) ve TSH (p=0.001) düzeylerinde anlamlı farklılık saptandı. Polikistik over sendromlu hastalarda kontrol grubuna göre insülin düzeyi, HOMA-IR, testosteron ve TSH düzeyi artmış olarak saptandı. Açlık kan şekeri, DHEAS, LH/FSH oranı, fT₃ ve fT₄ düzeyleri arasında ise anlamlı fark saptanmadı (>0.05). Hasta ve kontrol grubunun biyokimyasal özellikleri ise tablo III'te gösterilmiştir.

Tablo III: Biyokimyasal parametreler

Parametreler	PKOS (n=17)	Kontrol (n=14)	p
Açlık kan şekeri (mg/dl)	88.1±11.3	91±8.4	>0.05
Açlık insülin düzeyi (mikroİÜ/ml)	14.6±8.4	6.4±1.3	0.001
HOMA-IR	3.3±2.1	1.4±0.3	0.003
LH/FSH	1.8±1.4	1.1±0.2	0.075
Testosteron (ng/dl)	56.9±40.1	3.9±0.8	<0.001
DHEAS (mcg/dl)	188.1±3.1	102.9±2.2	>0.05
TSH (mikroİÜ/ml)	1.7±0.6	1.1±0.4	0.001
fT ₃ (ng/dl)	2.5±0.9	2.9±0.5	>0.05
fT ₄ (ng/dl)	1.4±0.5	1.2±0.1	>0.05

Polikistik over sendromu olan grupta öglisemik klemp testi ile tespit edilen M değeri (metabolize edilen glukoz miktarı) 2.8 ± 1.9 , kontrol gurubunda 6.3 ± 1.8 saptandı. Polikistik over sendromu olan grupta, kontrol gurubuna göre metabolize edilen glukoz miktarı anlamlı derecede düşüktü ($p < 0.001$).

Polikistik over sendromlu hastalarda plazma apelin düzeyi, kontrol gurubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p = 0.011$). Polikistik over sendromlu grup ile kontrol gurubu arasında ghrelin düzeyi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). Hasta ve kontrol gurubuna ait HOMA-IR, M değeri, apelin ve ghrelin düzeyi tablo IV'te gösterilmiştir.

Tablo IV: HOMA-IR, M değeri, apelin ve ghrelin düzeyi

Parametreler	PKOS (n=17)	Kontrol (n=14)	p
Apelin düzeyi (ng/ml)	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.011
Ghrelin düzeyi (ng/ml)	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.2	> 0.05
HOMA-IR	3.3 ± 2.1	1.4 ± 0.3	0.003
M değeri	2.8 ± 1.9	6.3 ± 1.8	< 0.001

Polikistik over sendromlu hastalarda M değeri ile VKİ, vücut yağ oranı, vücut su oranı, subskapular ve triseps deri kıvrım kalınlığı, Ferriman-Gallwey skoru, açlık insülin düzeyi, HOMA-IR ve apelin düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanırken, açlık kan şekeri, testosteron, DHEAS, LH/FSH oranı, TSH, fT_3 , fT_4 ve ghrelin düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Vücut kitle indeksi, vücut yağ oranı, subskapular ve triseps deri kıvrım kalınlığı, Ferriman-Gallwey skoru, açlık insülin düzeyi, HOMA-IR ve apelin düzeyi arttıkça M değeri azalmakta (negatif korelasyon), vücut su oranı arttıkça M değeri artmaktaydı (pozitif korelasyon). Polikistik over sendromlu hastalarda M değeri ile antropometrik, laboratuvar ve diğer verilerin korelasyon analizi Tablo V'te gösterilmiştir.

Tablo V: Polikistik over sendromlu hastalarda M değeri ile antropometrik, laboratuvar ve diğer verilerin korelasyon analizi

Parametreler	r	p
VKI (kg/m ²)	-0.756	<0.001
Vücut yağ oranı (%)	-0.734	0.001
Vücut su oranı (%)	0.753	<0.001
Deri kıvrım kalınlığı (Subskapular) (cm)	-0.758	<0.001
Deri kıvrım kalınlığı (Trisepts) (cm)	-0.596	0.012
Ferriman-Gallwey skoru	-0.613	0.009
Açlık kan şekeri (mg/dl)	0.315	>0.05
Açlık insülin düzeyi (mikroİÜ/ml)	-0.660	0.004
HOMA-IR	-0.630	0.007
LH/FSH	-0.065	>0.05
Testosteron (ng/dl)	-0.218	>0.05
DHEAS (mcg/dl)	0.245	>0.05
TSH (mikroİÜ/ml)	-0.188	>0.05
fT ₃ (ng/dl)	0.076	>0.05
fT ₄ (ng/dl)	0.336	>0.05
Apelin düzeyi (ng/ml)	-0.727	0.001
Ghrelin düzeyi (ng/ml)	-0.353	>0.05

Polikistik over sendromlu hastalarda serum apelin düzeyi ile vücut yağ oranı, vücut su oranı, subskapular deri kıvrım kalınlığı ve Ferriman Gallwey skoru arasında anlamlı korelasyon saptandı. Vücut kitle indeksi, trisepts deri kıvrım kalınlığı, açlık kan şekeri, açlık insülin düzeyi, testosteron ve DHEAS düzeyi, HOMA-IR, LH/FSH oranı, TSH, fT₃ ve fT₄ düzeyleri arasında korelasyon saptanmadı. Polikistik over sendromlu hastalarda serum apelin düzeyi arttıkça vücut yağ oranı, subskapular deri kıvrım kalınlığı, Ferriman Gallwey skoru artmakta (pozitif korelasyon), vücut su oranı ise azalmaktaydı (negatif korelasyon). Polikistik over sendromlu hastalarda serum apelin düzeyi ile antropometrik, laboratuvar ve diğer verilerin korelasyon analizi Tablo VI’da gösterilmiştir.

Tablo VI: Polikistik over sendromlu hastalarda serum apelin düzeyi ile antropometrik, laboratuvar ve diğer verilerin korelasyon analizi

Parametreler	r	p
VKİ (kg/m ²)	0.409	>0.05
Vücut yağ oranı (%)	0.535	0.027
Vücut su oranı (%)	-0.594	0.012
Deri kıvrım kalınlığı (Subskapular) (cm)	0.549	0.023
Deri kıvrım kalınlığı (Trisept) (cm)	0.413	>0.05
Ferriman-Gallwey skoru	0.476	0.04
Açlık kan şekeri (mg/dl)	-0.260	>0.05
Açlık insülin düzeyi (mikroİÜ/ml)	0.213	>0.05
HOMA-IR	0.165	>0.05
LH/FSH	0.139	>0.05
Testosteron (ng/dl)	0.391	>0.05
DHEAS (mcg/dl)	-0.259	>0.05
TSH (mikroİÜ/ml)	0.262	>0.05
fT ₃ (ng/dl)	0.029	>0.05
fT ₄ (ng/dl)	-0.319	>0.05

Polikistik over sendromlu hastalarda ölçülen ghrelin düzeyi ile VKİ, vücut yağ ve su oranı, trisept ve subskapular deri kıvrım kalınlığı, açlık kan şekeri, açlık insülin düzeyi, testosteron ve DHEAS düzeyi, HOMA-IR, LH/FSH oranı, TSH, fT₃, fT₄ düzeyleri ve Ferriman-Gallwey skoru arasında korelasyon saptanmadı (p>0.05).

Polikistik over sendromlu hastalarda Ferriman-Gallwey skoru ile HOMA-IR ve M değeri arasında anlamlı korelasyon saptandı. Ferriman-Gallwey skoru arttıkça HOMA-IR değerinin arttığı (pozitif korelasyon), M değerinin azaldığı (negatif korelasyon) tespit edildi. İnsülin direnci arttıkça hirsutizm şiddetinin arttığı görüldü. Ferriman-Gallwey skoru ile HOMA-IR ve M değerinin korelasyon analizi Tablo VII’de gösterilmektedir.

Tablo VII: Polikistik over sendromlu hastalarda Ferriman-Gallwey skoru ile HOMA-IR ve M değerinin korelasyon analizi

Parametreler	r	p
HOMA-IR	0.548	0.012
M değeri	-0.613	0.009

5. TARTIşMA

Çalışmamızda PKOS'lu hasta ile kontrol gurubu antropometrik ölçümler açısından karşılaştırıldığında hasta gurubunda VKİ, kilo, vücut yağ oranı, triseps ve subskapular deri kıvrım kalınlıkları kontrol gurubuna göre yüksek; vücut su oranı ise düşük saptandı.

Polikistik over sendromlu kadınların %30-75'inde obezite gözlenmektedir. Özellikle intraabdominal visseral yağ dokusunda artış vardır (62). Gennarelli ve arkadaşlarının (63) yaptığı çalışmada PKOS'lu hastalarda ortalama VKİ 26.2 kg/m^2 , İftikhar ve arkadaşlarının (64) alışmasında 28.8 kg/m^2 , Shaker ve arkadaşlarının (65) alışmasında ise 33.14 kg/m^2 olarak saptanmıştır. Bizim alışmamızda da PKOS'lu hastalarda literatürdeki çalışmalara benzer şekilde ortalama VKİ $28.49 \pm 7.41 \text{ kg/m}^2$ olarak saptandı. PKOS'lu hastalarımızın %68'inde VKİ $> 25 \text{ kg/m}^2$ idi.

Vücut yağ oranının değerlendirilmesi için alternatif yöntemlerden birisi deri kıvrım kalınlığının ölçümüdür. İdeal lm dört deri kıvrımından (biseps, triseps, subskapular ve suprailak) llmekle birlikte genellikle iki alanın ölçümü yeterlidir. Deri kıvrım kalınlığı ölçümünün geniş çaplı çalışmalarda subkutan ve visseral yağ dokusu hakkında önemli bilgiler verdiği gösterilmiştir (66,67). Bizim alışmamızda da literatürle uyumlu olarak PKOS'lu hastalarda triseps ve subskapular deri kıvrım kalınlıkları kontrol gurubuna göre yüksek saptandı.

Gennarelli ve arkadaşlarının (63) alışmasında, vücut yağ oranı $\%31 \pm 8$ olup kontrol gurubuna göre yüksek saptanmıştır. Bu çalışmaya benzer şekilde, alışmamızda PKOS'lu hastalarda vücut yağ oranı $\%35.21 \pm 10.96$ olarak kontrol gurubuna göre yüksek saptandı

Çalışmamızda PKOS'lu hastalarda vücut yağ oranı, VKİ ve deri kıvrım kalınlıklarının kontrol gurubuna göre artmış olarak saptanması, PKOS'lu hastalarda yağlanmanın hem visseral hem de subkutan olarak arttığını düşündürmektedir.

Polikistik over sendromu, temelinde insülin direnci içeren bir hastalıktır (4). İnsülin direncinin laboratuvar değeri olarak gösterilmesi için birkaç yöntem mevcuttur. Klinik kullanımda en pratik ölçüm metodu HOMA-IR iken, glisemik insülin klemp testi insülin direncinin belirlenmesinde altın standart test kabul edilmektedir (5,6). De Fronzo tarafından önerilen

ve insülin direncinin varlığını gösteren sınır değeri (M değeri) <4 tür (7). Bizim çalışmamızda öglisemik klemp testi ile elde ettiğimiz M değeri hasta gurubunda 2.8 ± 1.9 , kontrol gurubunda 6.8 ± 1.8 olup anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.001$). Polikistik over sendromlu hastalarda metabolize edilen glukoz miktarı (M değeri), kontrol gurubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edildi. Bu sonuç PKOS gurubunda mutlak insülin direnci varlığını göstermektedir. Kontrol gurubunun M değeri 6.8 ± 1.8 olup, kontrol gurubunda insülin direnci olmadığı görülmüştür. HOMA-IR ile bakılan insülin direnci de öglisemik klemp testi ile elde ettiğimiz sonuçla uyumlu şekilde PKOS'lu hastalarda kontrol gurubuna göre anlamlı şekilde yüksek saptandı. Çalışmamızda, M değeri ile HOMA-IR arasında negatif korelasyon saptandı ($r = -0.562$, $p = 0.001$). Bu bulgu HOMA-IR'nin PKOS'da insülin direncini göstermede öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği yerine kullanılabileceği görüşünü desteklemektedir.

Polikistik over sendromlu obez kadınlar obez olmayanlara göre daha yüksek insülin düzeylerine sahiptirler. Obezite insülin direncini etkileyen temel faktörlerdendir (68). Polikistik over sendromu gurubumuzda M değeri ile vücut kitle indeksi arasında daha önce yapılmış çalışmalarla uyumlu olarak anlamlı negatif korelasyon saptandı ($r = -0.724$, $p < 0.001$). Hasta gurubumuzda vücut kitle indeksi arttıkça insülin direncinin arttığı saptandı.

Hirsutizm, PKOS'da sık görülen, androjen fazlalığının klasik klinik bulgusudur (28). Hirsutizm, modifiye Ferriman-Gallwey metodu ile değerlendirilir (29). Bu metod ile üst dudak, çene, göğüs bölgesi, sırtın alt ve üst kısımları, alt ve üst abdomen, kol ve bacakların üst kısımları olmak üzere toplam dokuz alanda kıl dağılımı 0-4 arasında skorlandırılır. Toplam Ferriman-Gallwey skorunun 8 ve üzerinde olması hirsutizm olarak tanımlanır. Legro ve arkadaşlarının (69) PKOS'lu hastalarda yaptığı çalışmada ortalama Ferriman-Gallwey skoru 14.4 ± 7.9 olup, kadınların %81,7'sinde skor 8'in üstünde saptanmıştır. Çalışmamızda, tüm PKOS'lu hastalarda hirsutizm saptandı. Hastaların %35'inde hafif, %52'sinde orta, %13'ünde ise ağır hirsutizm vardı.

Yapılan çalışmalarda, insülin ile insülin like growth factor-1'in saç foliküllerinin büyümesini androjenlerle birlikte stimüle ettiği gösterilmiştir (70). Ünlühırcı ve ark. (71) çalışmasında hirsutizmlı hastalarda insülin direnci ve bozulmuş glukoz toleransında artış saptanmıştır. Amato ve ark. (72) çalışmasında, yüksek Ferriman-Gallwey skoru ile insülin duyarlılığındaki azalma arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalardan farklı olarak Cosar ve ark. (73) çalışmasında hirsutizmi olan ve olmayan PKOS'lu hastalarda insülin seviyesi, insülin direnci, VKİ arasında farklılık ve korelasyon saptanmamıştır. Yüksek Ferriman-Gallwey skoru ile insülin direncindeki artış arasında ilişkili saptanmamıştır. Bizim çalışma-

mızda M değeri ile hastalardaki Ferriman-Gallwey skoru arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0.787$, $p<0.001$). Bu sonuç; Cosar ve ark. (73) çalışmasının aksine, hastalarda insülin direncindeki artış ile hirsutizmin daha belirgin olduğunu göstermektedir.

Polikistik over sendromlu hastalarda yapılan bazı çalışmalarda, TSH üst sınıra yaklaştıkça insülin direncinin arttığı görülmüştür. Reinehr ve Andler (74) tiroid fonksiyonları ile VKİ arasında ilişki bulunduğunu ve obezlerde TSH düzeyinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Mueller ve ark. (75) yaptığı çalışmada PKOS'lu kadınlarda M değeri ile TSH arasındaki ilişki araştırılmış ve anlamlı ilişki saptanmıştır. TSH değeri 2 mIU/l ve üzerinde olan hastalarda, anlamlı derecede yüksek insülin direnci saptanmıştır. Janssen ve ark. (76) yaptığı çalışmada da PKOS hastalarında normalin üst sınırında bulunan TSH düzeyi ile insülin direnci arasında anlamlı sonuç saptanmıştır. Bizim çalışmamızda PKOS'lu hastalarda TSH değeri 1.7 ± 0.6 'i iken kontrol gurubunda 1.1 ± 0.4 olup iki gurup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.001$). Hasta ve kontrol gurubunda M değeri ile TSH arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0.516$, $p=0.004$). İnsülin direnci belirginleştikçe TSH değeri artmaktaydı. Deneysel çalışmalarda tiroid hormonlarının, insülin direncinde rolü olan β -adrenerjik reseptör ve PPAR- γ 'yı etkilediği gösterilmiştir. Tiroid hormonları, katekolaminler ile lipolizi artırır ve visseral yağ dokusunun azaltılmasına yol açar. Sonuçta insülin direnci azalır. Tiroid hormon eksikliği ya da tiroid metabolizmasının düzenleyici olan deiyodinaz mutasyonunun, obezite ve insülin direncini artırdığı gösterilmiştir (77).

Ghrelin, gastrointestinal sistem tarafından üretilen, iştah ile vücut ağırlığı üzerinde etkileri olan peptit yapıda bir hormondur (10). Ghrelin, growth hormon releasing hormon (GHRH) salınımını artırırken, somatostatin salınımını azaltmaktadır (78,79). Özellikle enerji dengesi, besin alımı ve kilonun düzenlenmesinde aktif rol oynamaktadır. Polikistik over sendromlu hastalarda ghrelin düzeyi ile ilgili veriler oldukça çelişkilidir.

Literatürde PKOS'lu hastalarda ghrelin düzeyinde düşüş olduğunu destekleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Carmina (80) ve Poykko'nun (81) çalışmalarında ghrelin düzeyinin PKOS'lu hastalarda, kontrollere göre azaldığı tespit edilmiş ve azalan ghrelin düzeyinin de insülin direnci ve diyabet riskini artırdığı bildirilmiştir. Panidis ve ark. (82) 50 PKOS'lu hasta ve 10 sağlıklı kontrol gurubu ile yaptığı çalışmada polikistik over sendromlu hastalarda kontrol gurubuna göre ghrelin düzeyi anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Ghrelin düzeyleri obez ve obez olmayan PKOS'lu hastalar ile kontrol gurubu arasında karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ghrelin düzeyi, obez PKOS'lu hastalarda düşük saptanmıştır ancak sadece obez ve obez olmayan PKOS gurubu arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulunmuştur. Vücut kitle indeksi

artıkça ghrelin düzeyinin azaldığı görülmüştür. Aynı çalışmada insülin direnci ile ghrelin arasında da negatif korelasyon saptanmıştır.

Waško ve ark. (83) çalışmasında PKOS'lu hastalarda ghrelin düzeyinde artış olduğunu gösterilmiştir. Orio ve ark. (84) çalışmasında ise PKOS ile ghrelin düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda da PKOS'lu hastalar ile kontrol gurubu arasında ghrelin düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Polikistik over sendromlu hastalar ile kontrol gurubu arasında, dolaşımdaki farklı insülin düzeylerine rağmen, ghrelin düzeylerinin benzer olması, insülin konsantrasyonlarının ghrelin salınımını modüle etmek için yeterli olmadığını düşündürmektedir.

Apelin santral sinir sistemi, kalp, akciğer, meme dokusu gibi birçok organda sentezlenen ve bu bölgelerde reseptörü bulunan peptid yapıda bir adipokindir (47). Reseptörü özellikle beyinde olmak üzere tüm periferik dokularda yaygın olarak bulunmaktadır (49). Santral sinir sistemi, kardiyovasküler sistem gibi bir çok sistem üzerine etkileri olduğu bilinen apelinin son yıllarda insülin direnci üzerine etkileri araştırılmaktadır. Yakın zamanda apelinle ilgili yapılan çalışmalarda, apelin ile insülin düzeyi arasında ilişki olduğu ve apelinin insülin duyarlılığında rolü olabileceği gösterilmiştir.

Bazı çalışmalarda, apelinin insülin sentez ve sekresyonuna negatif yönde etki ettiği, pankreas adacık hücrelerinde glukoz ile uyarılan insülin sekresyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (53). Hayvan deneylerinde, ratlara uzun süreli apelin uygulaması ile insülin duyarlılığının arttığı gösterilmiştir (85). Dray ve Higuchi'nin çalışmalarında kan apelin düzeyi ile HOMA değeri arasında negatif korelasyon gösterilmiş, insülin duyarlılığının azalması ile kan apelin düzeyinde düşme olduğu bildirilmiştir (86,87).

Apelin ve insülin duyarlılığı ilişkisine yönelik yapılan bazı çalışmalarda ise yağ dokusunda insülinin apelin sentezini uyardığı gösterilmiş; hayvanlarda ve insanlarda hiperinsülinemi ile hem yağ dokusunda, hemde plazma apelin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu saptanmıştır (7). Li ve ark. (8) çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada normal VKİ'ye sahip Tip 2 DM tanılı hastalarda apelin düzeyi yüksek düzeyde saptanmış ve insülin direnci ile giden hastalıklarda apelin düzeyinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Cekmez ve ark. (88) yaptığı çalışmada da plazma apelin düzeyleri PKOS'lu grupta kontrol gurubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Polikistik over sendromlu hastalarda HOMA-IR ile insülin direnci arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Hosoya ve ark. (89) yaptığı çalışmada PKOS'da, insülin direnci ve hiperinsülinemi ile birlikte plazma apelin seviyelerinde belirgin artış olduğunu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda M değeri ile serum apelin düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0.536$, $p=0.002$). Öglisemik klemp testi kullanarak insülin direnci saptadığımız PKOS'lu hastalarda, apelin düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. Bu sonuç, insülin direnci ile artan yağ dokusundan apelin sentezinin arttığını ve PKOS gibi temelinde insülin direnci bulunan hastalıklarda plazma apelin düzeyindeki yüksekliğin etiyolojide rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇLAR

Polikistik over sendromu temelinde insülin direnci olan, birçok organ ve sistemde etkileri olduğu bilinen multifaktöriyel bir hastalıktır. Hirsutizm, en sık görülen klinik bulgusu olup insülin direnci arttıkça şiddeti artmaktadır.

Polikistik over sendromlu hastaların büyük bir kısmında, VKİ, vücut yağ oranı ve deri kıvrım kalınlığı artmıştır. Obezite sıklıkla eşlik eden bir bulgudur. Hastalarda hem visseral hem de subkutan yağ dokusunda artış görülmektedir.

Polikistik over sendromlu hastalarda, TSH üst sınıra yaklaştıkça insülin direnci artmaktadır.

İnsülin direncini göstermede altın standart test olarak kabul edilen öglisemik klemp testi ile PKOS'lu hastaların tamamında insülin direnci saptanmıştır. HOMA-IR ile bakılan insülin direnci de öglisemik klemp testi ile elde ettiğimiz sonuçla uyumlu şekilde PKOS'lu hastalarda kontrol gurubuna göre anlamlı şekilde yüksek saptandı. Çalışmamız, HOMA-IR'nin PKOS'da insülin direncini göstermede öglisemik klemp testi yerine kullanılabileceği görüşünü desteklemektedir.

Polikistik over sendromlu hastalar ile kontrol gurubu arasında ghrelin düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Polikistik over sendromlu hastalar ile kontrol gurubu arasında, dolaşımdaki farklı insülin düzeylerine rağmen, ghrelin düzeylerinin benzer olması, insülin konsantrasyonlarının ghrelin salınımını modüle etmek için yeterli olmadığını ve PKOS'da ghrelin düzeyinin etkilenmediğini düşündürmektedir.

Polikistik over sendromlu hastalarda, insülin direnci arttıkça serum apelin düzeyi artmaktadır. Çalışmamız, insülin direnci ile artan yağ dokusundan apelin sentezinin arttığını ve PKOS'da plazma apelin düzeyindeki yüksekliğin etiyolojide rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

7. ÖZET

Amaç

Bu çalışmada, PKOS'lu hastalarda, altın standart test olarak kabul edilen öglisemik klemp testi kullanarak belirlediğimiz insülin direnci ile plazma apelin ve ghrelin düzeyleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Yöntem

Çalışmaya Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalına başvuran 31 kişi dahil edildi. Yaş ortalaması 23 ± 4 olan 17 PKOS'lu hasta çalışma gurubunda, yaş ortalaması 25 ± 1 olan 14 sağlıklı premenopozal kadın ise kontrol gurubunda yer aldı. Polikistik over sendrom tanısı 'European Society for Human Reproduction and Embryology ve American Society for Reproductive Medicine' (ESHRE/ASRM 2003) tanı kriterlerine göre belirlendi.

Tüm hasta ve kontrol gurubunun insülin direnci, altın standart test olarak kabul edilen öglisemik insülin klemp testi ile belirlendi. Hasta ile kontrol gurubu arasında demografik, antropometrik ölçüler ve biyokimyasal parametreler karşılaştırıldı.

Bulgular

Polikistik over sendromu'lu hasta gurubu ile kontrol gurubu antropometrik ölçümler açısından karşılaştırıldığında kilo ($p<0.001$), VKİ ($p<0.001$), vücut yağ oranı ($p=0.009$), vücut su oranı ($p=0.007$) ile triseps ($p<0.001$) ve subskapular deri kıvrım kalınlığı ($p<0.001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Hasta gurubunda VKİ, kilo, vücut yağ oranı, triseps ve subskapular deri kıvrım kalınlıkları kontrol gurubuna göre yüksek; vücut su oranı ise düşük saptandı. Hasta gurubunun hepsinde Ferriman-Gallwey skoru 8'in üzerinde olup, kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek saptandı (<0.001).

Polikistik over sendromlu hasta gurubu, kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında açlık insülin düzeyi ($p=0.001$), HOMA-IR ($p=0.003$), testosteron ($p<0.001$) ve TSH ($p=0.001$) düzeyleri anlamlı saptandı. Polikistik over sendromlu hastalarda kontrol gurubuna göre insülin düzeyi, HOMA-IR, testosteron ve TSH düzeyi artmış olarak saptandı.

Polikistik over sendromu olan grupta öglisemik klemp testi ile tespit edilen M değeri (metabolize edilen glukoz miktarı), kontrol gurubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.001$). Polikistik over sendromlu hastalarda plazma apelin düzeyi, kontrol gurubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p=0.011$). Polikistik over sendromlu grup ile kontrol gurubu arasında ghrelin düzeyi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Polikistik over sendromlu hastalarda M değeri ile apelin düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanırken, ghrelin düzeyi arasında korelasyon saptanmadı. Apelin düzeyi attıkça M değeri azalmaktaydı.

Sonuç

Polikistik over sendromlu hastalarda insülin direnci arttıkça serum apelin düzeyi artmakta, ghrelin düzeyi ise değişmemektedir. Bu sonuç, insülin direnci ile artan yağ dokusundan apelin sentezinin arttığı ve PKOS gibi temelinde insülin direnci bulunan hastalıklarda, plazma apelin düzeyindeki yüksekliğin etiyolojide rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Polikistik over sendromu, öglisemik kelmp testi, insülin direnci, apelin, ghrelin

RELATIONSHIP BETWEEN INSULIN RESISTANCE, PLASMA APELIN AND GHRELIN LEVELS IN THE PATIENTS WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

8. SUMMARY

Objective

This study aims to assess the relationship between insulin resistance that we have found through euglycemic clamp test, which is considered as the gold standard test for patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) and plasma levels of apelin and ghrelin.

Material Methods

A total of 31 applicants to Adnan Menderes University, Medical School, Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism were involved in the study. The working group consisted of 17 PCOS with an average age of 23 ± 4 , the control group covered 14 healthy premenopausal women with an average age of 25 ± 1 . The polycystic ovary syndrome was diagnosed in accordance with diagnosis criteria of the European Society for Human Reproduction and Embryology and American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM 2003).

The insulin resistance of all of the patient and control groups was found through euglycemic clamp test, which is considered as the gold standard test. A comparison of demographic, anthropometric measures and biochemical parameters was carried out between the patient and control groups.

Results

A statistically significant difference was found among weight ($p<0.001$), body mass index ($p<0.001$), body fat percentage ($p=0.009$), body water rate ($p=0.007$) and triceps ($p<0.001$) and subscapular skin fold thickness ($p<0.001$) in the results of patient group with polycystic ovary syndrome compared with the control group in terms of anthropometric measures. The body mass index, weight, body fat percentage, triceps and subscapular skin fold thickness in patient group were higher than those of the control group, whereas the body water rate was found lower. There was a Ferriman-Gallwey score of more than 8 in the entire patient group, which was found statistically significantly higher, compared to the control group (<0.001).

The patient group with polycystic ovary syndrome displayed statistically significant results in terms of fasting insulin level ($p=0.001$), HOMA-IR ($p=0.003$), testosterone ($p<0.001$) and TSH ($p=0.001$), compared to the control group. The insulin level,

HOMA-IR, testosterone and TSH level were found higher in patients with polycystic ovary syndrome than the control group.

The M value (amount of metabolized glucose) which is found through euglycemic clamp test was statistically significantly lower in the group with polycystic ovary syndrome, compared to the control group ($p<0.001$). There was no statistically significant difference between the group with polycystic ovary syndrome and control group in terms of ghrelin level ($p>0.05$).

A meaningful correlation was found between the M value and apelin level in patients with polycystic ovary syndrome, whereas no correlation existed in terms of ghrelin level. While the apelin level increased, the M value decreased.

Conclusions

Insulin resistance increases in parallel to an increase in serum apelin level, but the ghrelin level remains the same. It is considered that apelin synthesis increases as a result of an increase in fatty tissue due to insulin resistance, and that a higher plasma apelin level could play a role in etiology in patients with PCOS which is also based on insulin resistance.

Keywords: Polycystic ovary syndrome, euglycemic clamp test, insulin resistance, apelin, ghrelin

9. KAYNAKLAR

1. Nestler JE. Role of hyperinsulinemia in the pathogenesis of the polycystic ovary syndrome, and its clinical implications. *Sem Reprod Endocrinol.* 1997; 15: 111-122.
2. Slowey MJ. Polycystic ovary syndrome: New perspective on an old problem. *South Med J.* 2001; 94: 190-196.
3. MKidson W. Polycystic ovary syndrome: a new direction in treatment. *Med J Aust.* 1998; 169: 537-540.
4. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes.* 1989; 38: 1165-1174.
5. Mathehews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985; 28: 412.
6. Paccini G, Mari A: Methods for clinical assesment of insulin sensitivity and beta-cell function. *Best. Pract. Res.Clin. Endocrinol Metab.* 2003; 17: 305-322.
7. Boucher J, Masri B, Daviaud D, Apelin, a newly identified adipokine upregulated by insulin and obesity. *Endocrinology.* 2005; 146: 1764-1771.
8. Erdem G, Dogru T, Tasci I, Sonmez A, Tapan S. Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2008; 116: 289-292.
9. Tatemoto K., Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 251: 471-746.
10. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999; 402: 656-660.
11. Carmina E, Orio F, Palomba S, Cascella T, Longo RA, Colao AM, Lombardi G, Lobo RA. Evidence for altered adipocyte function in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology.* 2005; 152: 389-394.

12. Poykko SM, Kellokoski E, Horkko S, Kauma H, Kesaniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type-2 diabetes. *Diabetes*. 2003; 52: 2546–2553.
13. Stein IF, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J obstet Gynecol*. 1935; 28: 181-191.
14. Taylor AE. Polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1998; 27: 877- 903.
15. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004; 81: 19-25.
16. Franks S. Polycystic ovary syndrome: a changing perspective. *Clin Endocrinol*. 1989; 31: 87-120.
17. 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: 1320-1329.
18. Yen SS. The polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*. 1980; 12: 177-207.
19. Nahum R, Thong KJ, Hillier SG. Metabolic regulation of androgen production by human thecal cells in vitro. *Hum Reprod*. 1995; 10: 75-81.
20. Moran C, Knochenhauer E, Boots LR, Azziz R. Adrenal androgen excess in hyperandrogenism: relation to age and body mass. *Fertil Steril*. 1999; 71: 671-674.
21. 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 *Fertil Steril*. 2001; 75: 46-52.
22. Yildiz BO, Yarali H, Oguz H, Bayraktar M. Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 2031-2036.
23. Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update*. 2001; 7: 3-7.
24. Geva E, Jaffe RB, Edward WE. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril*. 2000; 74: 424-438.
25. Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary I. Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab*. 1961; 22: 325-338.

26. Lobo RA, Carmina E. The importance of diagnosing the polycystic ovary syndrome. *Ann Intern Med.* 2000; 132: 989-993.
27. Richardson MR. Current perspectives in polycystic ovary syndrome. *Am Fam Physician.* 2003; 68: 697-704.
28. Buggs C, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome in adolescence. *Endocrinol Metab Clin N Am.* 2005; 34: 677-705.
29. Rosenfield RL. Hirsutism. *N Engl J Med.* 2005; 353: 2578-2588.
30. 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: 202-206.
31. 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: 2745-2749.
32. Bjorntorp P. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand Suppl.* 1988; 723: 121-134.
33. 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: 179-187.
34. Azziz R. Hirsutism. In: Droegemueller W, Sicarra JJ, eds. *Gynecology and obstetrics.* Vol 5. Philadelphia: Lippincott, 1994: 1-22.
35. Grasinger CC, Wild RA, Parker IJ. Vulvar acanthosis nigricans: A marker for insulin resistance in hirsute women. *Fertil Steril.* 1993; 59: 583-586.
36. Stuart CA, Peters EJ, Prince MJ, Richards G, Cavallo A, Meyer WJ. Insulin resistance with acanthosis nigricans: The roles of obesity and androgen excess. *Metabolism* 1986; 35: 197-205.
37. Azziz R. The hyperandrogenic-insulin-resistant acanthosis nigricans syndrome: therapeutic response. *Fertil Steril.* 1994; 61: 570-572.
38. Balen AH, Tan SL, Jacobs HS. Hypersecretion of luteinising hormone: a significant cause of infertility and miscarriage. *Br J Obstet Gynaecol.* 1993; 100:1082-1089.
39. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Hasetline FP, Merriam

- GR. Polycystic ovary syndrome. Oxford, England: Blackwell Scientific. 1992: 377-384.
40. Yildiz BO. Recent advances in the treatment of polycystic ovary syndrome. *Expert Opin Investig Drugs*, 2004; 13: 1295-1305.
 41. Attia GR, Rainey WE, Carr BR. Metformin directly inhibits androgen production in human thecal cells. *Fertil Steril*, 2001; 76: 517-524.
 42. Phipps WR. Polycystic ovary syndrome an ovulation induction. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2001; 28: 165- 182.
 43. Legro RS, Kunesman 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: 165-169.
 44. Mlinar B, Marc J, Janez A, Pfeifer M. Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clin Chim Acta*. 2007; 375: 20-35.
 45. Dunaif A, Wu X, Lee A, Diamanti-Kandarakis E. Defects in insulin receptor signaling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001; 281: 392-399.
 46. Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest*. 1995; 96: 801-810.
 47. Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1452: 25–35.
 48. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*. 2000; 74: 34–41.
 49. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, Lawrie KW, Hervieu G, Riley G, Bolaky JE, Herrity NC, Murdock P, Darker JG Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003; 84: 1162–1170
 50. Szokodi I, Tavi P, Foldes G, Apelin the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*. 2002; 91: 434–440.

51. Brailoiu GC, Dun SL, Yang J, Ohsawa M, Chang JK, Dun NJ, Apelin immunoreactivity in the rat hypothalamus and pituitary. *Neurosci Lett.* 2002; 327: 193-197.
52. Heinonen MV, Purhonen AK, Miettinen P, Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul Pept.* 2005; 130: 7-13.
53. Sorhede Winzell M, Magnusson C, Ahren B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul Pept.* 2005; 131: 12-17.
54. Kaiya H, Van Der Geyten S, Kojima M, Hosoda H, Kitajima Y, Matsumoto M, Geelissen S, Darras VM, Kangawa K. Chicken ghrelin: purification, cDNA cloning, and biological activity. *Endocrinology.* 2002; 143: 3454-3463.
55. Tschop M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, Folwaczny C. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest.* 2001; 24: 19- 21.
56. Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Grottoli S, Tassone F et al. Effects of glucose, free fatty acids or arginine load on the GHreleasing activity of ghrelin in humans. *Clin Endocrinol.* 2002; 57: 265-271.
57. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, Wawarta R, Folwaczny C, Riepl RL. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol.* 2001; 145: 669-673.
58. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology.* 2000; 141: 4325-4328.
59. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 4908-4911.
60. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 5083-5086.

61. Wiley KE, Davenport AP. Comparison of vasodilators in human internal mammary artery: ghrelin is a potent physiological antagonist of endothelin-1. *Br J Pharmacol.* 2002; 136: 1146-1152.
62. Wild RA, Carmina E, Diamanti-Kandarakis E, Dokras A, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Lobo R, Norman RJ, Talbott E, Dumesic DA. Assessment of cardiovascular risk and prevention of cardiovascular disease in women with the polycystic ovary syndrome: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome (AE-PCOS) Society. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010, 95: 2038-2049.
63. Gennarelli G, Holte J, Wide L, Berne C, Lithell H. Is there a role for leptin in the endocrine and metabolic aberrations of polycystic ovary syndrome? *Hum Reprod.* 1998; 13: 535-541.
64. Iftikhar S, Collazo-Clavell ML, Roger VL, St Sauver J, Brown RD Jr, Cha S, Rhodes DJ. Risk of cardiovascular events in patients with polycystic ovary syndrome. *Neth J Med.* 2012; 70: 74-80.
65. Shaker M, Mashhadani ZI, Mehdi AA. Effect of Treatment with Metformin on Omentin-1, Ghrelin and other Biochemical, Clinical Features in PCOS Patients. *Oman Med J.* 2010; 25: 289-293.
66. Lohman TG. Skinfolts and body density and their relation to body fatness: A review. *Hum Biol.* 1981; 53: 181-225.
67. Sloan AW, Weir JB. Nomograms for prediction of body density and total body fat from skinfold measurements. *J Appl Physiol.* 1970; 28: 221-222.
68. Maciel GA, Soares Júnior JM, Alves da Motta EL, Abi Haidar M, de Lima GR, Baracat EC. Nonobese women with polycystic ovary syndrome respond better than obese women to treatment with metformin. *Fertil Steril.* 2004; 81: 355-360.
69. Legro RS, Schlaff WD, Diamond MP, Coutifaris C, Casson PR, Brzyski RG, Christman GM, Trussell JC, Krawetz SA, Snyder PJ, Ohl D, Carson SA, Steinkampf MP, Carr BR, McGovern PG, Cataldo NA, Gosman GG, Nestler JE, Myers ER, Santoro N, Eisenberg E, Zhang M, Zhang H; Reproductive Medicine Network. Total testosterone assays in women with polycystic ovary syndrome: precision and correlation with hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95: 5305-5313.

70. Itami S, Kurata S, Takayasu S. Androgen induction of follicular epithelial cell growth is mediated via insulin-like growth factor-I from dermal papilla cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 212: 988-994.
71. Unlühizarci K, Karababa Y, Bayram F, Kelestimur F. The investigation of insulin resistance in patients with idiopathic hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 2741-2744.
72. Amato MC, Galluzzo A, Merlino S, Mattina A, Richiusa P, Criscimanna A, Giordano C. Lower insulin sensitivity differentiates hirsute from non-hirsute Sicilian women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2006; 155: 859-865.
73. Cosar E, Koken G, Sahin FK, Arioz DT, Yilmazer M. Insulin sensitivity does not differentiate by hirsutism in non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Endocr J.* 2008; 55: 465-468.
74. Reinehr T, Andler W. Thyroid hormones before and after weight loss in obesity. *Arch Dis Child.* 2002; 87: 320–323.
75. Mueller A, Schöfl C, Dittrich R, Cupisti S, Oppelt PG, Schild RL, Beckmann MW, Häberle L. Thyroid-stimulating hormone is associated with insulin resistance independently of body mass index and age in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2009; 24: 2924-2930.
76. Janssen OE, Mehlmauer N, Hahn S, Offner AH, Gärtner R. High prevalence of autoimmune thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2004; 150: 363-369.
77. Dallongeville J, Helbecque N, Cottel D, Amouyel P, Meirhaeghe A. The Gly16-Arg16 and Gln27–Glu27 polymorphisms of beta2-adrenergic receptor are associated with metabolic syndrome in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 4862–4866.
78. O-Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 2988–2991.
79. Popovic V, Miljic D, Micic D, Damjanovic S, Arvat E, Ghigo E, Dieguez C, Casanueva FF. Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 3450-3453.

80. Carmina E, Orio F, Palomba S, Cascella T, Longo RA, Colao AM, Lombardi G, Lobo RA. Evidence for altered adipocyte function in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology*. 2005; 152: 389–394.
81. Poykko SM, Kellokoski E, Horkko S, Kauma H, Kesaniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type-2 diabetes. *Diabetes*. 2003; 52: 2546–2553.
82. Panidis D, Asteriadis C, Georgopoulos NA, Katsikis I, Zournatzi V, Karkanaki A, Saltamavros AD, Decavalas G, Diamanti-Kandarakis E. Decreased active, total and altered active to total ghrelin ratio in normal weight women with the more severe form of polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010; 149: 170-174.
83. WaskoR, Komarowska H, Warenik-Szymankiewicz A and Sowinski J (2004) Elevated ghrelin plasma levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Horm Metab Res*. 36, 170–173.
84. Orio F Jr, Lucidi P, Palomba S, Tauchmanova L, Cascella T, Russo T, Zullo F, Colao A, Lombardi G, De Feo P. Circulating ghrelin concentrations in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 942-945.
85. Yue P, Jin H, Aillaud-Manzanera M, Deng AC, Azuma J, Asagami T, Kundu RK, Reaven GM, Quertermous T, Tsao PS. Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009; 12: 27.
86. Dray C, Knauf C, Daviaud D, Waget A, Boucher J, Buleon M, Cani PD, Attane C, Guigne C, Carpenne C, Burcelin R, Castan-Laurell I, Valet P. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metab*. 2008; 8: 437-445.
87. Higuchi K, Masaki T, Gotoh K, Chiba S, Katsuragi I, Tanaka K, Kakuma T, Yoshimatsu H. Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology*. 2007; 148: 2690-2697.
88. Cekmez F, Cekmez Y, Pirgon O, Canpolat FE, Aydinöz S, Metin Ipcioglu O, Karademir F. Evaluation of new adipocytokines and insulin resistance in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Eur Cytokine Netw*. 2011; 22: 32-37.

89. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of Mrna and interaction with the endogenous ligand apelin. J Biol Chem. 2000; 275: 21061-21067.