

1.GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS), üreme çağında kadınlarda rastlanan en sık reproduktif endokrinopatidir (1). Görülme sıklığı farklı tanı kriterlerine göre değişmekle beraber, genel olarak reproduktif dönemde %6-8 civarındadır (2). Bu sendrom değişik nedenlerden kaynaklanan insülin rezistansı veya hiperinsülinemiyle beraber seyreden hiperandrojenizmin eşlik ettiği bir oligo-anovülasyon durumu olarak tanımlanabilir. Androjen salgılayan tümörler, cushing sendromu, sürrenal hiperplazi, tiroid hastalıkları ve hiperprolaktinemi gibi diğer benzer rahatsızlıkların dışlanması gereklidir (3).

2003 yılında ESHRE/ASRM kongresinde tanı kriterleri gözden geçirilerek değiştirilmiştir. Bu tanılamaya göre oligo-anovülasyon, hiperandrojenizm klinik ve/veya biokimyasal bulguları ve polikistik overler bulgularının üç tanesinden ikisinin bulunması ile tanı konur. Ayrıca diğer nedenler (Androjen salgılayan tümörler, cushing sendromu, sürrenal hiperplazi, tiroid hastalıkları ve hiperprolaktinemi) ekarte edilmelidir (1).

PKOS için 2006 yılında Androjen Fazlalığı Topluluğu (AES yeni tanı kriterleri tanımlamıştır. Bunlar, hirsutizm ve/veya hiperandrojeniz, oligoanovulasyon ve/veya polikistik overler ve diğer androjen fazlalığı nedenlerinin dışlanmasıdır. PKOS tanısı için üç kriterin sağlanması gerekmektedir (4).

PKOS'luların %50'den fazlasında android tip obezite ve bel/kalça oranında artış izlenir. Bu da kardiyovasküler hastalık ve diabetes mellitus (DM) riskiyle ilişkilidir (5).

Adipokiler yağ dokudan salınan biyolojik olarak aktif peptidler olup (6), Bu adipositokinlerden tümör nekroz faktör α (TNF- α), interlökin 6 (IL-6), C reaktif protein (CRP), IGF-1, seks steroidleri, rezistin, visfatin, adiponektin ve apelinin insülin direnci ile ilgili olduğu gösterilmiştir (7).

Bu adipokinlerden apelin yeni keşfedilmiş bir peptid olup yakın zamanlı çalışmalarda obezite ve insülin direnciyle yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir (8, 9). Ayrıca apelin ve apelinerjik sistemin memeli ovaryan folikül gelişimi, foliküler atrezi ve tekal doku anjiogenezinde etkin olduğu da gösterilmiştir (10, 11).

Tüm bunlarla birlikte literatürde insülin direnci, obezite, kardiyovasküler hastalık riski ile beraber seyreden ve folikül gelişim bozukluğunun eşlik ettiği çok

sayıda gelişimini tamamlamamış ovaryan foliküllerle karakterize bir durum olan polikistik over sendromunda (3), apelin düzeyleri veya apelin etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada benzer yaş ve vücut kitle indekslerine sahip polikistik over sendromlu hastalarla, kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilen sağlıklı kadınlar arasında plazma apelin düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik over sendromu

2.1.1. Tarihçe ve Tanı:

Polikistik over sendromu Stein-Leventhal tarafından 1935 yılında obezite, amenore ve hirsutismus üçlüsünden oluşan bir sendrom olarak tanımlanmıştır. İlerleyen zamanlarda bu sendromun değişken bir hasta grubunu kapsadığı, genel olarak serum androjen düzeyi yükseklikleri, overde kendine özgü morfolojik bir görünüm ortaya çıkardığı ve tüm PKOS'lu hastalarda bütün belirtilerin bulunmayacağı gözlenmiştir (1). Polikistik over sendromu üreme çağında kadınlarda en sık rastlanan endokrinolojik bozukluk olup sıklığı farklı tanı kriterlerine göre değişmekle beraber yaklaşık olarak % 6-8 civarındadır (2).

Polikistik over sendromu ya da hastalığı gibi terimlerle sınırlı kalmak yerine bu sorunu değişik nedenlerden kaynaklanan insülin rezistansı veya hiperinsülinemiyle beraber seyreden hiperandrojenizmin eşlik ettiği bir oligo-ovülasyon durumu olarak tanımlamak daha doğrudur. Ayrıca benzer klinik tablolara neden olan androjen salgılayan tümörler, cushing sendromu, sürrenal hiperplazi, tiroid hastalıkları ve hiperprolaktinemi gibi rahatsızlıkların dışlanması gereklidir (3).

PKOS tanısında hali hazırda kesin bir görüş birliği mevcut değildir. Yakın zamana kadar 1990 National Institute of Health/National Institute of Child Health and Human Development (NIH/NICHHD) konferansında kabul edilen tanı kriterleri kullanılmaktaydı.

Bu kriterler:

- 1)Hiperandrojenizm ve/veya hiperandojenemi
- 2)Oligo ovülasyon
- 3)Diğer patolojilerin (Androjen salgılayan tümörler, cushing sendromu, sürrenal hiperplazi, tiroid hastalıkları ve hiperprolaktinemi) ekarte edilmesidir.

Ultrasonografi de PKOS görüntüsü tanıyı destekleyen bir kriter olmakla birlikte gerekliliği mutlak değildir (1).

Ultrasonagrafide polikistik over görünümü (Overlerde inci kolye benzeri dizilmiş foliküller) tüm kadınların yaklaşık %20 - 25'inde görülür (12,13). Oral kontraseptif kullanan hastaların dahi yaklaşık %14'ünde bu görünüm izlenmektedir (14).

Rotterdam'da 2003 yılında toplanan ESHRE/ASRM kongresinde tanı kriterleri gözden geçirilerek değiştirilmiştir. Bu tanılamaya göre oligoanovülasyon, hiperandrojenizm klinik ve/veya biokimyasal bulguları ve polikistik overler bulgularının üç tanesinden ikisinin bulunması ile tanı konur. Ayrıca diğer nedenler (Androjen salgılayan tümörler, cushing sendromu, sürrenal hiperplazi, tiroid hastalıkları ve hiperprolaktinemi) ekarte edilmelidir (1).

Hirsütizm, obezite, insülin direnci, Luteinizan hormon/Folikül stimulan hormon (LH/FSH) oranının artmış olması gibi kriterler tutarlılıkları şüpheli olduğundan majör tanı kriterleri olarak kabul edilmezler. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de PKOS'lu hastaların %70'inde görülmesine karşın (15) Japonlarda %10-20 oranında (16) hirsutismus görülür. Bu durum 5- α redüktaz aktivitesinde olası genetik farklılıklarla açıklanmaktadır (17, 18). Erken yaşlarda yoğun akne görünümü de PKOS için önemli bir belirteçdir (19).

2006 yılında Androjen Fazlalığı Topluluğu (AES), PKOS için yeni tanı kriterleri tanımlamıştır. Bunlar, hirsütizm ve/veya hiperandrojenizm, oligoanovülasyon ve/veya polikistik overler ve diğer androjen fazlalığı nedenlerinin dışlanmasıdır.(4). PKOS tanısı için üç kriterin sağlanması gerekmektedir.

Tablo 2.1. PKOS Tanı Kriterleri

1990 (NIH/NICHHD) Tanı Kriterleri (İki kriter beraber) 1)Kronik anovulasyon 2)Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm *Diğer nedenlerin ekarte edilmesi
2003 Roterdam ESHRE/ASRM Kriterleri (3 kriterden ikisi olmalı) 1) Oligo veya anovulasyon 2)Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm 3)Polikistik Overler *Diğer nedenlerin ekarte edilmesi
2006 AES Kriterleri (3 kriter beraber) 1)Hirsutizm ve/veya hiperandrojenemi 2)Oligoanovulasyon ve/veya polikistik overler 3)*Diğer nedenlerin ekarte edilmesi
*Diğer Nedenler -Cushing sendromu Konjenital adrenal hiperplazi -Hiperprolaktinemi -Androjen salgılayan tümörler -Tiroid fonksiyon bozukluğu -Androjenik/anabolik ilaç kullanımı

Tablo 2.2: Polikistik over sendromunun belirti ve bulguları (20).

Hirşutizm %60-90
Oligomenore %50-90
İnfertilite %55-75
Polikistik over %50-75
Obezite %40-60
Amenore %25-50
Akne %25
Disfonksiyonel uterin kanama %30
Normal menstruel patern %22

PKOS'lu hastaların yarısından fazlasında android tip obezite ve bel/kalça oranında artış izlenir. Bu da kardiyovasküler hastalık ve diabetes mellitus (DM) riskiyle ilişkilidir (5).

Özellikle tip2 DM gelişimi için önemli bir risk faktörü oran hiperinsülinemi ve insülin direnci PKOS hastalarında yoğun olarak izlenir. Bu sendroma sahip obez hastaların %30'dan fazlasında bozulmuş glukoz toleransı ve %7.5-10 oranında tip 2 DM bulunmaktadır (21, 22, 23).

PKOS hastalarının önemli bir kısmında lipid profili bozulmuştur. Genel olarak total kolesterol, trigliserit ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyleri artmış ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), Apolipoprotein A1 düzeyi azalmış olarak izlenir. HDL 2a seviyelerinin azalması bir yayına göre PKOS'da tipik lipid değişimidir (24).

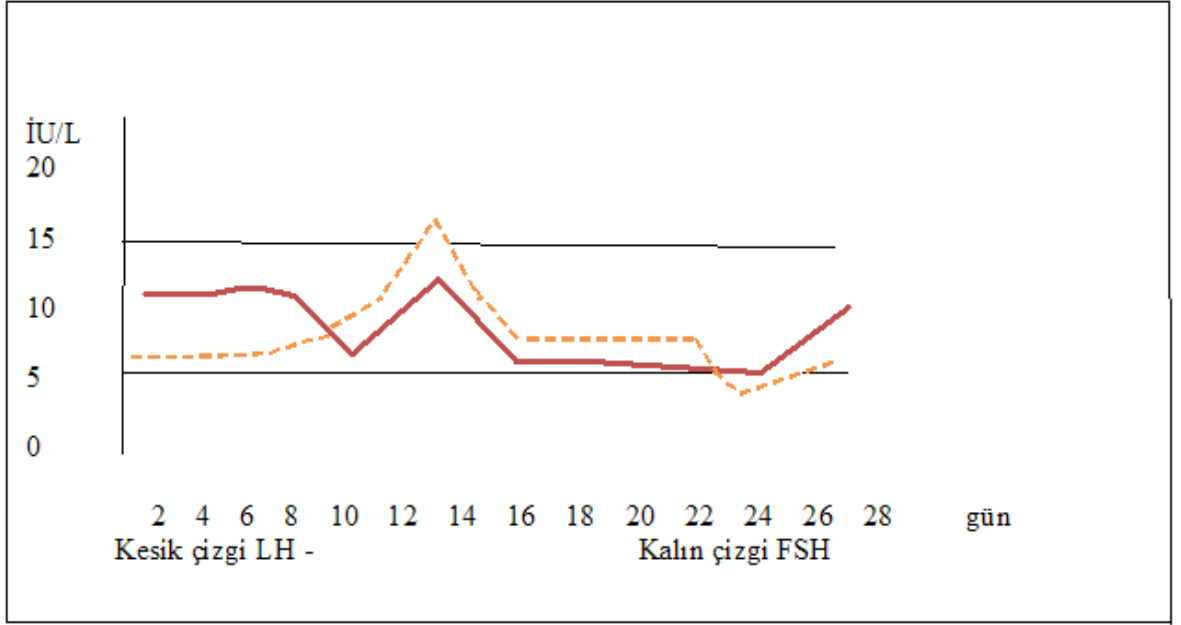
PKOS'lu hastalarda ayrıca fibrinolizisin bozulmasıyla birlikte plazminojen aktivatör inhibitör seviyesinde artış (PAI) (25), ilerleyen yaşlarda hipertansiyon insidansında artış (26), kardiyovasküler hastalık riski ve ateroskleroz riskinde artış (27, 28) ve yaklaşık 7 katlık myokard infarktüsü (MI) riski artışı (29) izlenmektedir.

2.1.2. Fizyopatoloji:

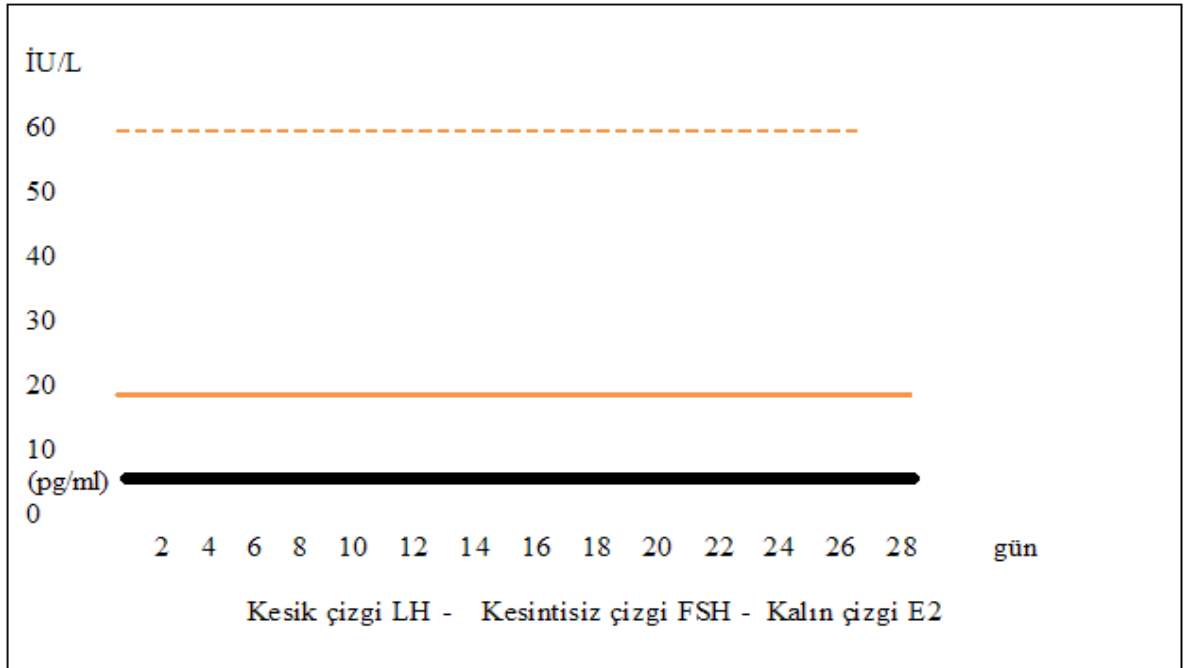
PKOS kliniğinin temel öğelerinde anovülasyon ve hiperandrojenizm şu 4 temel endokrinolojik doku ve organın bozukluklarından kaynaklanabilir:

- 1) Overler
- 2) Adrenal bezler
- 3) Yağ dokusu
- 4) Hipotalamo-hipofizer aks (30)

PKOS'u olmayan kadınlarda hormon düzeyleri karakteristik dalgalanmalar gösterirken; PKOS hastalarında anovülasyona bağlı olarak gonadotropinler ve seks hormonları sabit düzeyde seyrederler. Anovülatuar kadınlarda LH salgısına bağlı olarak günlük östrojen ve androjen sentezi artar (15, 31). Dolayısıyla testosteron, dehidroepiandostenedion (DHEA), dehidroepiandostenedion sülfat (DHEA-S), androstenedion, 17 hidroksiprogesteron (17-OHP) ve östron düzeyleri yükselmektedir. Testosteron, androstenodion ve DHEA overlerlerden DHEA-S'in hemen hepsi sürrenallerden salınmaktadır (32). Şekil 2.1' de PKOS hastaları ve normal menstruel siklusa sahip kadınlarda hormonal profil şematize edilmiştir (3).



Şekil 2.1a: Normal menstruasyonda hormonal profil



Şekil 2.1b: PKOS'ta hormonal profil (Kaynak 3'ten modifiye edilmiştir.)

Over PKOS'lu kadınlarda birincil androjen kaynağıdır. Over ve adrenallerde androjen sentezinde görevli bir enzim olan cytochrome P-45017 (CYP-17)'nin düzenlenmesindeki bozukluk hiperandrojenizme neden olan patolojiden sorumlu olabilir (33). Teka, granüloza tabakaları ve ovaryan stroma lüteinize edici hormon (LH) uyarısı ile hiperandrojenizme katkıda bulunur (34).

PKOS'da dolaşımdaki östron düzeyi hafif yükselir. Yüksek orandaki androstenedionun östrojene dönüşümü bu durumun temel nedenidir. Aynı zamanda östron ve östrodiol overlerden hatırı sayılır düzeyde salgılanmaya devam etmektedir (35).

PKOS hastalarında normalden daha yüksek LH düzeyleri ve daha düşük folikül stimule edici hormon (FSH) düzeyleri izlenir. LH yüksekliği hipofizin relasing hormon duyarlılığında meydana gelen artışla ilişkilidir. LH salımının frekansındaki ve bunun da ötesinde amplitütündeki artış bu duyarlılık ile meydana gelmektedir (36, 37, 38).

LH artışı değişik şekillerde androjenik aktiviteden sorumlu olabilir;

a) dolaşımdaki testosteron düzeyleri doğrudan LH düzeyleriyle ilişkilidir (33).

b) overler CYP-17 düzenleme bozukluğuna bağlı olarak gonadotropik hormona daha duyarlı hale gelebilir (33).

c) dolaşımdaki testosteron ve androstenedion düzeyleri gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonist tedavisiyle etkin olarak baskılanır (39).

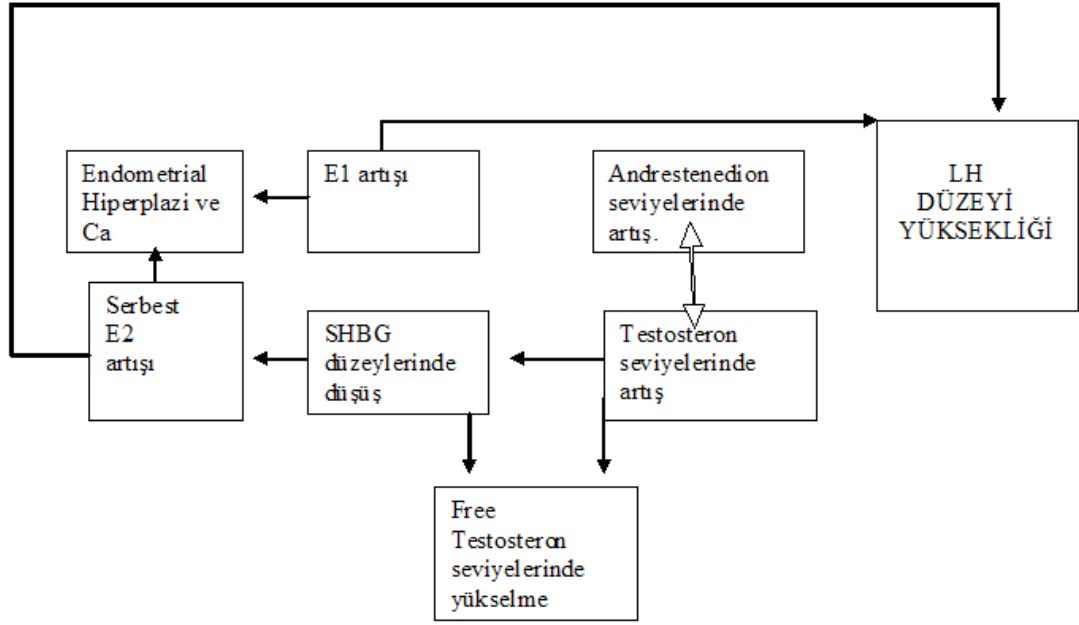
d) androjen baskılanması için gereken GnRH agonist dozu östrojen baskılanması için gereken dozdan daha yüksektir (40).

LH yüksekliği ve FSH düşüklüğünden GnRH salınım sıklığındaki artışın sorumlu olması olasıdır (38, 41). GnRH salınım sıklığındaki artış; progesteronun uzun süreli eksikliğinden kaynaklanan hipotalamik opioid baskılanmasındaki azalmayla ilişkili olabilir. Buna paralel olarak LH salınım sıklığı ve amplitütünde artış meydana gelebilir (42). Ayrıca beyinde androjenik hormon artışının GnRH'ın salımına katkıda bulunduğunu düşündüren bulgular mevcuttur (42).

Yüksek östron düzeylerinin ve SHBG düzeylerindeki düşüşlerin hipotalamohipofizer duyarlılık artışında etken olabileceğini düşünülmektedir. Östrojen ve tiroksinin seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) sentezinin uyarıcı etkileri mevcutken testosteron bu sentezi azaltıcı yönde etki gösterir (3). PKOS hastalarında yüksek insülin düzeylerinin karaciğere direkt etkisine ve testosteron düzeyinin artışına bağlı olarak SHBG seviyeleri yaklaşık yarı yarıya azalmaktadır. Bu azalmaya bağlı olarak östradiol sentezi sabit kalmasına rağmen serbest östradiol seviyeleri artmaktadır. Bu durumun sonucu olarak karşılanmayan östrojen etkisi nedeniyle endometriyum ve meme kanseri riskinde artış ortaya çıkmaktadır (3).

Overlerde çok sayıda küçük folikül oluşumu izlenen PKOS hastalarında, bu foliküllerden salınan inhibin-B'nin yükselişi FSH düzeylerini baskılar. Bu durum da PKOS'a özgü LH/FSH oranının meydana gelmesine katkıda bulunur (43, 44).

PKOS'lu kadınlarda yeni folikül büyümesi FSH düzeyleri tam olarak baskılanmadığından devamlı olarak uyarılmakta, fakat ovüle olabilecek olgunlukta folikül oluşmadığından ovülasyon meydana gelmemektedir. Bu foliküller genellikle hiperplaziye uğramış teka hücreleriyle sarıdır. Bir döngü içerisinde gelişimini tamamlayamamış bazı foliküller atreziye uğramakta, yerlerini yeni foliküller almaktadır. Bu atretik foliküllerin katkısıyla over stroması genişler. Atreziye uğramış foliküllerin granuloza hücreleri dejenere olurken teka hücrelerinde dejenerasyon meydana gelmemekte bu bağlı olarak androstenedion ve testosteron sentezi devam etmektedir (3). LH düzeylerindeki artış bu hormonlarının salımını indükler. Tüm bunların sonucunda androjen düzeylerinin yükselmesi; SHBG sentezini azalmasına, periferik androjen östrojen dönüşünün artışına ve östrojen seviyelerinde artışa yol açar. Ek olarak SHBG düzeylerindeki yarıya yakın düşüş testosteronun serbest fraksiyonunda yaklaşık 2 katlık bir yükselmeye yol açar (3). Bu durum şekil 2.2'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.2: LH yüksekliği hiperandrojenizm ilişkisi (Kaynak 3'ten esinlenmiştir)

Overlerde lokal androjen artışı anovülasyonun önemli nedenlerinden biridir. Yüksek androjen düzeyleri bu androjenlerin 5- α metabolitlerine dönüşmesiyle, aromataz aktivitesi ve östrojen sentezinin baskılanmasına neden olur (45). Wedge rezeksiyon ve günümüzde bunun yerini almış olan laparoskopik ovaryan drilling ameliyatları esas olarak androjen üreten dokuların hasarlanması ile ovulasyonun tekrar başlamasında etkili olur. Bu da overdeki androjen etkisinin anovülasyona neden olan temel faktör olduğunu göstermektedir (46, 47).

Tüm bunların sonucunda gelişimini tamamlayamayan veya atreziye uğramış foliküller ve yoğun bir stromadan meydana gelen polikistik over görünümü oluşur. Polikistik over genelde sedif renkli bir kapsülle sarılı ve normalden iri görünümündedir (48).

PKO'nun morfolojik özellikleri şu şekilde sıralanabilir: (48)

- 1) Over hacminde yaklaşık 2-8 kat, yüzey alanında 2 katlık artış izlenir.
- 2) Atreziye uğramış ve büyümekte olan folikül sayılarında yaklaşık 2 katlık artış mevcutken primordial folikül sayısında artış yoktur.
- 3) Overin en dışında yer alan tunikada yarı yarıya kalınlık artışı mevcuttur.
- 4) Teka hücre hiperplazisi ve artmış folikül maturasyon atrezisine bağlı stromal artış meydana gelir (Kortikal stromada 3'te 1'lik, subkortikal stromada 5 katlık artış mevcuttur).

5) Hilus hücre grupları 4 kat kadar artmıştır.

Ultrasonografik polikistik over görüntüsü şekil 2.3'te görülmektedir.



Şekil 2.3- Ultrasonografik polikistik over görünümü

Adrenal kompartmanın da PKOS'ta rol oynadığı düşünülmektedir. PKOS hastaların yaklaşık yarısında DHEAS düzeyleri yüksek olarak saptanmaktadır (49, 50). Adrenokortikotropik hormon (ACTH) stimülasyonu ile DHEAS yanıtının artması, PKOS bulgularının peripubertal dönemde ortaya çıkması ve 17-20 liyaz enzim aktivasyonunun adrenalde temel olay olduğunun gözlenmesi nedeniyle PKOS'un ekzejere bir andrenaş olduğu kavramı ortaya çıkmıştır (51).

Yağ dokusu ve cilt te PKOS açısından önemli dokulardır. PKOS'da vücut ağırlığındaki artışla ilişkili olarak adipoz dokuda aromataz ve 17β hidroksilaz enzimi aktivitesi artar ve sonuçta periferik aromatzilyasyonda artış izlenir (52). Hirsutizm varlığını büyük ölçüde $5-\alpha$ redüktaz varlığı ve aktivitesi belirler (17, 18). 2 - hidroksilasyon ve 17α hidroksilasyonda oluşan düşüş nedeniyle östrojen metabolizması azalmıştır (53). Prolaktin seviyeleri PKOS'lu hastaların dörtte birinde yükselmiştir (1).

2.1.3. Genetik :

Anovülasyon, hiperandrojenizm ve polikistik over görünümünün ailesel olarak bir arada görülmesi altta yatan genetik bir faktörün mevcudiyetini düşündürmektedir. Bu kişilerin bir kısmında hastalık X kromozomuna bağlı dominant geçiş gösteren genetik özellikler göstermektedir. Paternal geçiş gösteren hirsutizm ve oligomenorenin sıklığı iki kat fazla olmasına karşın bu hastaların fenotipleri farklılık göstermemektedir (54). Hiperandrojenizm ve hiperinsülinemi arasındaki kuvvetli bağlantı da insülinin ovaryan androjen sentezi üzerine uyarıcı etkisinin kalıtsal bir etkenle bağımlı olduğunu düşündürmektedir. Hiperandrojenizm, anovülasyon ve polikistik over üçlüsünü barındıran kadınların akrabalarında erkeklerde erken yaşlarda kellik ve kadınlarda hiperinsülinemi sıklığı yüksektir (55). Anovülasyon ve polikistik overleri bulunan kadınlarda yapılan öncül genetik çalışmalarda insulin geni ve P450SCC (CYPL1) geni üzerinde bir lokus tesbit edilmiş fakat P450c17 (CYF17) üzerinde lokus bulunmamıştır (56-60).

Yapılan çalışmalarda polikistik over sendromunun tek bir gen ile ilişkili olmayıp mevcut komplike metabolik durumun çok sayıda gen ile ilişkili olduğu, örneğin tümör nekroz faktör (TNF) reseptörü geni gibi genlerdeki değişikliklerle inflamatuvar sitokinlerde artış olduğu, yine benzer şekilde insülin reseptörü tarafından uyarılan haberleşmede rol alan proteinleri kodlayan genlerdeki spesifik polimorfizmlerin anovülasyon, polikistik overler ve tip 2 diabetes mellitus ile ilgili olduğu bildirilmiştir (61-63).

2.1.4. İnsülin rezistansı hiperandrojenizm ve PKOS :

Glukoz intoleransı ile hiperandrojenizm arasındaki ilişki ilk defa 1921'de Archard tarafından bildirilmiştir (64). Günümüzde PKOS, hiperandrojenizm ve insülin rezistansı arasındaki ilişki açık olarak bilinmektedir. Hiperandrojenizm ve insulin rezistansı ile beraber sıkça acanthosis nigricans da rastlanılmaktadır. Acanthosis nigricans, insulin rezistansının bir belirtisi olan, boyunda, kasıklarda veya koltuk altlarında gri-kahverengi renkte, bazen verrüköz özellik gösteren kadifemsi cilt lezyonlarıdır. Etyolojisi tam olarak bilinmemekte ve hiperandrojenizmi olmayan normal kadınlarda da gözlenebilmektedir (3).

İnsülin direnci, belli bir insulin miktarına karşı normal glukoz yanıtının azalması olarak tanımlanmaktadır. Oldukça sık görülen bir durumdur ve eskiden X

sendromu olarak adlandırılan ve günümüzde metabolik sendrom adı verilen sendromun bir parçasıdır (65, 66).

Metabolik sendrom, insülin direnci ve obezite ile beraber aşağıdakilerden 3 ya da daha fazlasını içerir (3):

1-Hipertansiyon (Tansiyon arteriyel değerinin 130/85 mmHg veya daha yüksek olması)

2-Trigliserid düzeyinin 150 mg/dl veya daha yüksek olması

3-HDL-kolesterol düzeyinin 50 mg/dl'den az olması

4-Abdominal obezite (Bel çevresinin 35 inch'den fazla olması)

5-Açlık kan şekerinin 110 mg/dl veya daha fazla olması

Metabolik sendromun görülme sıklığı ABD'de ortalama %24; kadınlarda 60 yaşına kadar %40 bulunmuş ve yaşla arttığı belirlenmiştir (67). İsveç ve Finlandiya gibi İskandinav ülkelerinde glukoz tolerans testi normal olanlarda %10, glukoz tolerans testi anormal olanlarda %40, tip 2 diabetes mellituslularda %85 olarak tespit edilmiştir (68). Metabolik sendrom sıklığı vücut ağırlığıyla doğru orantılı olup normal olanlarda %5'den obezlerde %60'a kadar yükselmektedir (67).

İnsulin direncinde rol oynayan mekanizmalar şunlardır: periferik dokularda direnç, karaciğer klirensinde azalma veya pankreasta duyarlılık artışı (3). Öglisemik klemp tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda hiperinsulinemisi bulunan hiperandrojenik kadınlarda periferik insulin direnci olduğu gösterilip, bu hastalarda karaciğerde insulin ekstraksiyonunda azalmaya bağlı olarak insulin klirensinin de azaldığı belirlenmiştir (69, 70).

Kan basıncı plazma insülin düzeyi ile doğrudan ilişkili olduğundan bu kompensatuvar hiperinsülinemi hipertansiyon ve koroner kalp hastalığı riskinde artışa neden olmaktadır (71, 72). İnsülin direnci trigliserid düzeylerinde yükselmeye, HDL kolesterol düzeylerinde azalmaya ve dolayısıyla koroner kalp hastalığı gelişim riskinde önemli derecede artışa yol açmaktadır (73). Polikistik over sendromlu hastalarda bozulmuş lipid ve lipoprotein tablosu mevcut iken genellikle ileri yaşlara kadar hipertansiyon görülmez (26, 74, 75). Polikistik over sendromunda hiperinsülinemi ile beraber plazminojen inhibitor tip- 1 (PAI-I) sentezinde de artış meydana gelir. Fibrinolizdeki azalma ve PAI-I sentezindeki artış koroner kalp hastalığı riskinde yükselmeye neden olur (75, 76).

Hiperinsülinemi ve hiperandrojenizm nadiren konjenital nedenli olabilir. Farklı fenotiplere sahip, hiperandrojenemi, akantozis nigrikans ve insülin direncine bağlı diyabeti olan sendromlar tanımlanmıştır (77). Bu sendromlar ve ayırıcı tanıları tablo 2.3'te sunulmuştur.

Tablo 2.3 Hiperandrojenemi, akantozis nigrikans ve insülin direncine bağlı diyabeti olan sendromlar (Kaynak 77’ten esinlenmiştir.):

<i>SENDROM</i>	<i>Başlangıç</i>	<i>Sıklık</i>	<i>Klinik</i>	<i>İnsülin düzeyi (uU/ml)</i>	<i>Hiperandrojenizm Düzeyi</i>
PKOS	Ergenlik	Yüksek	Anovülasyon, hiperandrojenizm, PCO	50’den az	Değişken
Rabson Mendelhall Sendromu	Doğuştan	Nadir	Dental predosite, tırnaklarda kalınlaşma	50’den fazla	Gonadlarda büyüme
Loprikanizm	Doğuştan	Nadir	Büyüme geriliği	50’den fazla	Gonadlarda büyüme
Tip A sendromu	Ergen	Nadir	Virilizasyon	50’den fazla	Ağır
Tip B sendromu	Ergen	Nadir	Otoimmün	50’den fazla	Ağır
Lipoatrofi	Her yaş grubu	Nadir	Cilt altı yağ dokusu kaybı, hepatomegali	50’den fazla	Ağır

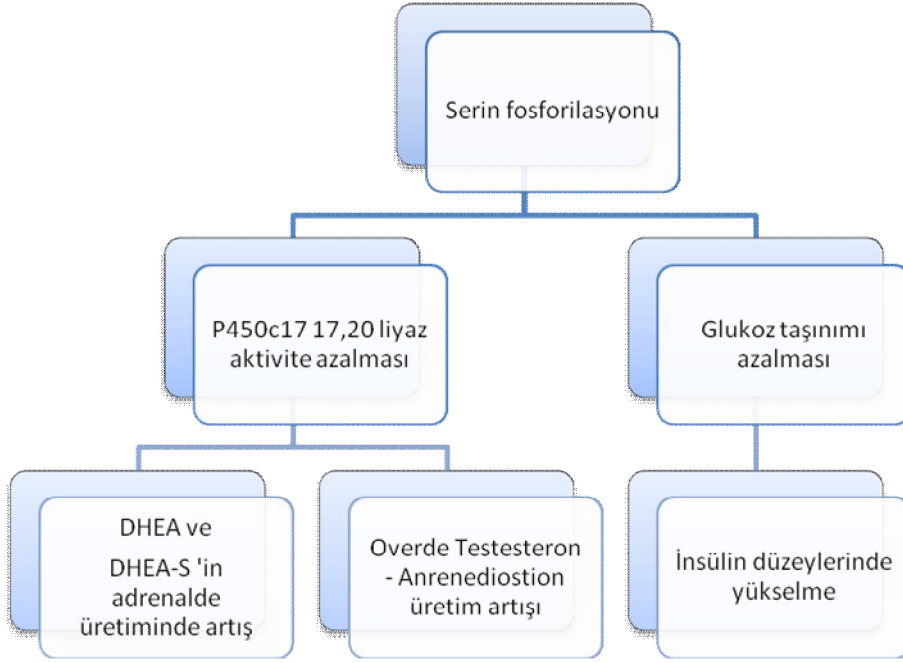
2.1.4.1 Polikistik over sendromunda insülin direncinin moleküler mekanizması :

Hedef dokularda insülin direncinin nedenlerini 3 kategoride değerlendirmek mümkündür:

- a) insülin reseptörlerinin sayısında azalma
- b) insülinin reseptöre bağlanmasında azalma
- c) reseptörle bağlandıktan sonra oluşan yetersizlikler.

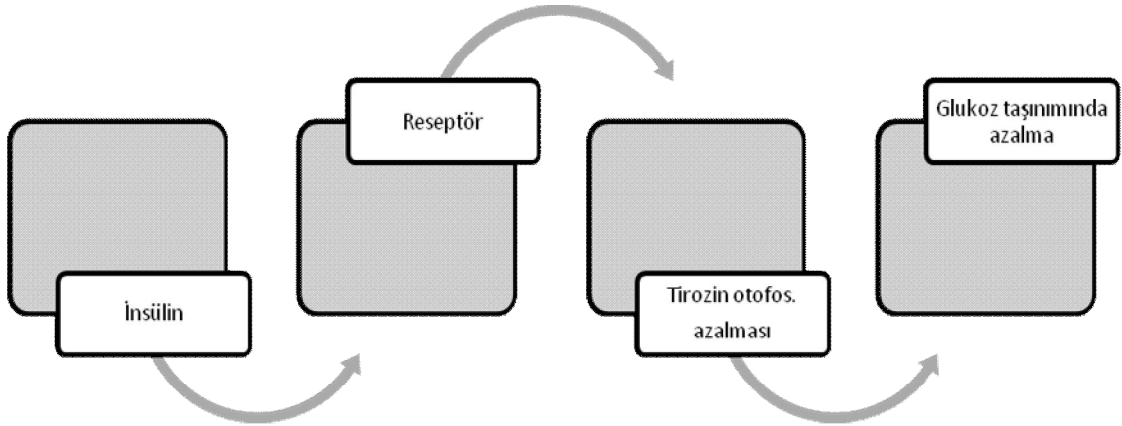
Bununla birlikte polikistik over sendromlu hastalarda insülin reseptör geninde mutasyonlar yada yapısal defektlere rastlanmamıştır (59, 78, 79).

PKOS hastalarında periferik insülin direncinin reseptör kinaz aktivasyonunun ötesinde bir defekten kaynaklandığını ve sonuçta insülin reseptöründe özgül olarak tirozin otofosforilasyonunun azaldığını gösteren kanıtlar vardır. İnsülin reseptörü üzerindeki serin ve treonin kalıntılarının fosforilasyonu sinyal geçişini azaltmaktadır. Bu hastalarda aşırı serin fosforilasyonunun (İnsülin reseptörüne ekstrensek bir mekanizma ile) sinyal transdüksiyonunu değiştiren bir postreseptör defekt olduğu bildirilmiştir (80, 81). İnsülin reseptörünün beta zinciri ve aynı zamanda sürrenal ve overdeki P450c17 serinin fosforilasyonu (Serin fosforilasyonunun nedeni tam olarak bilinmemekte ancak genetik nedenli olduğu düşünülmektedir) hem hiperinsülinemi, hem de hiperandrojenizmin birlikte oluşunu açıklamaktadır (serin fosforilasyonu 17,20-lyase aktivitesini ve androjen sentezini arttırmaktadır). Basitçe ifade etmek gerekirse tirozin yerine serin fosforilasyonu glukoz transportu için "off", P450CL7 enzim aktivitesi için ise "on" bir mekanizmadır. Fosforilasyondaki bu değişiklik reseptör sayısı ya da fonksiyonlarında bir değişikliğe neden olmaz, glukozun taşınmasındaki insülin sinyal bozukluğu postreseptör probleme bağlıdır (3). Bu ilişkiler ve mekanizma şekil 2.4'de ve 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4: Serin fosforilasyonu hiperandrojenizm ve hiperinsülinemi ilişkisi.

Kaynak 3'ten esinlenmiştir.



Şekil 2.5: İnsülin reseptör uyarımı tirozin otofosforilasyonu ilişkisi (Kaynak 3'ten esinlenmiştir.)

2.1.4.2 Hiperinsülinemi, hiperandrojenizm ve obezite ilişkisi :

PKOS hastalarında android obezite eğilimi mevcuttur. Android tip obezitede yağ dağılımı karın duvarında ve viseral mezenterik bölgelerde artar. Katekolaminlere karşı daha duyarlı, insüline karşı ise daha duyarsız olan bu yağ dokusu metabolik olarak daha aktiftir. Android tip obezite ile beraber hiperinsülinemi, glukoz toleransında bozukluk, diabet ve androjen yapım hızında artış izlenmektedir.

Hiperandrojenizm seks hormon bağlayıcı globulin seviyelerinde düşüğe neden olarak serbest östradiol ve testosteron düzeylerinin artışına yol açar (82, 83, 84).

Adroid tip obezite ile beraber, kötü kolesterol-lipoprotein profilleri ve hipertansiyon gibi kardiovasküler risk faktörleri gözlenmekte olup kardiyovasküler hastalıklarından korunmada en etkin HDL-kolesterol komponenti olan HDL2 düzeyi ile en iyi uyum gösteren değişken bel/kalça oranı olup ikisi arasında ters orantı bulunmaktadır. Alt vücut kesimlerinde yağlanma bulunan kadınlarda kilo kaybı daha çok estetik açıdan önem arz ederken, merkezi yağ birikimi mevcut olanlarda zayıflama kalp damar hastalıkları riskinin azalması için gereklidir(3). Android tipte obezitede bel kalça oranı 0.85 ten fazladır. Ergenlik çağında ortaya çıkan obezitenin esas olumsuz yönü bu dönemde esas olarak merkezi yağ depolanması meydana gelmesidir. (85,86).

Fakat yalnızca kilolu anovülatuar kadınlar, hiperinsülinemi ve hiperandrojenizm riskiyle karşı karşıya değildir. İnsülin direncinde artış ve hiperandrojenizm hem obez, hem de obez olmayan anovülatuar kadınlarda izlenebilir (87, 88-92). Fakat normal kişilerle kıyaslandığında obez kadınlarda insülin düzeyleri daha yüksek; LH, SHBG ve IGFBP- 1 düzeyleri daha düşük bulunmuştur (87, 93, 94).

Sonuçta hiperandrojenizm ve hiperinsülineminin obezite ile ve özel olarak android tip obezite ile birlikte açıklanması doğru değildir. Ancak android obesite varlığında spesifik olarak polikistik over sendromu ile birlikte olan abdominal yağ ile ilgili olarak hiperinsülinemi ve insülin direnci tabloya eklenmektedir (87, 95-98). Obez olmayan anovülatuar polikistik kadınlarda insülin rezistansı bulunmayabilir, ancak obez anovülatuar polikistik over sendromlu hastaların hemen hepsinde insülin rezistansı mevcuttur (87).

2.1.4.3 Hiperinsülinemi nedenli hiperandrojenizm gelişimi :

Periferik insülin direnci insülinden bağımsız diabetik hastaların önemli bir kısmında bulunmaktadır, ancak insülin direnci olan kadınların hepsinde hiperandrojenizm gözlenmez (3). Yüksek androjen düzeylerinin hiperinsülinemiye uyardığını bildiren çalışmalar olmakla beraber, GnRH agonistleri ile over fonksiyonları durdurularak yapılan çalışmalarda hiperinsülinemi gelişimi veya

insülin direncinde değişiklik görülmemesi, hiperinsülineminin birinci faktör olduğunu destekler niteliktedir. Bu bulgular, insülin etkinliğindeki değişikliğin androjen düzeylerindeki yükselişten önce olduğunu göstermektedir. Bu görüşü destekleyen bir çok çalışma mevcuttur :

Polikistik over sendromlu hastalara insülin verildiğinde bu kişilerde androjen düzeyleri yükselmektedir (99).

Androjen düzeyleri yüksek kadınlarda glukoz alımı ile insülin ve androjen düzeylerinde artış meydana gelmektedir (100)

Zayıflayan kişilerde insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 1 (IGFBP-1) seviyeleri artmakta, insülin ve androjen düzeyleri ise azalmaktadır (101).

İn vitro insülin uygulamasının teka hücrelerinden androjen üretimini arttırdığı gösterilmiştir (102, 103).

Deneysel olarak insülin seviyeleri düşürülen polikistik over sendromlu hastaların androjen düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir (104, 105).

Obez PKOS hastalarında GnRH agonist tedavisi ile androjen düzeyleri normale getirilen hastalarda glukoz tolerans testinde aşırı insülin cevabının düzelmeyip devam ettiği gösterilmiştir (106, 107).

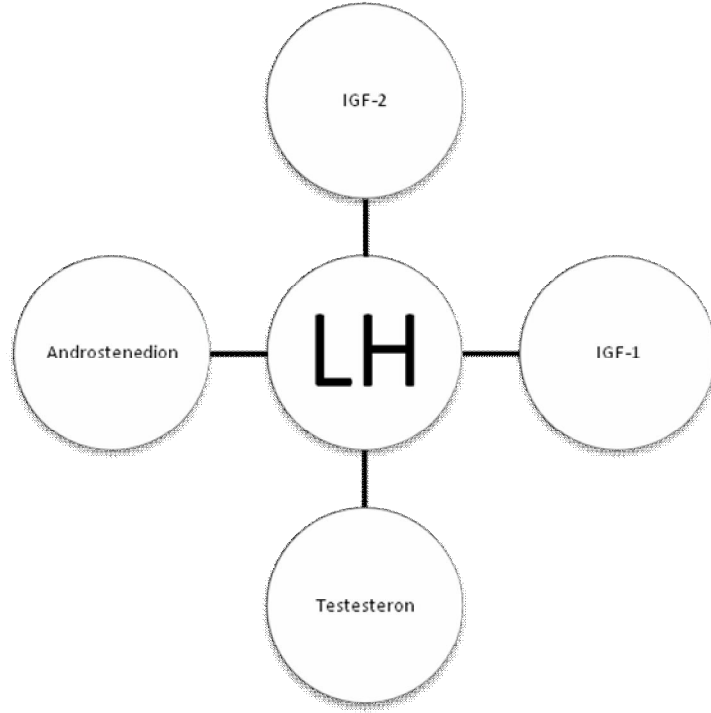
Hiperandrojenizmin oral kontraseptifler yada cerrahi yöntemlerle düzeltilmesinden sonra dahi lipid ve lipoprotein düzeyleri normale dönmemekte, insülin direnci düzelmemektedir (108).

Fakat özellikle hiperinsülinemili zayıf hastalarda daha belirgin olmak üzere antiandrojenik tedavi ile uzun dönemli androjen supresyonunun insülin direncini hafif düzeyde azalttığını gösteren yayınlar da bulunmaktadır (109, 110).

2.1.4.4 Hiperinsülinemi kökenli hiperandrojenizm gelişim mekanizmaları:

Yapılan çalışmalarda hiperandrojenizm ile hiperinsülinemi seviyesi arasında ilişki bulunmaktadır (88, 90, 91). İnsülin yüksek konsantrasyonlarda tip1 insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) reseptörlerine bağlanmaktadır (İnsülin ve IGF reseptörleri aynı yapıda olup her ikisi de reseptörlerde tirozin otofosforilasyonu başlatarak sinyalleri iletmektedir). İnsülin kendi reseptörleri yetersiz ya da bloke olduğunda doğal olarak tip 1 IGF reseptörlerine bağlanır. Teka hücrelerinden LH yapımı IGF 1 etkisiyle artış gösterir. Bu reseptörlerin insülin tarafından uyarılmasıyla da aynı etkiyle androjen üretimini artırmaktadır. Teka ve granülosa hücrelerinde

endojen insülin-like growth faktör (IGF 2) varlığı çalışmalarıyla gözlenmiştir (111). Hem IGF 1 hem de IGF 2 nin over dokusundaki aktivitelerinin tip 1 IGF reseptörleri vasıtasıyla meydana geldiği düşünülmektedir (3). LH'a karşı androjen duyarlılığı IGF 1 ve IGF 2 ilişkisi şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6: LH'a karşı androjen duyarlılığı IGF 1, IGF 2 ilişkisi (Kaynak 3'ten modifiye edilmiştir.)

Akılcı görülen IGF reseptörü aracılı hipotez dikkat çekmekle birlikte eldeki veriler diğer bir yolu desteklemektedir. İnsülin kendi reseptörünü kullanarak ovaryan androjen sentezini indükler. İnositol fosfoglikan üzerinden insülin steroid yapımı, glukoz trasportundan farklı bir sistemi kullanarak uyarır (112). İnsülin bu yolda IGF reseptörüne değil kendi reseptörüne bağlanmaktadır ve bu durum hem teka hem de granülosa hücrelerinde invitro çalışmalarda gösterilmiştir (113, 114, 115).

Ayrıca hiperinsülinemi SHBG ve IGF1 in karaciğerden sentezini de inhibe ederek hiperandrojenizme katkıda bulunur. İnsülin artışı karaciğerde SHBG üretimini seks steroidleri üzerine etki etmeksiz azaltmaktadır (116). İnsülin ve IGF 1'in insan karaciğer hücrelerinden SHBG salınımını inhibe ettikleri invitro çalışmalarıyla

gösterilmiştir (117, 118). SHBG seviyeleriyle vücut ağırlığı arasında bulunan ters bir ilişkinin bu inhibisyon mekanizması vasıtasıyla olduğu düşünülmektedir. Düşük SHBG düzeyleri vücut ağırlığı veya yağ dağılımına bakılmaksızın insüline bağımlı olmayan diabet için bağımsız bir risk faktörüdür (119). Benzer şekilde SHBG düzeylerinin düşüklüğü insülin direncinin gösterilmesinde kolay ve etkin bir yöntemdir (120).

İnsülin düzeyleri postprandial dönemde artarak karaciğeri etkiler ve IGFBP-1 sentezini azaltarak dolaşımdaki IGFBP-1 seviyesinin düşmesine neden olur (121). Hiperinsülinemik PKOS hastaları ve obez kadınlarda IGFBP-1 seviyeleri düşük olarak izlenir (122). IGFBP-1 düzeylerindeki düşüklük dolaşımda IGF-1 seviyesinde artışa ve dolayısıyla overlerde daha yüksek IGF-1 – IGF-2 aktivitesine neden olur. Aynı şekilde IGF-1 ‘in endometriumdaki etkinliğinin artması ve insülinin de IGF-1 reseptörlerini uyarması nedeniyle endometrial proliferasyon ve endometrium kanseri riskinde artış meydana gelir. Polikistik overlerde folikül sıvısında normal foliküllere göre daha fazla IGFBP kapasitesi olup bu durum IGF’nin folikül içersindeki aktivitesini azaltmaktadır (123, 124). Dolaşımda artmış IGF etkinliğine karşın folikül içersinde bu etkinliğin düşük olması paradoksal bir durum gibi görülmesine karşın IGF etkisiyle teka hücrelerinde androjen üretiminin artması ve FSH sisteminde foliküler olgunlaşmanın bozulmasının bir sonucudur. Polikistik overlerde gözlenen bu karakteristik durum anovülasyon, hiperinsülinemi ve hiperandrojenizme ikincil olarak gelişmektedir (122, 123, 124).

Tüm hiperinsülinemik hastaların hiperandrojenik olmamasının nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte ovaryan genetik özelliklerin etkili olduğu ve hiperinsülinemiden önce uzun dönemli bir anovülasyon periyodu geçmesi gerektiği düşünülmektedir (3).

2.1.5 Uzun Dönem Sağlık Riskleri

2.1.5.1 Glukoz intoleransı ve tip 2 diyabet

Polikistik over sendromlu hastalarda diyabetes mellitus gelişimi riski normal popülasyona göre daha fazladır. Vücut kitle indeksi (VKI), yaş, artmış bel çevresi, bel/kalça oranında artış ve birinci dereceden akrabalarda diyabet hikayesi PKOS'ta diyabet gelişimi açısından risk faktörleri arasında sayılabilir (23). PKOS'da bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diyabet sıklığı farklı çalışmalarda %35-40 arasında bulunmuştur (22, 23, 125). PKOS'da tanısı konmamış diyabet oranı yaklaşık olarak %10'dur (23). Tüm bunlardan dolayı PKOS tip 2 diyabetes mellitus gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak kabul edilmekte, PKOS hastalarında rutin diyabet taraması yapılması önerilmektedir. PKOS hastalarının tüm birinci derece akrabalarının da glukoz tolerans bozukluğu yönünden yüksek risk taşıdıkları gösterilmiştir (126).

2.1.5.2 Kardiyovasküler hastalık

PKOS hastalarının insülin direnci, hiperandrojenizm, glukoz tolerans bozukluğu, tip 2 diyabetes mellitus ve obezite nedeniyle kardiyovasküler hastalıklar açısından yüksek risk altında oldukları düşünülmektedir (127). PKOS hastalarında tromboza eğilimin artmış olduğunu gösteren bazı yayınlar da bulunmaktadır (128-130). Fakat tüm bunlara rağmen PKOS hastalarında erken dönemde kardiyovasküler mortalite veya morbidite riskinde artış doğrudan gösterilmemiştir (127).

2.1.5.3 Kanser

Endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom riskinin polikistik over sendromlu hastalarda kronik karşılanmamış östrojen etkisi, kronik anovulasyon, obezite ve hiperinsulinemi gibi faktörlerin etkisiyle normal bireylere göre artması beklenir. Fakat PKOS hastalarında endometriyal kanser sıklığının ve endometriyal kansere bağlı mortalitenin artmış olduğu kesin olarak gösterilememiştir (131). Yapılan uzun süreli retrospektif bir takip çalışmasında meme ve over kanseri gelişimi ve bu hastalıkların neden oldukları mortalite ile PKOS arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (132).

2.2. YAĞ DOKUSU, İNSÜLİN DİRENCİ ve PKOS İLİŞKİSİ

2.2.1. PKOS ve yağ dokusu:

PKOS'ta adipoz dokunun androjenik etkisi; lipolitik aktivitenin artışı, visseral yağ dokusu miktarında artış ve insülinin karaciğer üzerindeki etkisinin azalması ile meydana gelir (133, 134). Hormon sensitif lipaz (HSL) ve protein kinaz A (PKA) fonksiyonlarının PKOS hastalarında artması sonucu visseral adipositlerde katekolamin aracılı lipoliz iki kata kadar artmaktadır (135).

PKOS'ta yağ hücrelerinde insülin reseptörü ekspresyonunun, reseptörün afinitesinin, reseptörün β subunitinin bazal otofosforilasyonu ve reseptör kinaz aktivitesinin değişmediği, insülin tarafından uyarılan otofosforilasyonun ise ileri düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (136-139).

PKOS'ta adipositlerde insülin reseptör substrat 2 (IRS-2) ekspresyonu normal iken IRS-1 ekspresyonu ve tirozin fosforilasyonu azalmaktadır. IRS-2 fosforilasyonu insülin direnci olan PKOS hastalarında insülin direnci olmayan hastalar ve sağlıklı bireylere göre daha düşüktür (137). Tüm bunların sonucunda reseptör sonrası insülin sinyal iletimindeki bir bozukluğun yağ dokusunda insülin direncine neden olabileceği ileri sürülmüştür (137).

PKOS'ta insülin tarafından uyarılan maksimum glukoz kullanımında azalma olup (138), bu durumun glukoz taşıyıcısı 4 (GLUT-4) ekspresyonunun PKOS hastalarında düşük olmasından kaynaklandığı yönünde bir teori mevcuttur (140, 141).

2.2.2. Adipositokin insülin direnci ilişkisi

Yağ dokusunun yakın döneme kadar sadece depo görevi gördüğü düşünülmeğe; 1994 yılında leptinin keşfinden sonra çeşitli hormon ve sitokinler salgılayan bir endokrin organ olduğu anlaşılmıştır. Bu doku sadece adipositleri değil değişik oranlarda stroma hücrelerini, yağ dokusu hücrelerini, sinir dokusu hücrelerini ve bağışıklık hücrelerini de içerir (6).

Yağ dokusundan adipositokin ya da diğer adıyla adipokin adı verilen biyolojik olarak aktif çok sayıda peptid salgınmaktadır (6). Bu adipositokinlerden tümör nekroz faktör α (TNF- α), interlökin 6 (IL-6), C reaktif protein (CRP), IGF-1, seks steroidleri, rezistin, visfatin, adiponektin ve apelinin insülin direnci ile ilgili olduğu gösterilmiştir (7,142-149). Bu adipokinler ve etkiler tablo2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4: Adipokinler ve etkileri (Kaynak 7 'den uyarlanmıştır.)

ADİPOKİN	ETKİSİ
Apelin	İnsülin direnci, Kardiyovasküler etkiler, su elektrolit düzenlemesi
Adiponektin	İnflamasyon, ateroskleroz, insülin direnci, lipid düzenleyici
Visfatin	İnsülin direnci
Rezistin	İnsülin direnci, İnflamasyon
IL 6	İnsülin direnci, İnflamasyon,
TNF α	İnsülin direnci, İnflamasyon, Kardiyovasküler etkiler
CRP	İnsülin direnci, İnflamasyon, Kardiyovasküler etkiler

2.2.2.1. TNF α

TNF α yağ dokusunda adipositlerden ve stromal hücrelerden sentezlenmekte olup, bu sentez cilt altı yağ dokusunda visseral yağ dokusuna oranla daha fazladır (6). 26 kdalton olarak sentezlenip sonrasında 17 kdalton ağırlığında aktif forma dönüşen proinflamatuvar bir sitokindir (142). Yağ dokusunda TNF α mesaj ileten ribonükleik asit (mRNA) üretimi, vücut yağ oranı, VKİ ve hiperinsülinemi ile ilişkilidir (142).

Tip 2 diabetes mellitus hastalarında TNF α düzeyleri tartışmalıdır (143). Benzer şekilde PKOS hastalarında yapılan çalışmalarda da TNF α düzeyleri yüksek yada (144) normal bulunmuştur (145). Zayıf PKOS hastalarında TNF α 'nın yüksek glukoz düzeyleriyle baskılanmadığını gösteren çalışmalar olup bu durum bu tip hastalarda TNF α 'nın insülin direncine katkı sağladığını desteklemektedir (146).

2.2.2.2. IL-6

Yağ dokusu dışında fibroblastlar, iskelet kası ve endotel hücrelerinden de sentezlenen IL-6 proinflamatuvar bir sitokindir (7). Vücutta 22-26 kdalton arasında çoklu glikolize formlarda bulunur. IL-6 düzeyleriyle insülin direnci glukoz tolerans bozukluğu ve obezite arasında ilişki olduğunu gösterilmiştir (142). Yine periferik IL-6 uygulaması ile insülin direnci ve yüksek glukoz ve lipid düzeyleri ortaya çıktığı saptanmıştır (147).

IL-6 seviyeleri ve bunun insülin direncine olan etkisinin araştırıldığı PKOS'lu hastalarda yapılan bir çalışmada IL-6 düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur

(148). Yine farklı çalışmalarda ise PKOS ve kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmemiştir (145).

2.2.2.3. Rezistin

Rezistin 25 kdalton ağırlığında protein yapılı bir adipositokindir. İnsanlarda temel üretim yeri yağ dokusu olmayıp kemik iliği ve periferik mononükleer hücrelerdir (149). Farelerde insülin direnci ile rezistin üretimi arasında kanıtlanmış bir ilişki bulunmasına rağmen bu ilişki insanlarda kesin bir biçimde ortaya konulamamıştır (7). PKOS'ta da rezistin seviyeleri sağlıklı bireylerle anlamlı farklılık göstermez (150, 151).

2.2.2.4. Visfatin

Visfatin 52 kdalton ağırlığında 491 aminoasit (aa.) içeren bir proteindir, yağ dokusu, iskelet kası, karaciğer ve savunma sistemi hücrelerinde eksprese edilir (152). Visfatin insülin reseptörüne bağlanarak insülin benzeri etki göstermektedir (153). Farelerde yapılan çalışmalarda visfatin verilen deneklerin insülin duyarlılıklarının arttığı ve serum glukoz ve insülin düzeylerinin düştüğü gözlenmiştir (153). Visfatin insülin reseptörlerine insüline benzer bir afiniteyle bağlanır. Visfatinin insülin reseptörlerini hem parakrin hem de endokrin yollarla etkilediği düşünülmektedir (153, 154). Tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında visfatin düzeylerinin β hücre fonksiyon bozukluğu ile orantılı olarak yükseldiği tespit edilmiştir (155).

PKOS 'ta visfatin düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda birbirine karşıt sonuçlar elde edilmiştir. PKOS hastalarında plazma visfatin düzeylerinin arttığını gösteren çalışmalar olduğu gibi (156), karşıt çalışmalar bulunmaktadır (157). Obez PKOS'lu ve obez kontrol grubu hastaları arasında visfatin düzeylerinin benzer olduğu fakat zayıf PKOS hastalarında visfatin düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu öne sürülmüştür (157).

2.2.2.5. Adiponektin

Adiponektin 400-600 kdalton ağırlığında yüksek moleküllü ve 180 kdalton ağırlığında düşük moleküllü olarak iki farklı formda bulunur. Bu iki formun biyolojik işlevleri farklıdır (149). Visseral yağ dokusuna nazaran subkutan yağ dokusunda daha fazla eksprese edilir (6).

Adiponektin düzeyleri ve insülin direnci arasında ters bir ilişki vardır (158). İnsülin direnci ve obezitede adiponektin düzeyleri düşerken zayıflama ile bu düzey artar (149). İnsülin duyarlılığını artırmak dışında antiinflamatuvar ve lipid düzenleyici etkileri bulunmaktadır (159). PKOS'ta adiponektin düzeylerinin sağlıklı bireylerle benzer olduğu gösterilmiş olup adiponektin düzeyleri VKİ ile ters orantılıdır (160). Bir başka çalışmada ise bu verilere karşıt olarak benzer VKİ olan PKOS hastalarında adiponektin düzeyleri sağlıklı kadınlara göre düşük bulunmuştur (161).

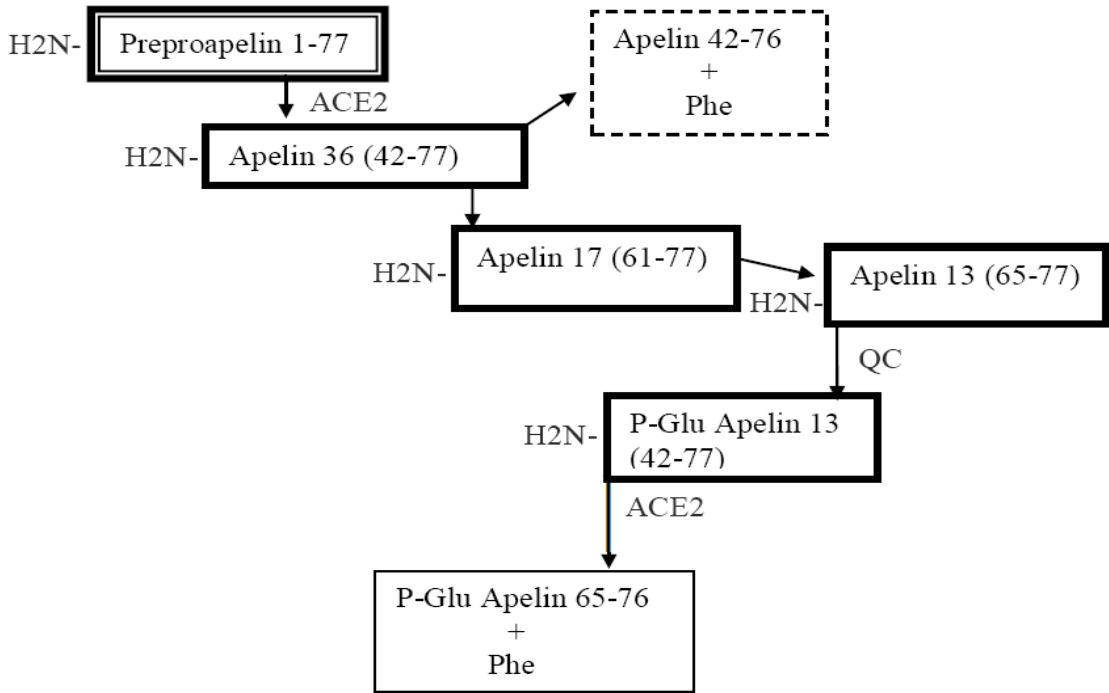
2.3. APELİN :

2.3.1. Keşfi ve vücutta senjezi :

Apelin endojen bir reseptör ligandı olarak belirlenen yeni keşfedilmiş bir peptittir. Apelin ve APJ reseptörü kalp, beyin, böbrekler ve akciğerler gibi çeşitli organlarda bulunmaktadır (162). Yine yakın zamanlı çalışmalarda sığır overinde foliküler gelişimin farklı aşamalarında değişik düzeylerde apelin ve APJ reseptör ekspresyonu görülmüştür (10, 11). APJ reseptörü 1998 yılına kadar 'yetim' kalmıştır, 1998 de Tatemoto ve arkadaşları sığır mide homojenatlarının çin hamster over hücrelerinde eksprese edilen APJ'yi aktifleyen 36 aa. lık bir peptit izole etmiş ve buna apelin ismini vermişlerdir (APJ endojen ligant) (163). Apelin ters farmakoloji yaklaşımıyla keşfedilmiş olup, ilk önce orphan reseptörü olarak reseptörü klonlanmış daha sonra endojen ligand tanımlanmıştır (164). 1993 te O'Dowd ve arkadaşları anjiotensin tip 1 reseptörüne (AT-1) benzeyen özelliklerde bir gen klonlamışlardır (165). Bu gen plazma membran gen proteini ve reseptörünü kodlamaktadır ve APJ olarak isimlendirilmiştir, AT-1'e yüksek benzerliği mevcuttur ve AT-2'yi bağlamaz (165). Apelin immünreaktivitesi merkezi sinir sistemi (SSS)'de, kalp, akciğer ve meme bezleri gibi çeşitli periferal dokularda eksprese edilmektedir (166). Periferal dokularda apelinin yaygın ekspresyonu sentezinin endotel hücrelerinde yapılmasıyla ilişkilidir (166). Meme bezinde apelin mRNA üretimi gebelik esnasında artar ve doğuma yakın en yüksek düzeye ulaşarak laktasyonda azalır. Apelin kolostrum ve sütte belirli miktarlarda sekrete edilir hatta ticari inek sütünde bile saptanmıştır (167).

İnsanlarda apelin geni X kromozomu uzun kolunda (Xq25-26.1) lokalize olup 77 aa.' lık prepropeptidi kodlar (168). Preproapelin farklı memeli türlerinde bulunur. 23 c terminal kısmı rat, fareler ve kedigiller ve insanlarda aynıdır (163). Apelin 36 en yoğun preproapelin kökenli peptittir; fakat N terminal progultamat

rezidüsü içeren apelin 13'ün belirgin miktarları da rat ve insan dokusunda saptanmıştır (169, 170). Sığır klostrumunda apelin 36 ve 13 vardır (171) . Apelin 13 ve 17 daha kısa C terminal fragmanlarına sahip olup apelin 36'dan daha yüksek potense sahiptir (163). N terminal glutamatın proglutamata dönüşümü glutaminil siklaz ile katalize edilir ve bu da biyolojik aktiviteyi sağlar (172, 173). Apelin sentez ve metabolizmasındaki yollar şekil 2.7'de gösterilmiştir.



ACE2-Anjiotensin dönüştürücü enzim 2, QC- Glutaminil siklaz, Phe- Fenilalanin

Şekil 2.7: Apelin sentezi ve metabolizmasındaki yollar (164)

Apelinin lokal parakrin hormonu olduğu düşünülmektedir, plazmada düşük pikomolar konsantrasyonlarda dolaşır (170-174). Plazmadaki esas apelin peptitleri apelin 13 ve daha az oranda apelin 17'dir. Apelin metabolizmasının bilinen tek yolu ise anjiotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE 2) iledir. Bu enzim çinko içeren bir karboksipeptidaz olup apelin 13 ve 36'nın C terminal fenil alaninini parçalar ve biyolojik inaktif peptitlere çevirir. ACE 2 aynı zamanda anjiotensin 1'i inaktif anjiotensin 1-9'a çevirir ve anjiotensin 2 yi (Anjiotensin 1-8) anjiotensin 1-7 ye çevirir. Anjiotensin 1-7 natriüresi, vazodilatasyonu, vasküler hücre büyümesi ve proliferasyonunu stimüle etmek gibi bir çok fonksiyona sahiptir. ACE 2 klasik ACE

inhibitörlerine duyarsızdır. ACE çeşitli vasküler yataklarda eksprese olmasına rağmen ACE 2 arter kalp ve böbrek renal tubuler epitel ve testisin arter arteriol venül endotelinde eksprese edilir (175).

2.3.2. Apelin reseptörü (APJ) :

1993'te O'Dowd ve arkadaşları PCR ile 700 baz çifti belirlemişlerdir. Detaylı analiz ile G protein çifleştirici reseptör (GPCR)'nin transmembran ağırlıklı gen sekansı ile benzerlik gösterdiği görülmüştür (165). 380 amino asiden oluşur ve APJ olarak adlandırılır (165). Apelin reseptörü (APJ) merkezi sinir sistemi başta olmak üzere myokard, renal, pulmoner, adrenal damarlar ve endokardiyal endotel hücreleri vb. hemen tüm periferik dokularda saptanmıştır (166). Beyinde APJ mRNA beyaz maddedeki glial hücrelerden salgınır (176). Kardiyomyositlerde ve vasküler düz kas hücrelerinde APJ düşük düzeylerde bulunur (177). APJ aktive periferik kan mononükleer hücrelerinde de üretilir ve CD-4 koreseptörü olarak insan immünyetmezlik virüsü (HIV)'in girişini destekler (178). APJ'nin ratlardaki eşdeğeri beyin, iskelet kası, akciğer, kalp, böbrek, karaciğer, over ve ön hipofizde saptanmıştır (179). Apelin peptitlerinin biyolojik aktivitesi peptid uzunluğuyla ters orantılıdır. Apelin 13, 17'den ve o da 36'dan daha etkindir ve apelin 12 en aktiftir. 12 C terminal aminoasitleri en kısa aktif bileşeni oluşturur çünkü 11 ve daha kısa peptitler inaktiftir (169).

2.3.3. Apelinin sistemik etkileri :

2.3.3.1 Su – elektrolit dengesi ve hipotalamohipofizer aks üzerine etkileri

Hipotalamus supraoptik ve paraventriküler çekirdekte apelin ve reseptörünün yüksek düzeylerde üretimi, bunun su dengesinin sağlanmasındaki katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. 24 saat susuz bırakılmış ratlarda santral uygulanan apelinin su alımını yaklaşık 1/3 oranında azalttığını bildiren çalışmalar vardır, su alan hayvanlarda ise herhangi bir etki saptamamışlardır (180). Bunun tersine normal hidrate ratlarda, periton içi apelin uygulamasının 30 dakika içinde su alımını arttırdığını (168), yine benzer şekilde, intraserebroventriküler (İCV) uygulanan apelinin, enjeksiyon sonrası 1. saatte su içmeyi uyardığını gösteren çalışmalar yapılmıştır (181).

Santral apelinergic sistem su dengesi değişikliklerine duyarlıdır. 24-48 saat susuzluk hipotalamik apelin içeriğini artırır ve plazma apelin düzeyini azaltır; bu bulgu da hipotalamik depolardan apelin salınımının baskılandığını desteklemektedir. Bu değişiklikler anti diüretik hormon (ADH)'ın tersidir; ADH plazmada artar, hipotalamusda azalır (182). Bu veri, hipotalamik apelinin fizyolojik koşullarda ADH salınımını inhibe ettiğini ve susuzluğun ise apelin salınımını baskılayarak inhibitör etkisini uzaklaştırdığını destekler (174).

Merkezi apelinin uygulamasının (İCV) ACTH ve kortizolü yükselttiği, prolaktin, FSH, LH ve tiroit uyarıcı hormon (TSH)'ı baskıladığı ve büyüme hormonuna etkisi olmadığı gösterilmiştir (164). Klinik olmayan deneysel çalışmalarda apelin 13'ün hipotalamik dokularda kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salınımını belirgin olarak uyardığı gösterilmiştir (181).

2.3.3.2. Apelinin kardiovasküler etkileri

2.3.3.2.1 Kan basıncı ve vasküler tonusa etkileri :

Ratlarda apelin enjeksiyonu ortalama arteriyel basınçta 1 dk. gibi kısa bir sürede önemli düşüşler sağlamaktadır. Bu etki geçici olup 3-4 dk sürer (168, 169). Çalışmalar apelinin kalsiyum kanal blokerleri, hidralazin ve nitrogliserinden daha etkin bir vazodilatatör olduğunu göstermiştir (183). Apelin kan basıncını prelodu azaltarak ve periferik direnci düşürerek azaltır (183). Apelin hem endotel bağımlı nitrik oksit (NO) aracılı vazodilatasyon hem de endotel bağımsız (direkt vasküler düz kas hücrelerine etki ederek) vazokonstriksiyon yapar (184, 185). Periferik uygulamanın aksine intraserebroventriküler apelin 13 enjeksiyonu ayık hayvanlarda ortalama arter basıncında doz bağımlı yükseklik yapmıştır (186).

2.3.3.2.2. Anjiogenez:

Apelinin anjiogenezde rolü olduğunu düşündüren bulgular mevcuttur, APJ ekspresyonu yeni damar oluşumu sırasında artarak damar stimülasyonundan sonra tekrar düşer (187). Apelinin insan umbilikal ven hücrelerinin proliferasyonunu uyardığını gösteren veriler bulunmaktadır (188).

2.3.3.2.3. Miyokard kontraktilitesi :

Apelinin ratlarda myokard kontraktilitesini arttırdığı gösterilmiştir (189). Apelinin bilinen en etkin inotropilerden biri olduğunu gösterilmiştir. Apelinin kontraktilitede belirgin artış yapar ve bu etki 2 dakikada ortaya çıkarak 20 dakikadan fazla sürer. Vasküler etkisinin aksine apelin uyarımına bağlı myokardiyal kontraktilite artışı NO ile oluşmaz (189). Apelinin pozitif inotropik etkisi fosfolipaz C yada protein kinaz C spesifik inhibitörleriyle düzenlenir. Apelini benzerlerinden ayıran en faydalı özelliği myokardiyal hipertrofiye neden olmadan kronik pozitif inotropik etkidir (190). Apelin kardiyak outputu akut uygulamadan çok kronik uygulama sonrası artırır (190).

2.3.3.3. Folikül maturasyonu ve ovulasyon

Yakın zamanlı bir çalışmada sığır overinde folikül gelişiminin farklı aşamalarında granuloza ve teka hücrelerinde apelin ve APJ reseptör ekspresyonunun incelenmiş olup, granuloza hücrelerinde farklı gelişim aşamalarında apelin mRNA ekspresyonu benzer bulunmuştur (10). APJ gen ekspresyonu östrojen-inaktif dominant (EID) foliküllerde diğer foliküllere göre daha yüksek bulunmuştur. Yine bu çalışmada östrojen + progesteron uygulanan grupta yalnızca progesteron verilen gruba göre APJ mRNA düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Atreziye giden östrojen-inaktif dominant foliküllerde APJ reseptör ekspresyonu yüksektir (10). Kültüre granuloza hücrelerinde hücre apoptozisi ve APJ ekspresyonu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Östrojen-inaktif dominant foliküllerde apelin mRNA ekspresyonu diğer foliküllere göre önemli ölçüde fazladır ve bu foliküllerde APJ ekspresyonu folikül büyümesiyle artar. Teka hücrelerinde LH'nin apelin ve APJ reseptör mRNA ekspresyonunu 24 ve 48 saatlik doku kültürlerinde ileri derecede arttırdığı gösterilmiştir (10). Primer ovaryan foliküllerin teka hücrelerinde, artmış APJ mRNA ekspresyonu meydana gelir ve bu teka dokusunda anjiogenez gelişimi ile bağlantılıdır. Fakat granuloza hücrelerinde apelin ekspresyonu primer ovaryan foliküllerde, östrojen inaktif dominant (EID) foliküllere göre azdır. APJ mRNA ekspresyonunun, granuloza hücrelerinde folikül gelişim aşamasıyla ilişkili olduğu gösterilmiş olup aynı ilişki apelin için gösterilememiştir (10, 11).

APJ reseptör mRNA ekspresyonu progesteron ile indüklenir ve atretik foliküllerde folikül sıvısında APJ reseptör mRNA yüksek düzeylerde bulunur. APJ

mRNA ekspresyonu granuloza hücre apoptozu indüklendiğinde önemli derecede artar. Bu bilgi sığır folikler gelişiminde foliküler atrezi indüksiyonu ile APJ reseptörleri arasında ilişki olduğunu destekler (10, 11).

Sonuçta granuloza hücrelerinde APJ reseptör mRNA ekspresyonundaki artış foliküler atrezinin karakteristiklerinden biri olabilir. İlginç bir biçimde teka katmanında apelin mRNA ekspresyonu EİD foliküllerinde diğer foliküllere göre önemli ölçüde yüksektir. Teka hücre kaynaklı apelinin, atrezi ile indüklenen granuloza hücre apoptozisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar apelin/APJ sisteminin memeli foliküler gelişimine teka tabakası otokrin sistemi üzerinden etki ettiğini gösterir. FSH granuloza hücrelerinde APJ reseptör mRNA ekspresyonunu baskılar. FSH'nin sağlıklı folikül gelişim sürecini APJ reseptörleri üzerinden engellemesi muhtemeldir. LH'nin apelin ve ekspresyon yolağını nasıl aktive ettiği henüz bilinmemekle beraber bu süreç transkripsiyon yolağı ile bağlantılı olabilir. Tüm bunların sonucunda teka hücrelerinde apelin/APJ sisteminin folikül büyümesinde önemli rol aldığı gösterilmiştir (10, 11).

Sığır overlerinde apelin düzeyleri ve APJ reseptör ekspresyonunun 5 ng/dl ve üzerindeki östrojen düzeyleri ile arttığı ve korpus luteum regresyonundan sonra düşüş eğilimi gösterdiği, apelin/APJ sisteminin folikül gelişimi esnasında anjiogenez ve folikül maturasyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (11).

2.3.3.4. Bir adipokin olarak Apelinin obezite ve insülin direnci ile ilişkisi

Yakın zamanda fare ve insan cilt altı yağ dokusunda apelin mRNA ve proteini tespit edilmiştir (8). Farede, apelin ekspresyonu intraabdominal ve ciltaltı yağ dokusunda benzerdir ve beyaz adipoz dokuda kahverengiye göre belirgin olarak yüksektir (8). Adipoz dokuda apelin ekspresyonu obezitede çeşitli fare modellerinde çalışılmıştır. Elde edilen veriler obezitede apelin sentezinin stimülasyonuna insülinin de katıldığını destekler niteliktedir. Plazma apelin konsantrasyonu obez farelerde zayıf olanlara göre 2-4 kat yüksektir ve bu da yağ dokunun plazma apelininin önemli bir kaynağı olduğunu destekler (8). Fareler 24 saat boyunca aç bırakıldıklarında, plazma insülin düzeyi azalır ve bu da adipoz dokuda azalmış apelin ekspresyonu ve azalmış plazma apelin düzeyi ile birliktedir. Yeniden besleme sonrasında, plazma insülin ve apelin düzeyleri ve adipoz doku apelin mRNA'sı normal beslenen hayvanlardaki düzeyine döner (8). İnsülinin adipoz dokuda apelin ekspresyonunu

düzenlediği streptozosin indüklü diyabetes mellitusu olan farelerde azalmış apelin ekspresyonunun gösterilmesiyle desteklenmiştir (8). Ek olarak, insülinin tek doz enjeksiyonu adipositlerde apelin mRNA'sını belirgin olarak artırır. İn vitro insülin doz bağımlı olarak apelin sentezini ve sekresyonunu stimüle eder. İnsülinin tersine, glikozun apelin sentezine etkisi yoktur (8). Plazma apelin konsantrasyonu orta obez insanlarda (VKİ=31-34 kg/m²) obez olmayan yaş uyumlu kontrollere (VKİ=20-24 kg/m²) göre 2 kat daha yüksektir (8). Morbid obez 25 hastada (VKİ=48±1 kg/m²) plazma apelin düzeyi zayıf kontrollere göre 5 kat daha yüksek bulunmuştur (9). Bu veriler apelinin adipoz dokudan önemli miktarlarda sekrete edilen adipokin olduğunu gösterir (8, 9).

Apelinin olası rollerinden biri de gıda alımının düzenlenmesi olabilir; ancak bunla ilgili yeterli veri yoktur. Apelinin intraserebrovasküler enjeksiyonunun doymuş ratlarda gıda alımına etkisi yoktur; ancak aç hayvanlarda gıda alımını arttırmıştır (178). Tersine ICV enjekte edilen apelin-13'ün hem beslenmiş hem de aç farelerde gıda alımını azalttığını gözlemleyen yayınlar da vardır (191), bu etki apelinin perifeal uygulanmasında görülmemiştir bu da apelinin santral anorektik etki açığa çıkardığını gösterir. Apelin vücut yağ depolarına orantılı olarak oluşturulan "adiposite sinyalleri" listesine eklenebilir, bu liste ayrıca leptin, insülin, ve amilin içerir (164). İlginç olarak apelin ve leptin benzerliklere sahiptir gıda alımından bağımsız olarak vücut kor sıcaklığını artırır, lokomotor aktiviteyi artırır, negatif enerji dengesine katkı sağlar (192). Ek olarak, apelin leptin gibi glikoz indüklü insülin sekresyonunu inhibe eder (193).

Diyabetik veya glukoz intoleransı olan hastalarda serum apelin seviyelerinin yükseldiği ve TNF alfa'nın insan yağ doku hücrelerinde apelin düzeylerini arttırdığı gözlenmiştir (194). Apelinin oynadığı patofizyolojik rolle ilgili yakın zamanda yapılmış bir çalışmada; normal ve obez farelere 14 günlük intraperitoneal apelin uygulamasının gıda alımından bağımsız olarak vücut adipositesini azalttığı, insülin leptin ve trigliserit seviyesini azalttığı, bağlanmamış proteinlerin ekspresyonunu, adiponektin düzeylerini arttırdığı ve solunum katsayısını azalttığı gözlenmiştir (195).

Literatürde Polikistik over sendromunda apelin ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Fakat apelinin PKOS ile beraber seyreden obezite, kalp damar sistemi patolojileri ve insülin direnciyle bağlantıları gösterilmiştir (169, 168, 181-

195). Bu adipositokin obezitede belirgin olarak artmakta olup bir takım faydalı etkiler oluşturarak obezite ilişkili muhtemel patolojilere karşı koruma sağladığına dair görüşler mevcuttur (191-195). Aynı zamanda apelin faydalı kardiovasküler aktivitelere sahiptir (168, 183-190).

Apelinle ilgili pek çok soru halen cevaplanamamıştır. Bunlardan ilki, ekspresyonlarındaki artışın tüm obezite modellerinde uniform olmamasıdır. Ayrıca apelinin myokard kontraktilitesi ve insülin sensitivitesini arttırmasına rağmen, hangi nedenle sıklıkla obezite ile ilişkili arteryel HT, kalp yetmezliği ve bozulmuş glukoz toleransına karşı koruyucu olmadığı da bir diğer açıklanmayı bekleyen durumdur (164). Bunun bir açıklaması obezitede bu hormonların etkilerinin bozulması olabilir. İnsülin rezistansı ve leptin rezistansına benzer şekilde obezitenin apelin rezistansı ile ilişkili olup olmadığı henüz net olarak açığa çıkarılmamıştır. Başka bir ihtimal de apelinin tüm obez insanlarda benzer yaygınlıkta upregüle olmuyor olabileceğidir. Böyle bir durumda bu hormonun obezite ilişkili komplikasyonlardaki yetersiz upregülasyonunu açıklamak için, apelin düzeyleri ile arteryel HT, kalp yetmezliği ve diabetes mellitus arasındaki ilişkiyi araştırmak ilginç olacaktır. Son olarak, insülin sekresyonu üzerinde apelinin azaltıcı etkisi örneğinde de belirtildiği gibi, apelinin tümüyle faydalı etkiler ortaya çıkardığını zannedilmemelidir. Apelin üretiminin ayarlanmasının obezite, insülin direnci ve ilişkili patolojilerin tedavisinde faydalı olabileceğine yönelik bir kanı bulunmasına rağmen bu konuda çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (196).

3. GEREÇLER ve YÖNTEM

3.1. Hasta seçimi:

Bu çalışma, Temmuz 2009, Kasım 2009 tarihleri arasında Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine ayaktan başvuran ve European Society for Human Reproduction and Embryology / The American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM) kriterlerine göre (1) PKOS tanısı konan 32 hasta ve kontrol grubu olarak 31 hasta olmak üzere yaşları 18 ile 33 arasında değişen toplam 63 hasta üzerinde yapılmıştır. Kişiler gönüllü olarak çalışmaya katılmadan önce, çalışma konusunda bilgilendirilmiş ve çalışmaya katılmayı kabul edenlerden yazılı onay alınmıştır. Çalışma öncesi Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi yerel etik kurulunun 10.06.2009 tarih / 120 numaralı kararı ile onay alınmıştır.

Çalışmaya alınma kriterleri (Hasta grubu için) aşağıda belirtilmiştir:

1. 18-35 yaş arası reproduktif dönemdeki European Society for Human Reproduction and Embryology / The American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM) kriterlerine göre PKOS tanısı konmuş olan hastalar (European Society for Human Reproduction and Embryology / The American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM) (1) kriterleri: Oligo- ve/veya anovulasyon, hiperandrogenizm (klinik ve/veya biyokimyasal), polikistik overler durumlarından herhangi 2 tanesinin olma durumu.
2. Ateroskleroz, DM ve Hipertansiyon gibi sistemik hastalığı olmayan hastalar.
3. Çalışmadan önce neoplazi tanısı olmayan hastalar.
4. Çalışma döneminde, veya 6 ay öncesine kadar oral kontraseptif kullanmayan hastalar.

Çalışmaya alınma kriterleri (Kontrol grubu için) aşağıda belirtilmiştir:

1. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniğine kontrol için başvuran ve herhangi bir tanı almış hastalığı olmayan hastalar

2. 18-35 yaş arası reprodüktif dönemdeki European Society for Human Reproduction and Embryology / The American Society for Reproductive Medicine (ESHRE/ASRM) kriterlerine uymayan hastalar (PKOS tanısı olmayan hastalar)
3. Menstrüel siklusları düzenli olup herhangi bir kanama problemi olmayan hastalar
4. Çalışma döneminde, veya 6 ay öncesine kadar oral kontraseptif kullanmayan hastalar
5. Ateroskleroz, DM ve Hipertansiyon gibi sistemik hastalığı olmayan hastalar
6. Çalışmadan önce neoplazi tanısı olmayan hastalar

Çalışmadan hariç tutulma kriterleri (Hasta ve Kontrol grupları için) aşağıda belirtilmiştir:

1. Tiroid disfonksiyonu, Prolaktinoması ve diğer endokrinopatisi olan hastalar
2. Cushing hastalığı, geç başlangıçlı konjenital adrenal hiperplazi varlığı
3. Böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalar
4. Karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastalar
5. Önceden geçirilmiş tromboembolik olay öyküsünün mevcudiyeti
6. Seks hormon metabolizmasını ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyecek ilaç kullanıyor olması
7. Belirgin depresyonu olan hastalar
8. Ek tetkik yaptırmak istemeyen hastalar

4.2. Biyokimyasal, Klinik Değerlendirme ve Ultrasonografi

Hastalardan aşağıda belirtilen muayene laboratuvar parametrelerine bakılmıştır:

1. Demografik özellikler: Tüm hastaların yaşı, kilosu ve boyu kaydedilmiş ve vücut kitle indeksleri kg/m^2 olarak hesaplanmıştır.
2. Hastalardan menstrüel sikluslarının 3. gününde LH, FSH, estradiol, serbest testosteron, total testosteron, androstenedion, SHBG, DHEA-S, 17-0H progesteron, prolaktin, (PRL), serbest T3 (sT3), serbest T4 (sT4), TSH, aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), LDL, HDL, trigliserit, total kolesterol seviyelerine; ayrıca hemogram, açlık serum glukoz ve insulin seviyelerine bakılmıştır. Açlık kan şekeri ve açlık insulin düzeyleri kullanılarak Homeostatic Model Assessment (HOMA) insulin direnci düzeyleri her hasta için hesaplanmıştır. (Açlık Kan Şekeri (mg/dl) X Açlık İnsulin Düzeyi (uU/ml)/405). Hormon parametrelerinden LH, FSH, estradiol, total testosteron, DHEA-S, prolaktin, (PRL), serbest T3 (sT3), serbest T4 (sT4), TSH, immunokemilüminesan yöntemiyle (Roche-Hitachi Modular Analytics E-170, USA), androstenedion, SHBG, 17-0H progesteron, serbest testosteron micro ELİSA yöntemiyle (Bio-tek instruments inc. Miroquant Cal/USA) ve biyokimyasal parametreler enzimatik kolorimetrik yöntemle (Olympus AU 600 Tokyo/Japan) ölçülmüştür.

Plazma ve Serum örneklerinin alınması ve saklanması

Biyokimyasal parametreler; adetın 3. günü gece açlığını takiben 10 saatlik açlık sonrası sabah 08:00-10:00 saatleri arasında alınan kandan çalışılmış, fazladan alınan 4 cc. kandan elde edilen plazma örneği -70 C^0 de, plazma apelin seviyesine bakılmak üzere saklanmıştır.

Plazma apelin düzeylerine enzyme immunoassay (EIA) yöntemiyle (Phoenix Pharmaceuticals Apelin-36 (Human) EIA Cal./USA.) kiti kullanılarak bakılmış olup, ölçümlerde Bio-tek instruments inc. Miroquant Cal/USA., Bio-tek instruments inc. ELX 50 auto strip washer Cal./USA. ve İKA schutter MTS-2 shaker Staufen/Germany cihazları kullanılmıştır.

Ultrasonografi

Hastalara Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı tarafından Siemens Acuson Antares™ USA marka cihaz ile pelvik (Siemens Acuson CH6-2 5.71 MHz abdominal probe USA) veya Transvajinal (Siemens Acuson EC9-4 transvaginal probe 6.15 MHz. USA) ultrasonografi yapılmıştır. Ultrasonografide over korteksinde “inci kolyesi” gibi dizili, 2-8 mm çaplı 10-15 folikül varlığı, artmış stroma ve over hacminin artması olması polikistik over görünümü lehine değerlendirilmiştir (1).

4.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler ‘Statistical Package for the Social Science’ (Sürüm 15.0; Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak değerlendirildi. Verilerin ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı. Verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kolmogorov-Smirnov tek örneklem testi ile değerlendirildi. Verilerin analizinde, veriler normal dağılıma uygun olduğunda Student T Testi, veriler normal dağılıma uygun olmadığında Mann Whitney U testi kullanıldı. Sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler, Pearson korelasyon analizi ile değerlendirildi. Nominal değişkenlerin gruplar arası frekans farkının değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı. p değerinin 0,05 ‘in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Bu çalışmaya Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın hastalıkları ve doğum polikliniğinde PKOS tanısı almış 32 hasta ve sağlıklı kontrol grubu olarak 31 kişi olmak üzere toplam 63 kişi dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen kadınlar 18–33 yaşları arasında olup, her iki grupta yaşlar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

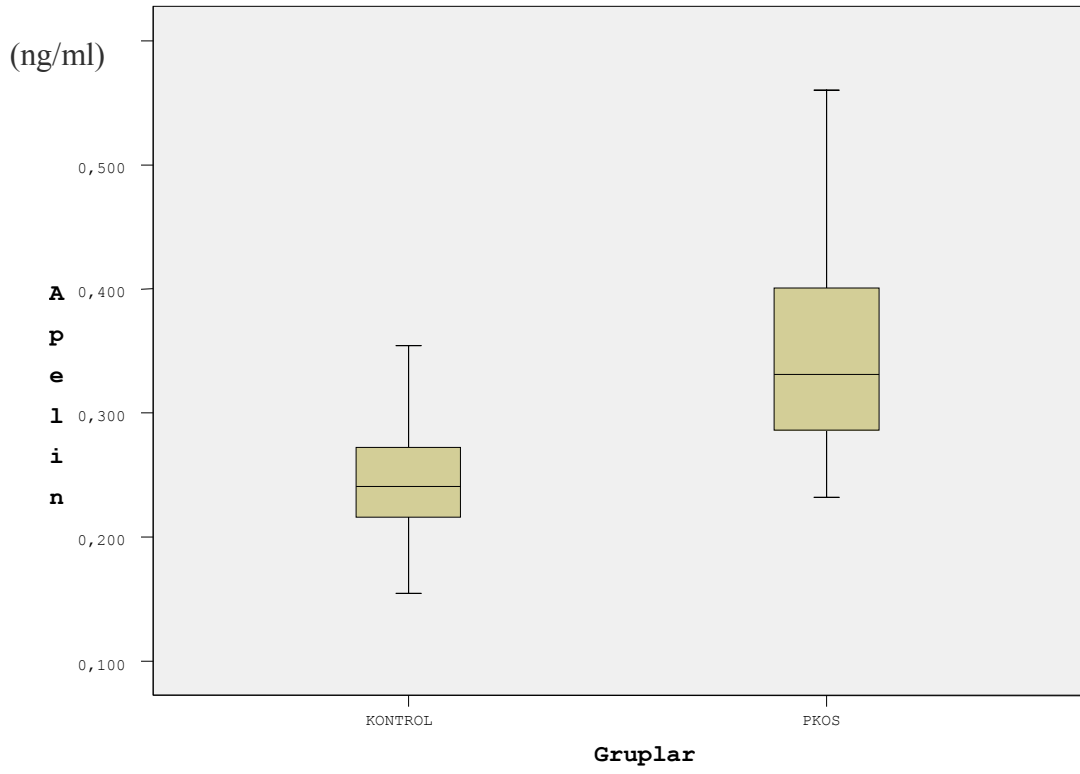
Klinik ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi sonucunda; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PKOS grubunda apelin düzeyleri anlamlı olarak yüksek ($p<0.001$), bel/kalça oranları anlamlı olarak yüksek ($p=0.002$), serbest testosteron düzeyleri anlamlı olarak yüksek ($p=0.034$), trigliserit düzeyleri anlamlı olarak yüksek ($p=0.021$), 17-OH progesteron düzeyleri anlamlı olarak yüksek ($p=0.048$), LH/FSH oranları anlamlı olarak yüksek ($p=0.011$) bulunmuş olup HDL ve SHBG düzeyleri anlamlı olarak düşük ($p=0.005$, $p=0.01$) bulunmuştur. Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Grupların klinik ve biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması tablo 4.1de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: PKOS ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

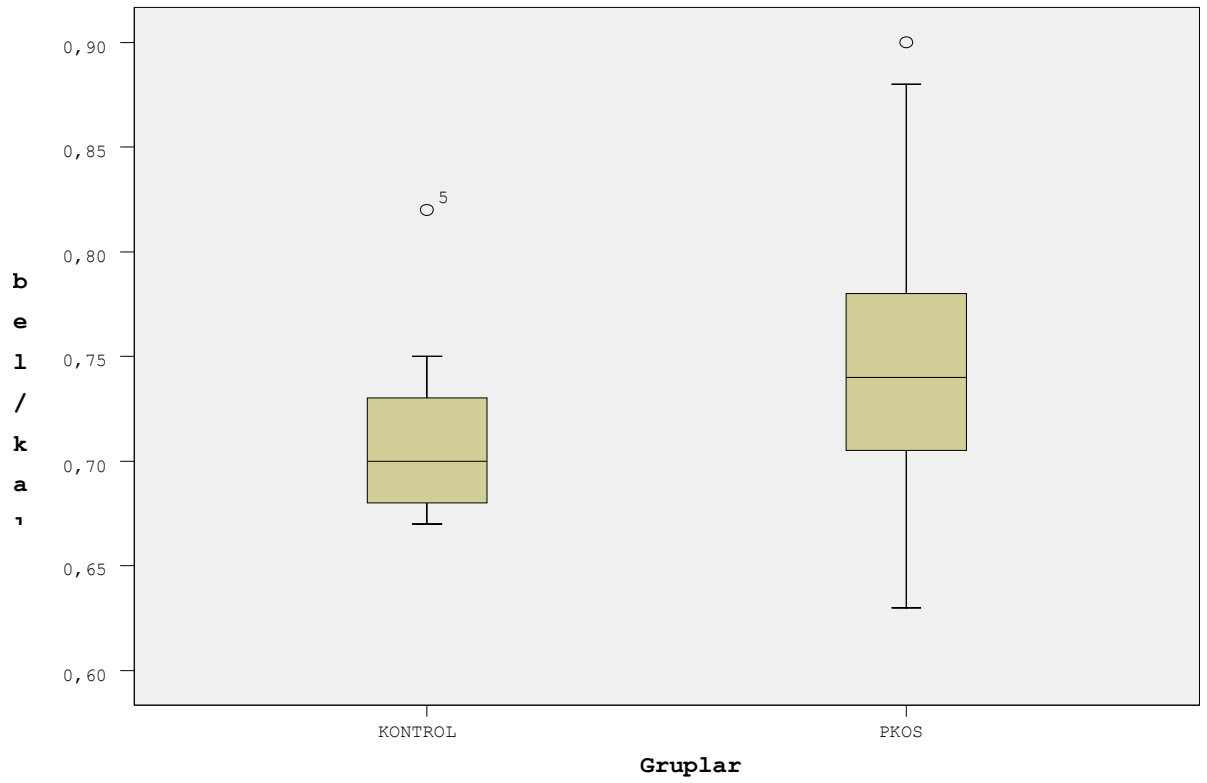
	PKOS			KONTROL			P
	Ortalama	± En	En	Ortalama	± En	En	
	Standart sapma	düşük	yüksek	Standart sapma	düşük	yüksek	
Yaş (Yıl)	23,81± 4,38	18	33	23,55± 4,13	18	32	0.807
VKİ(kg/m ²)	22.50± 3.20	15.2	29.1	21.90± 1.60	18.4	25.4	0.376
Bel/kalça	0.75± 0.06	0.63	0.90	0.71± 0.03	0.67	0.82	0.002**
FGS	14.31± 3.89	4	18	4.32± 1.68	2	10	<0.001**
Apelin (ng/ml)	0.350± 0.083	0.232	0.560	0.246± 0.045	0.155	0.354	<0.001**
FSH (mIU/ml)	5.63± 2.61	2.0	13.60	6.03± 1.94	2.1	10.8	0.492
LH (mIU/ml)	10.13± 5.97	2.27	24.90	7.87± 4.30	3.04	22.72	0.090
LH/FSH	1.91± 0.85	0.49	4.35	1.38± 0.74	0.50	4.22	0.011*
E2 (pg/ml)	54.24± 27.65	5.00	135.40	52.97± 23.58	7.75	115.30	0.846
Prl. (ng/ml)	15.87± 4.52	6.33	22.80	13.96± 6.22	5.14	35.89	0.166
TSH (uIU/ml)	1.94± 1.02	0.15	4.79	1.98± 0.83	0.59	4.02	0.857
ST3 (pg/ml)	3.32± 0.43	2.29	4.02	4.24± 5.53	2.36	33.95	0.351
ST4(pm/L)	16.59± 2.11	11.93	19.96	16.76± 1.82	12.41	19.35	0.734
DHEA-S (ug/dl)	285.36± 119.22	117.3	662.4	256.01± 122.33	105.1	610.0	0.339
Andros. (ng/ml)	3.02± 1.43	0.53	5.81	2.85± 1.19	0.96	6.96	0.597
S.Test. (pg/ml)	2.40± 1.67	0.46	7.58	1.59± 1.29	0.41	6.57	0.034*
T.Test. (ng/ml)	0.639± 0.356	0.194	1.540	0.605± 0.488	0.215	2.850	0.752
SHBG (nmol/L)	47.26± 28.83	10.90	113.59	68.48± 34.45	18.20	192.76	0.010*
17-OHP (ng/ml)	1.40± 1.10	0.4	4.50	1.00± 0.50	0.4	2.5	0.048*
İnsülin (uU/ml)	11.52± 6.91	3.43	32.80	10.02± 5.02	2.66	24.80	0.331
AKŞ (mg/dl)	89.56± 8.85	71	106	87.74± 9.64	70	102	0.438
HOMA-IR	2.58± 1.65	0.69	7.29	2.17± 1.05	0.53	4.72	0.245
TG (mg/dl)	86.97± 35.01	34	152	69.48± 22.93	45	150	0.021*
HDL (mg/dl)	54.29± 10.74	40	97	63.16± 13.31	41	91	0.005**
LDL (mg/dl)	80.67± 24.37	49.50	127.50	81.54± 21.70	45.20	117.00	0.881
T.Kol. (mg/dl)	154.13± 26.96	115	213	158.16± 25.22	124	212	0.542

p<0.05 (*) olarak, p<0.01() olarak gösterilmiştir.**

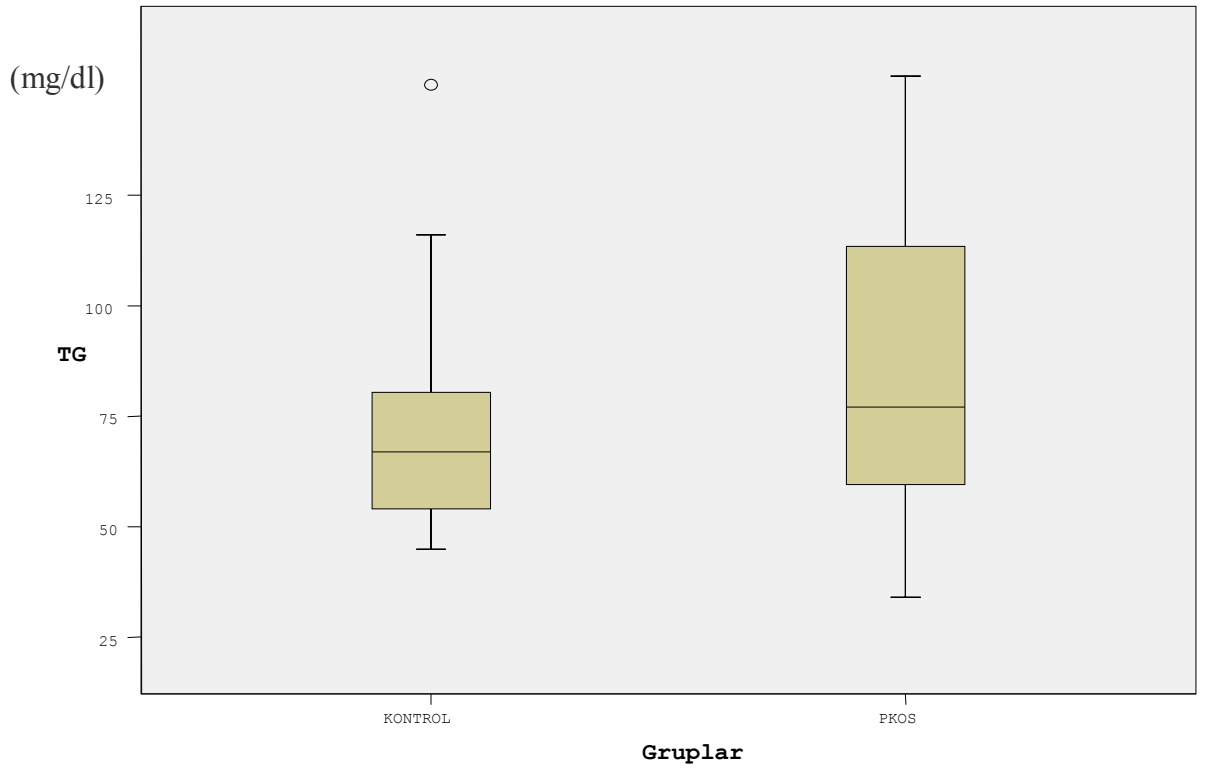
Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren parametrelerin şematik gösterimi aşağıdaki şekillerde verilmiş olup; şekil 4.1’de PKOS ve kontrol gruplarında apelin düzeylerinin dağılımı, şekil 4.2’de PKOS ve kontrol gruplarında bel/kalça oranlarının dağılımı, şekil 4.3’te PKOS ve kontrol gruplarında trigliserit düzeylerinin dağılımı, şekil 4.4’de PKOS ve kontrol gruplarında 17-0HP düzeylerinin dağılımı, şekil 4.5’te PKOS ve kontrol gruplarında LH/FSH oranlarının dağılımı, şekil 4.6’da PKOS ve kontrol gruplarında SHBG düzeylerinin dağılımı, şekil 4.7’de PKOS ve kontrol gruplarında HDL düzeylerinin dağılımı, Şekil 4.8’de PKOS ve kontrol gruplarında Serbest testesteron düzeylerinin dağılımı ve şekil 4.9’da PKOS ve kontrol gruplarında FGS değerlerinin dağılımı gösterilmiştir.



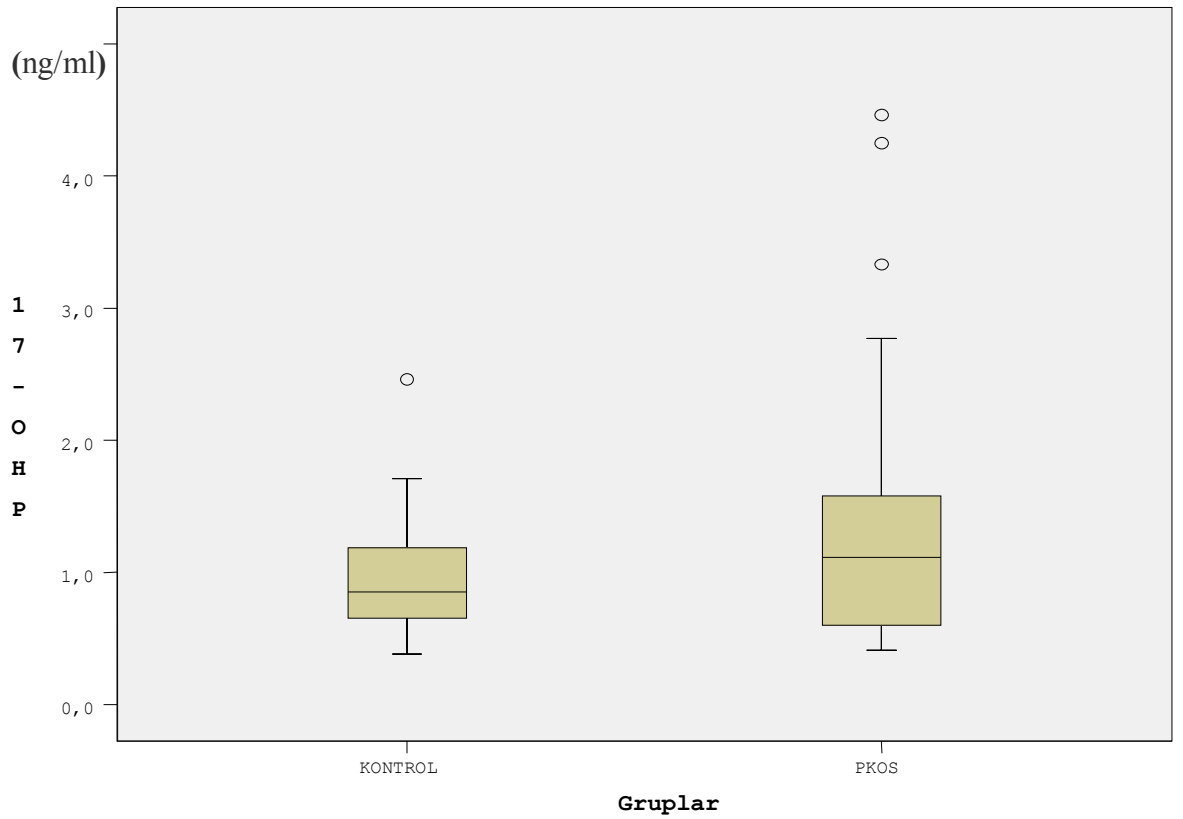
Şekil 4.1: PKOS ve kontrol gruplarında apelin düzeylerinin dağılımı



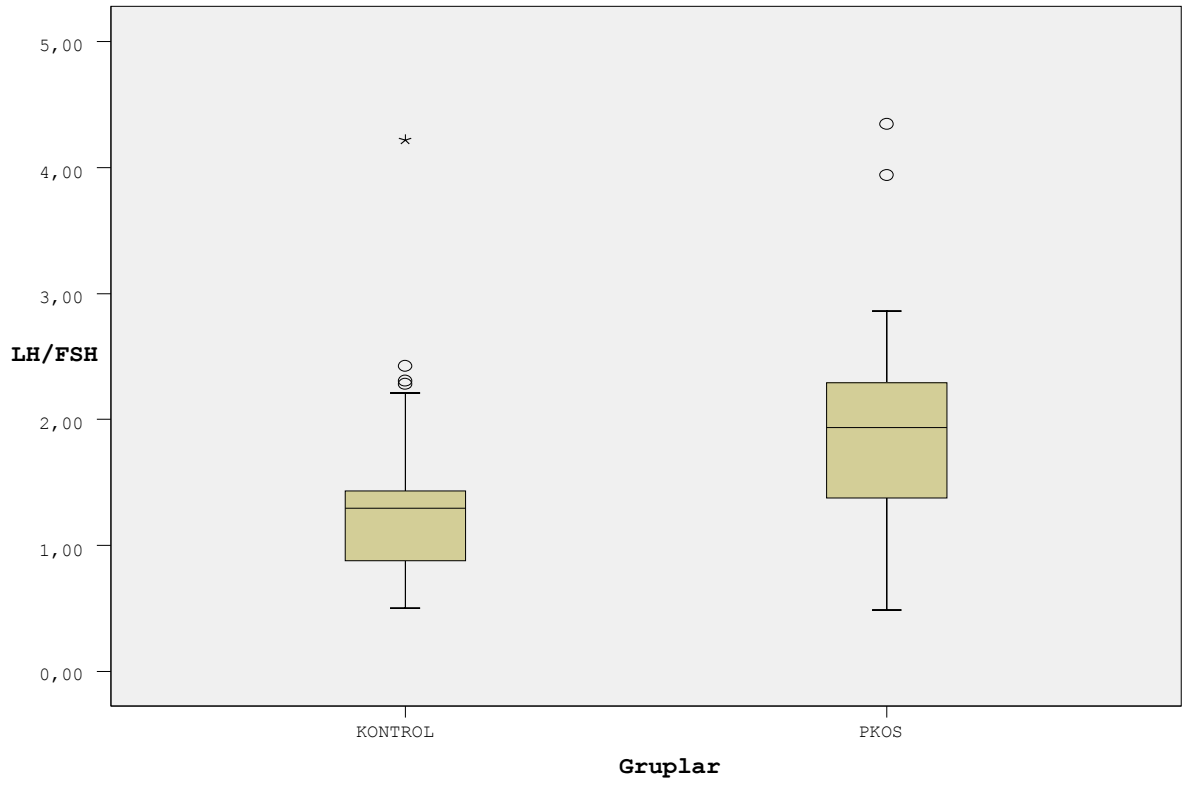
Şekil 4.2: PKOS ve kontrol gruplarında bel/kalça oranlarının dağılımı



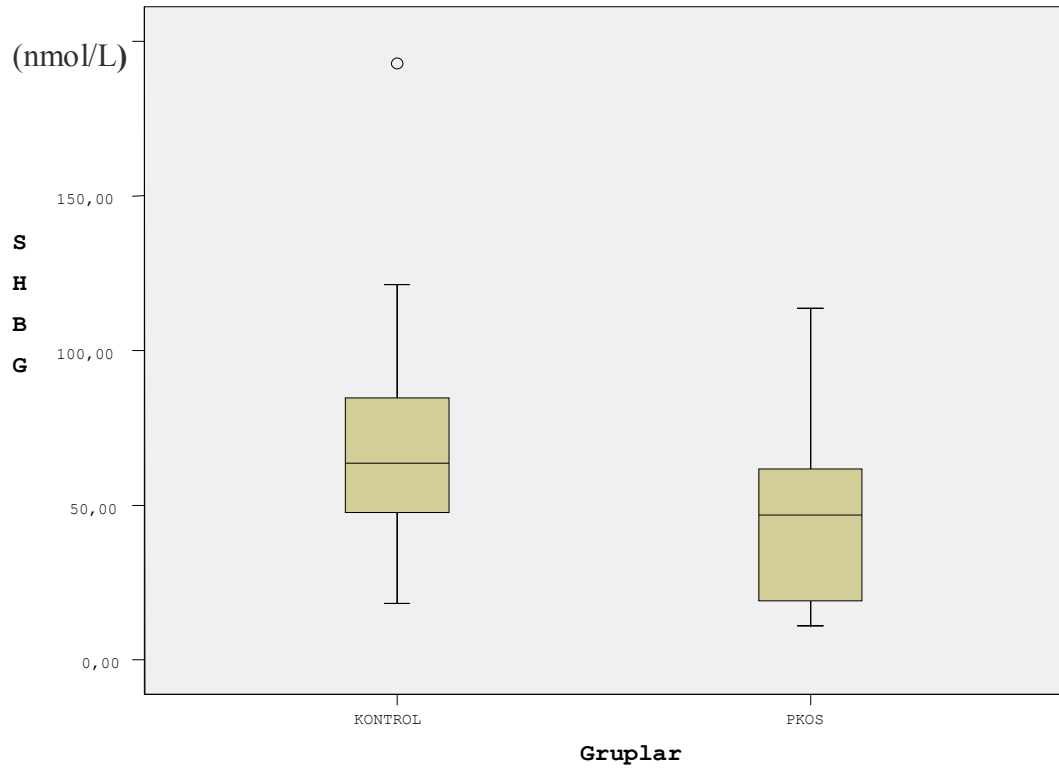
Şekil 4.3: PKOS ve kontrol gruplarında trigliserit düzeylerinin dağılımı



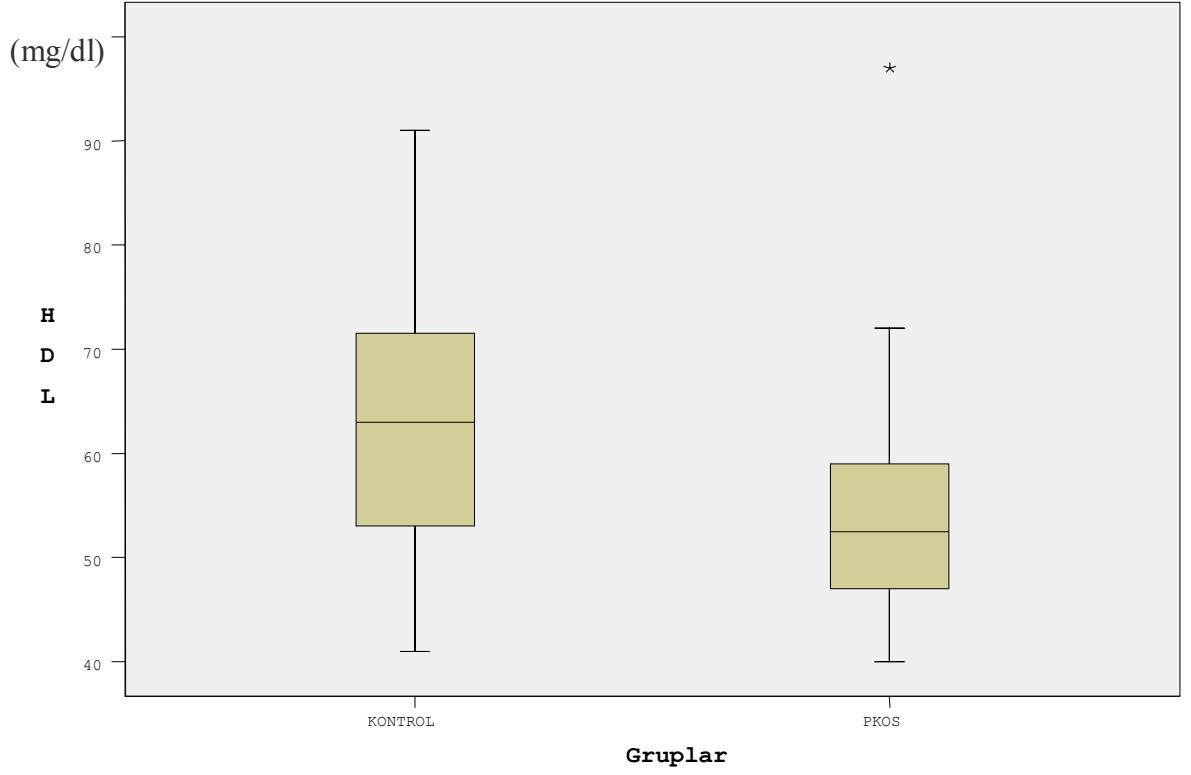
Şekil 4.4: PKOS ve kontrol gruplarında 17-0HP düzeylerinin dağılımı



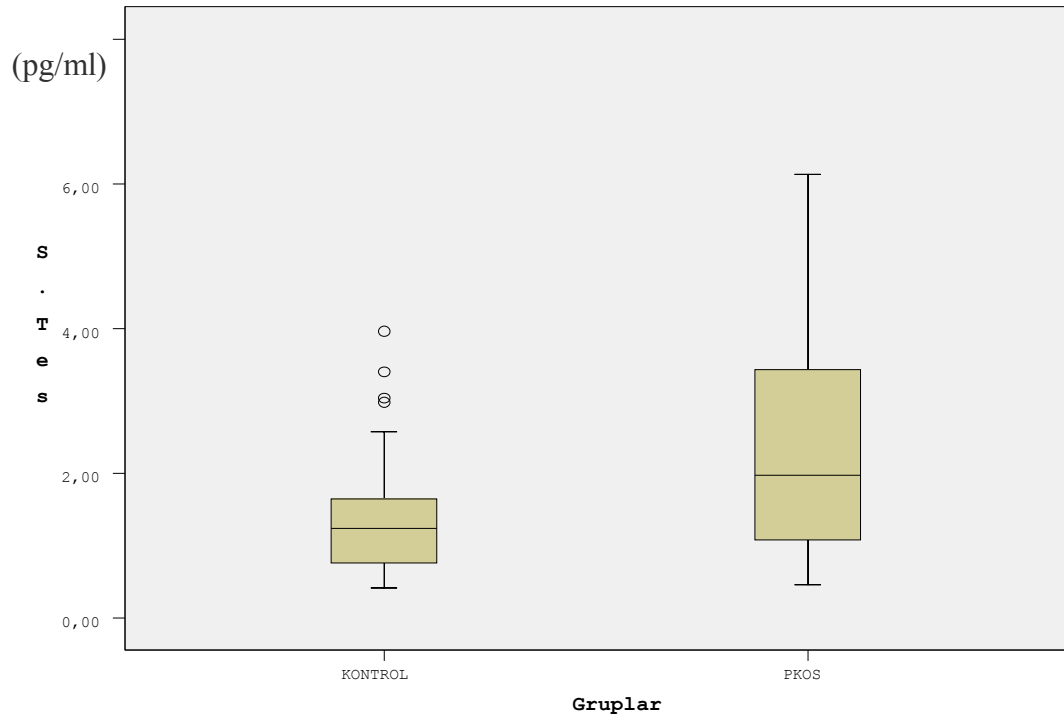
Şekil 4.5: PKOS ve kontrol gruplarında LH/FSH oranlarının dağılımı



Şekil 4.6: PKOS ve kontrol gruplarında SHBG düzeylerinin dağılımı

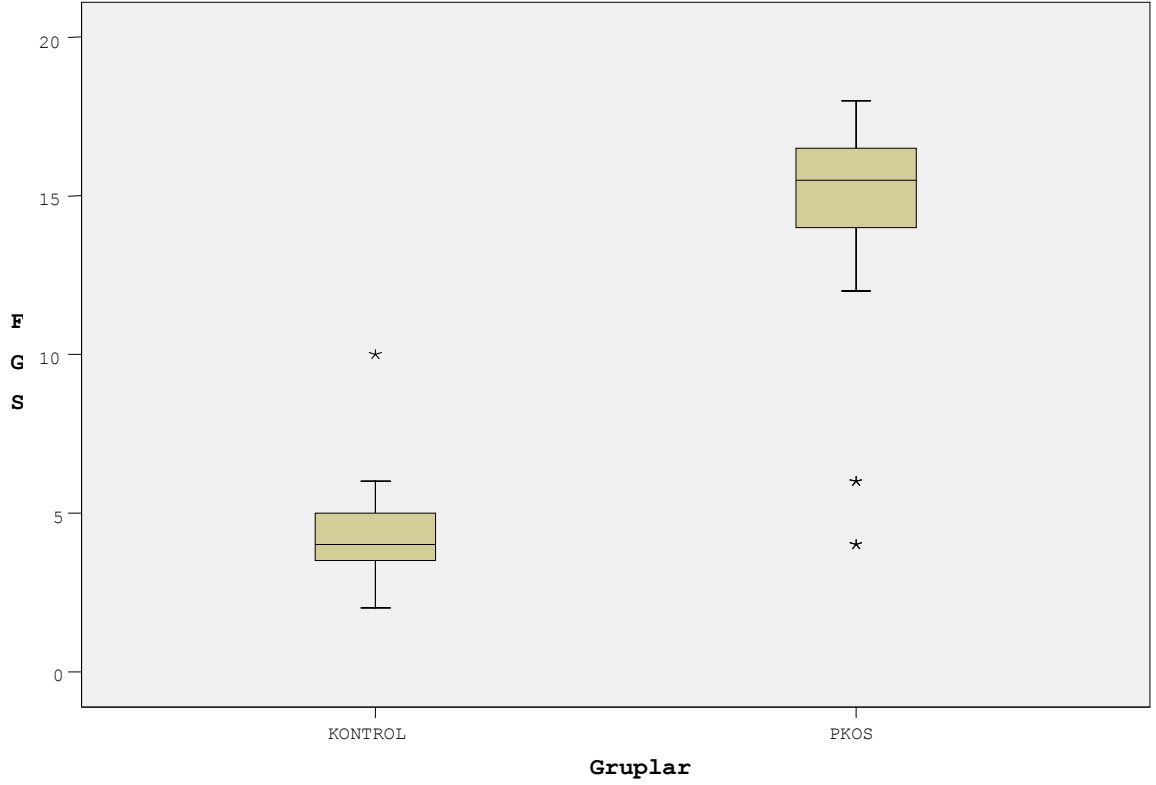


Şekil 4.7: PKOS ve kontrol gruplarında HDL düzeylerinin dağılımı



Şekil 4.8: PKOS ve kontrol gruplarında serbest testesteron düzeylerinin dağılımı

PKOS grubunun FGS değeri ortalaması $14,31 \pm 3,897$, kontrol grubunun FGS skoru ortalaması $4,32 \pm 1,681$ olarak hesaplanmış olup bu fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır ($p < 0.001$).



Şekil 4.9: PKOS ve kontrol gruplarında FGS değerlerinin dağılımı

Çalışmamızda PKOS ve kontrol grupları ayrı ayrı ele alındığında PKOS grubunda apelin düzeyleri ile diğer biyokimyasal ve klinik parametreler arasında herhangi bir anlamlı korelasyon gözlenmemiş olup kontrol grubunda ise apelin düzeyleri ile sadece SHBG seviyeleri arasında negatif korelasyon gözlenmiştir. Biz bu durumun grupların sayısal olarak sınırlı olması dolayısıyla ortaya çıktığını düşünmekteyiz. PKOS ve kontrol gruplarında apelin düzeylerinin diğer verilerle korelasyonu tablo 4.2 ve 4.3'te gösterilmiştir.

Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde tüm çalışma grubu ele alındığında apelin düzeyleri biyokimyasal ve demografik parametrelerden yalnızca FGS değerleri ve bel kalça oranlarıyla korelasyon göstermektedir. Bunun dışında VKİ, bel/kalça oranı ve HOMA-IR arasında istatistiksel anlamlı ilişki ve SHBG düzeyleri

ile FGS skorları, bel kalça oranı, HOMA-IR düzeyleri ve FGS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. Bu korelasyonlar tablo 4.4'te gösterilmiş ve ayrıca şekil 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14'te şematik olarak verilmiştir.

Tablo 4.2. PKOS grubunda apelin düzeyinin bazı verilerle korelasyonu

n= 32	Apelin		VKİ		Bel/Kalça		SHBG		FGS	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
VKİ	-0.065	0.725								
BelKalça	0.026	0.886	0.459(**)	0.008						
SHBG	0.265	0.143	-0.320	0.074	-0.165	0.368				
FGS	0.265	0.143	0.216	0.235	-0.043	0.814	-0.093	0.614		
HOMA-IR	0.060	0.743	0.365(*)	0.040	0.231	0.204	-0.256	0.157	0.195	0.285

p<0.05 (*) olarak, p<0.01(**) olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Kontrol grubunda apelin düzeyinin bazı verilerle korelasyonu

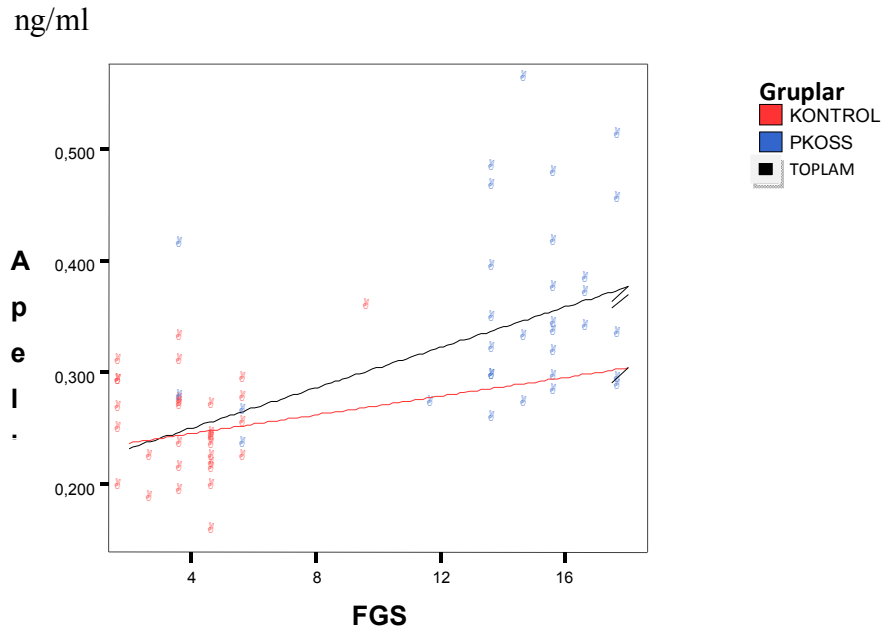
n= 31	Apelin		VKİ		Bel/Kalça		SHBG		FGS	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
VKİ	-0.150	0.420								
BelKalça	0.200	0.282	0.272	0.139						
SHBG	-0.492(**)	0.005	-0.007	0.972	-0.236	0.202				
FGS	0.156	0.403	-0.136	0.465	-0.009	0.963	-0.139	0.457		
HOMA-IR	0.237	0.199	-0.131	0.482	0.371(*)	0.040	-0.308	0.092	-0.022	0.907

p<0.05 (*) olarak, p<0.01(**) olarak gösterilmiştir.

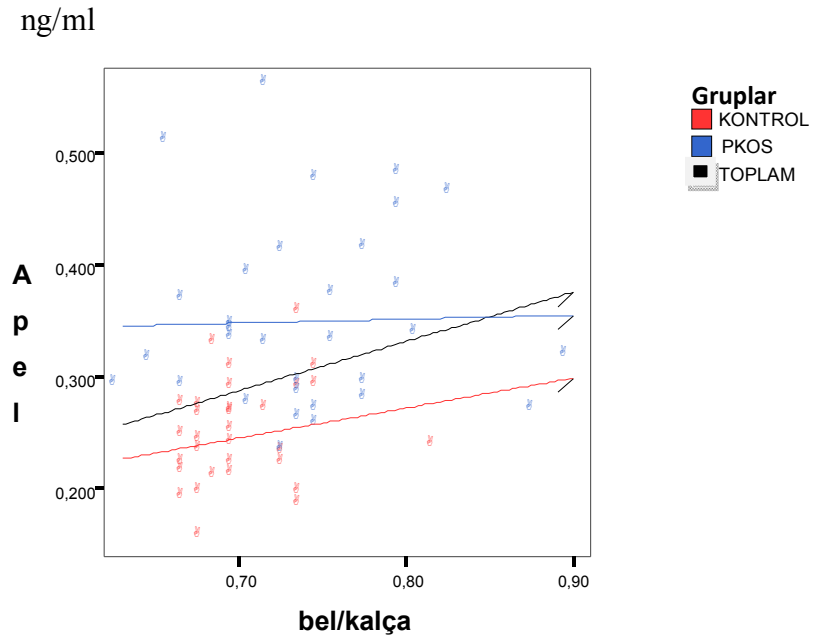
Tablo 4.4: Tüm çalışma grubunda apelin düzeyi ile biyokimyasal ve klinik veriler arası korelasyon

(n=63)	Apelin		VKİ		Bel/kalça		HOMA-IR		SHBG	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
VKİ	0.005	0.969								
Bel/kalça	0.279(*)	0.027	0.429(**)	<0.001						
HOMA-IR	0.173	0.175	0.258(*)	0.041	0.299(*)	0.017				
SHBG	-0.218	0.086	-0.213	0.094	-0.278(*)	0.027	-0.296(*)	0.019		
FGS	0.627(**)	<0.001	0.176	0.168	0.305(*)	0.015	0.202	0.112	-0.323(*)	0.10

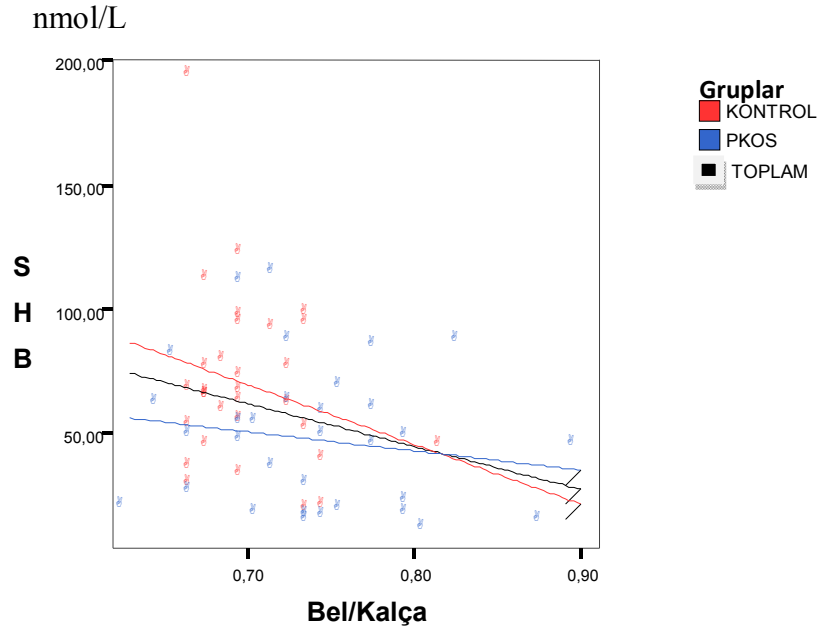
p<0.05 (*) olarak, p<0.01(**) olarak gösterilmiştir.



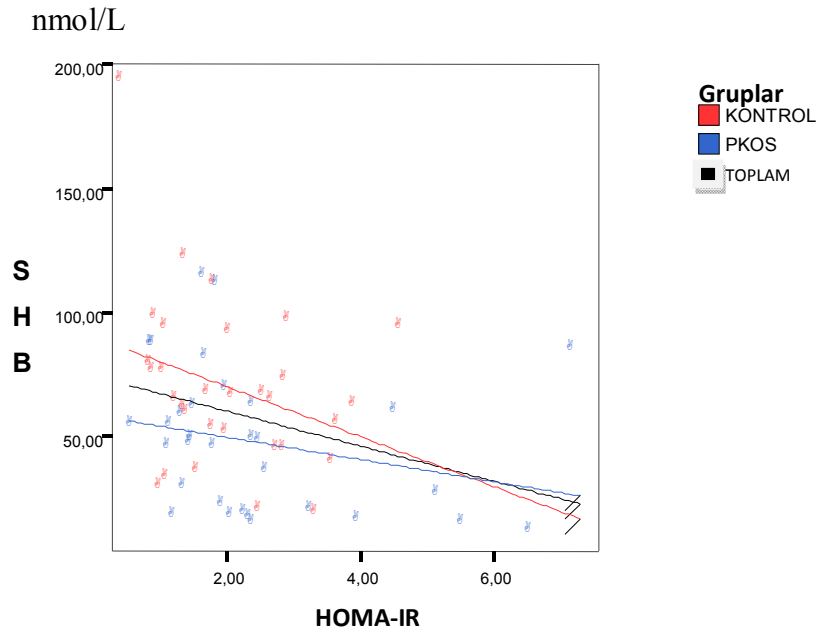
Şekil 4.10: Apelin düzeyleri ile FGS oranları arasındaki korelasyon ($r= 0.627$, $p<0.001$)



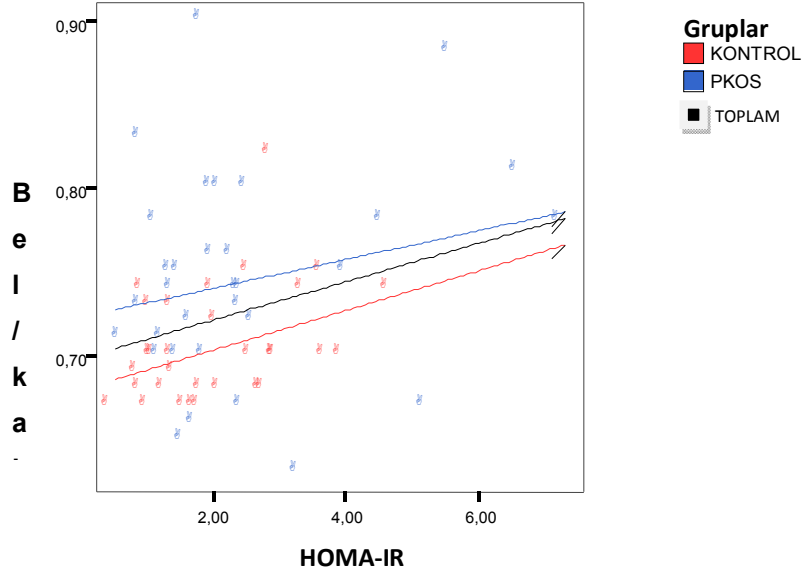
Şekil 4.11. Apelin düzeyleri ile Bel/Kalça oranları arasındaki korelasyon ($r=0.279$, $p=0.027$)



Şekil 4.12: SHBG düzeyi ile bel/kalça oranları arasındaki korelasyon ($r = -0.278$, $p = 0.027$)



Şekil 4.13: SHBG düzeyi ile HOMA-IR düzeyleri arasındaki korelasyon ($r = -0.296$, $p = 0.019$)



Şekil 4.14: Bel/kalça oranı ile HOMA-IR değerleri arasındaki korelasyonu (r= 0.299, p=0.017)

Çalışmamızda polikistik over görünümü (PKO); PKOS grubundaki 32 kadından 26 tanesinde (% 81,25), kontrol grubundaki 31 kadınların 5 tanesinde (% 16,1) bulunmuş olup, polikistik over görünümü ile apelin düzeyleri arasında ileride derecede anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Bu ilişki şekil 4.15'te gösterilmiştir.

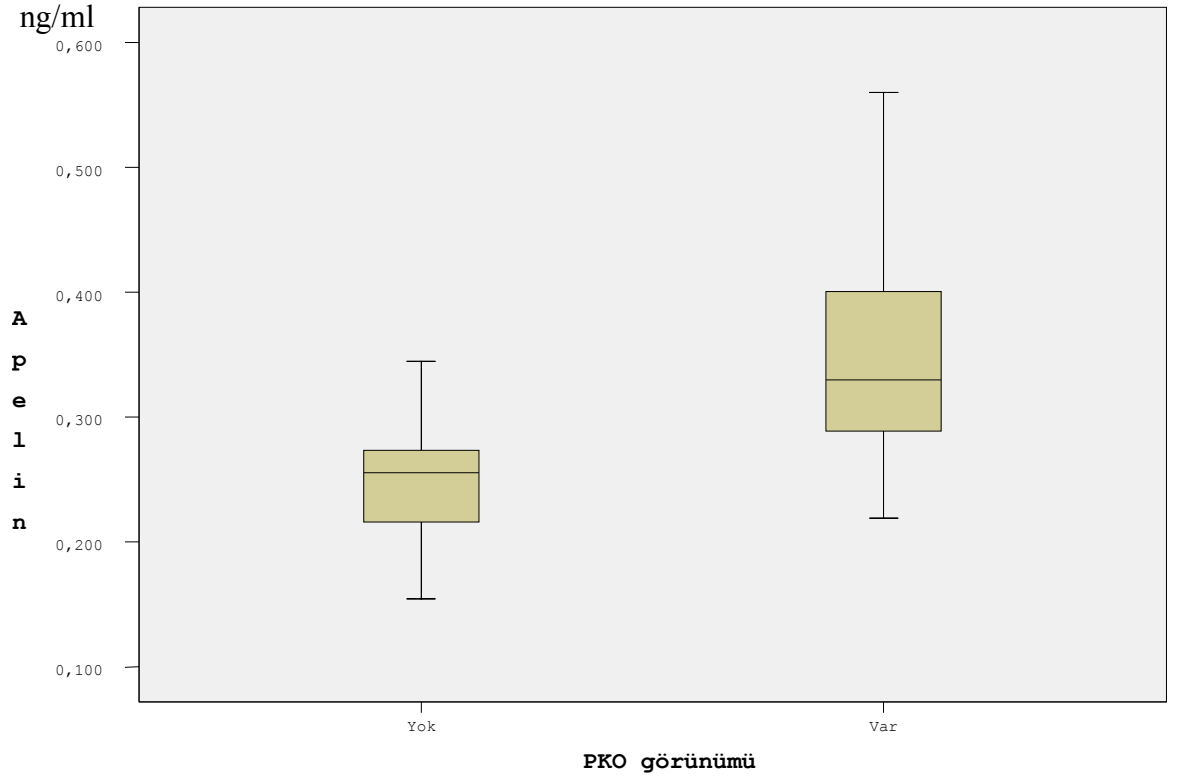
Polikistik over görünümünün klinik ve biyokimyasal parametrelerle ilişkisi tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5: Polikistik over görünümünün klinik ve biyokimyasal verilerle ilişkisi

Parametreler	Polikistik Over Görünümü						
	Polikistik over görünümü var n= 31			Polikistik over görünümü yok n= 32			P
	Ortalama± Standart sapma	En yüksek	En düşük	Ortalama± Standart sapma	En yüksek	En Düşük	
VKİ	21.93± 2.10	17.6	26.6	22.65± 3.05	15.2	29.1	0.254
Bel/Kalça	0.71± 0.05	0.63	0.88	0.74± 0.06	0.65	0.90	0.009**
FGS	15.36± 13.42	18	2	5.25± 5.30	16	2	<0.001**
Apelin (ng/ml)	0.251± 0.046	0.155	0.344	0.348± 0.087	0.219	0.560	<0.001**
FSH (mIU/ml)	5.81± 1.83	2.1	10.8	5.94± 2.72	2.0	13.6	0.518
LH (mIU/ml)	7.17± 2.40	3.04	12.79	10.92± 6.68	2.27	24.90	0.039*
LHF/FSH	1.36± 0.59	0.50	2.86	1.95± 0.95	0.49	4.35	0.009**
E2 (pg/ml)	51.02± 21.75	7.75	115.30	56.28± 29.04	5.00	135.40	0.680
Prl. (ng/ml)	14.04± 4.95	5.14	25.76	15.85± 5.89	6.33	35.89	0.189
TSH (uIU/ml)	1.79± 0.78	0.59	4.02	2.12± 1.04	0.15	4.79	0.189
ST3 (pg/ml)	4.31± 5.42	2.36	33.95	3.23± 0.43	2.29	4.00	0.180
ST4(pm/L)	16.68± 1.88	12.41	19.56	16.66± 2.07	11.93	19.96	0.984
DHEA-S (ug/dl)	254.8± 111.6	105.1	513.4	287.5± 129.1	117.3	662.4	0.219
Andros. (ng/ml)	2.75± 1.15	0.96	6.96	3.13± 1.45	0.53	5.81	0.390
S.Test. (pg/ml)	1.77± 1.63	0.41	7.58	2.24± 1.42	0.46	6.13	0.070
T.Test. (ng/ml)	0.551± 0.295	0.215	1.540	0.697± 0.519	0.194	2.850	0.322
SHBG (nmol/L)	64.43± 36.00	14.30	192.76	50.76± 29.07	10.90	121.30	0.120
17-OHP (ng/ml)	1.03± 0.72	0.4	4.3	1.37± 1.04	0.5	4.5	0.201
İnsülin (uU/ml)	10.04± 5.42	2.66	24.80	11.55± 6.64	4.17	32.80	0.299
AKŞ (mg/dl)	87.45± 9.41	70	102	89.78± 9.22	71	106	0.171
TG (mg/dl)	80.98± 31.14	45	152	76.06± 29.93	34	149	0.449
HDL (mg/dl)	61.32± 13. 21	41	88	56.05± 13.25	40	97	0.097
LDL (mg/dl)	84.93± 23.46	45.25	127.51	77.24± 22.12	46.60	126.0	0.167
HOMA-IR	2.17± 1.19	0.53	5.64	2.59± 1.57	0.99	7.29	0.368
T.Kol. (mg/dl)	161.62± 28.03	124	213	151.15± 23.00	115	192	0.130

p<0.05 (*) olarak, p<0.01(**) olarak gösterilmiştir.

Polikistik over görünümü ile plazma apelin düzeyleri arasındaki ilişkinin şematik olarak gösterimi şekil 4.15'te verilmiştir.



Şekil 4.15: Polikistik over görünümü ile plazma apelin düzeyleri arasındaki ilişki

TARTIŞMA

Bu çalışmada polikistik over sendromlu kadınlar ile sağlıklı kontrol grubunda plazma apelin düzeyleri karşılaştırılmış olup polikistik over sendromlularda plazma apelin düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur.

Polikistik over sendromu üreme çağında kadınlarda en sık rastlanan endokrinolojik bozukluk olup sıklığı farklı tanı kriterlerine göre değişmekle beraber yaklaşık olarak % 6-8 civarındadır (2). PKOS sadece üreme sorunlarıyla ilgili bir rahatsızlık değil, aynı zamanda çoklu metabolik bozukluklarla seyreden bir sendromdur (197). Multisistemik reproduktif, metabolik bir sendrom olarak PKOS kalp damar hastalıkları, tip 2 diyabet, lipid profili bozuklukları ve endometriyum kanseri gibi uzun dönem riskleri taşıması nedeniyle de ön plana çıkmaktadır (198).

Bu çalışmada, çalışmaya dahil edilen kadınlar 18–33 yaşları arasında olup, PKOS grubundaki kadınların ortalama yaşları 23.81 ± 4.38 yıl, kontrol grubunu oluşturan sağlıklı gönüllülerin ortalama yaşları ise 23.55 ± 4.38 yıl idi. Her iki grupta yaşlar arasında anlamlı fark yoktu. Çalışma grupları arasında VKİ değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmayıp genel olarak örneklem grubu normal kilolu kişilerden oluşmaktaydı.

PKOS hastalarında obezite yaklaşık %50-70 oranında görülmekte olup; bu da genel olarak bel/kalça oranının arttığı android obezitedir. Obez hastalarda hastalığın patogenezi ve insülin direncinin mekanizmasının normal kilodakilerden farklı olduğu düşünülmektedir (77, 88, 90, 92, 136, 138, 199,200). Obez olmayan PKOS hastalarında da android tipte yağ birikimi ve karın içi yağlanmada artış gösterilmiştir (201). Obez olmayan PKOS hastalarında insülin direnci olduğunu gösteren çalışmaların yanında (88, 90, 136), olmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (202, 203).

Yaptığımız çalışmada bel/kalça oranları PKOS grubunda 0.75 ± 0.6 , kontrol grubuna göre 0.71 ± 0.3 anlamlı olarak yüksek ($p < 0.01$) bulunmuş olup bu da normal kilolu PKOS hastalarında bel/kalça oranlarının artışı gösteren literatür bilgileriyle uyumaktadır. Çalışmamızda HOMA-IR değerleri PKOS hastalarında ortalama 2.58 ± 1.65 , kontrol grubunda 2.17 ± 1.05 olarak bulunmuş olup PKOS grubu ortalaması kontrol grubundan yüksek olmasına karşın bu fark istatistiksel olarak

anlamli değildir ($p>0.05$). Daha önce de belirtildiği üzere bu bulgulara benzer biçimde normal kilolu PKOS hastalarında insülin direncinin sağlıklı kişilerle benzer düzeylerde olduğunu gösteren çalışmaların (202, 203) yanında normal kilolu PKOS hastalarında insülin direnci olduğunu gösteren çalışmalar da (88, 90, 136) bulunmaktadır.

Çalışmamızda insülin direncini değerlendirmek amacıyla HOMA-IR yöntemini kullandık. İnsülin direncini değerlendirmede altın standart yöntem glisemik hiperinsülinemik klemp tekniğidir. Ancak HOMA-IR'nın insülin direncini değerlendirmede glisemik hiperinsülinemik klemp tekniği kadar duyarlı olduğu gösterilmiştir (204). Obez olmayan PKOS hastalarında insülin direnci ile ilgili çelişkili sonuçlar, çalışmalarda insülin direncini tespit etmede farklı yöntemler kullanılması ile açıklanabilir. İnsülin direnci açısından HOMA-IR sınır değerinin 2.77 olarak alındığı çalışmalarda PKOS'lu hastalarda, insülin direncinin sıklığı %64 ile %79 arasında saptanmıştır (205, 206). Bizim alışmamızda PKOS grubunda 32 hastadan 7 tanesinin (%21.9) kontrol grubundaki 31 olgudan ise 9 tanesinin (% 29) HOMA-IR değerleri 2.77'nin üzerindedir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu durumun çalışma grubunun genel olarak obez olmayan hastalardan oluşuyor olması ve gruplar arasında VKİ oranlarının benzer olmasından kaynaklanması olasıdır.

PKOS hastalarında lipid ve lipoprotein düzeylerinde değişiklikler bulunmakta olup bu değişikliklerin kalp damar hastalığı riskinde artışla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. PKOS'lu kadınlarda düzenli menstruel siklusu olan kadınlara göre HDL düzeyinin daha düşük, TG düzeyinin daha yüksek ve LDL/HDL oranının daha büyük olduğunu gösteren ilk araştırmacılar Wild ve arkadaşlarıdır (207). PKOS'ta en sık görülen lipid bozuklukları yüksek TG ve düşük HDL kolesterol düzeyleridir (207, 208, 209). LDL kolesterol düzeyi artmadan da aterojenik olan kkk ve yoğun moleküllü LDL'nin yükseldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (207). PKOS'la kontrol grubunun karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada da benzer şekilde PKOS 'da artmış VKİ, LDLc, Bel/Kalça oranı, açlık insülini, sistolik kan basıncı ve azalmış HDL düzeyi gösterilmiştir (208). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak PKOS grubunda trigliserit düzeyleri 87 ± 35 mg/dl kontrol grubuna göre 69 ± 22 mg/dl

istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek, HDL düzeyleri PKOS grubunda 63 ± 13 mg/dl kontrol grubuna göre 54 ± 11 mg/dl anlamlı olarak düşük bulundu.

Yapılan çalışmalarda obez olmayan PKOS hastalarında DHEA, serbest testosteron, Androstenedion, LH düzeyleri ve LH/FSH oranları normal kilodaki kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, SHBG düzeyleri ise anlamlı olarak düşük bulunmuştur (210). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde 17-OH progesteron düzeyleri PKOS grubunda 1.4 ± 1.1 ng/ml kontrol grubuna göre 1 ± 0.5 ng/ml anlamlı olarak yüksek, serbest testosteron düzeyleri PKOS grubunda 2.40 ± 1.67 pg/ml kontrol grubuna göre 1.59 ± 1.20 pg/ml anlamlı olarak yüksek, SHBG düzeyleri PKOS grubunda 47.26 ± 28.83 nmol/L kontrol grubuna göre 68.48 ± 34.45 nmol/L anlamlı olarak düşük bulunmuştur. LH/FSH düzeyleri de çalışmamızda beklenildiği üzere PKOS grubunda 1.91 ± 0.74 kontrol grubuna oranla 1.38 ± 0.74 anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda PKOS grubundaki 32 kadından 26 tanesinde (% 81.25), kontrol grubundaki 31 kadınların 5 tanesinde (% 16.1) polikistik over görünümü bulunmuş olup, literatürde de benzer biçimde PKOS' lu kadınların yaklaşık % 70-80 kadarında sağlıklı kadınların ise % 20 kadarında polikistik over görünümü izlendiği belirtilmektedir (1). PKOS' lu kadınlarda yeni folikül büyümesi devamlı olarak uyarılmakta, fakat ovüle olabilecek olgunlukta folikül oluşmadığından ovülasyon meydana gelmemektedir. Bu foliküller hiperplaziye uğramış teka hücreleriyle sarıdır. Bir döngü içerisinde gelişimini tamamlayamamış bazı foliküller atreziye uğramakta, yerlerini yeni foliküller almaktadır (3).

Yakın döneme kadar sadece depo görevi gördüğü düşünülen yağ dokusunun bugün artık çeşitli hormon ve sitokinler salgılayan bir endokrin organ olduğu anlaşılmıştır (6). Yağ dokusundan adipositokin ya da diğer adıyla adipokin adı verilen biyolojik olarak aktif çok sayıda peptid salgınmaktadır (6). Bu adipositokinlerden TNF α , IL-6, CRP, IGF-1, seks steroidleri, rezistin, visfatin, adiponektin ve apelinin insülin direnci ile ilgili olduğu gösterilmiştir (7). Visfatin, rezistin, adiponektin, leptin, retinol bağlayıcı protein 4 ve IL-6 gibi adipositokinlerin polikistik over sendromlu hastalarda plazma düzeyleri ve etkilerini irdeleyen çalışmalar yapılmıştır (144, 145, 148, 150, 151, 156, 157, 160, 211-216). Buna karşın polikistik over sendromlu hastalarda apelin düzeyleri ve apelinin bu hasta grubundaki etkileriyle ilgili çalışma yoktur.

Apelin; 1998'de Tatemoto ve arkadaşları tarafından izole edilen 36 aminoasitlik bir peptittir (163). Apelin immünreaktivitesi SSS'de, kalp, akciğer ve meme bezleri gibi çeşitli periferel dokularda eksprese edilmektedir. Periferel dokularda apelinin yaygın ekspresyonunun sentezinin endotel hücrelerinde yapılmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (166). Apelinin lokal parakrin hormon olduğu düşünülmektedir, plazmada düşük pikomolar konsantrasyonlarda dolaşır (170-174). Apelinin su alımı ve hipotalamohipofizer aks üzerine etkileri (168, 174, 182), kardiyovasküler sistemde hipotansif (168, 169, 183-186) ve miyokard kontraktilitesini arttırıcı etkileri (188,190), anjiogenez üzerine etkileri (187, 188) dışında obezite ve insülin direnciyle de yakın ilişkisi mevcuttur.

Yakın zamanda fare ve insan cilt altı yağ dokusunda apelin mRNA ve proteini tespit edilmiştir (8). Apelin salınımı intraabdominal ve cilt altı yağ dokusunda benzerdir ve beyaz yağ dokusunda kahverengiye göre belirgin olarak yüksektir. Plazma apelin konsantrasyonu obez farelerde zayıf olanlara göre 2-4 kat yüksektir ve bu da yağ dokunun plazma apelinin önemli bir kaynağı olduğunu destekler (8). İnsülinin adipoz dokuda apelin ekspresyonunu düzenlediği fare deneylerinde gösterilmiştir (8). Plazma apelin konsantrasyonunun orta obez insanlarda obez olmayan kişilere göre 2 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (8). Morbid obez hastalarda plazma apelin düzeyleri zayıf insanlara göre 5 kat daha yüksek bulunmuştur (9). Apelinin adipoz dokudan önemli miktarlarda sekrete edilen bir adipokin olduğu tüm bu verilerden görülmektedir. Apelin leptin benzeri özelliklere sahiptir, lokomotor aktiviteyi arttırır, gıda alımından bağımsız olarak vücut iç sıcaklığını arttırır, negatif enerji dengesine katkı sağlar (192). Apelin ayrıca leptin gibi glikoz indüklü insülin sekresyonunu inhibe eder (193).

Bizim çalışmamızda apelin düzeyleri polikistik over sendromlu kişilerde 0.350 ± 0.83 ng/ml kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 0.246 ± 0.45 ng/ml yüksek bulundu. Bu fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır ($p < 0.01$). Apelin düzeyleri ayrıca bütün çalışma grubu değerlendirildiğinde tüm biyokimyasal ve demografik parametrelerden yalnızca FGS değerleri, polikistik over görünümü ve bel kalça oranlarıyla korelasyon göstermiştir. İntraabdominal yağ dokusunda apelin salınımının cilt altı yağ dokusuna benzer düzeylerde olması nedeniyle (8); visseral yağ dokusunda artışla karakterize olan artmış bel/kalça oranının izlendiği android tip

yağlanmanın yüksek apelin düzeyleriyle korele olması anlamlıdır. Polikistik over sendromunda gözlenen android tipte yağlanma ile beraber hiperinsülinemi, glukoz toleransında bozukluk, diabet ve androjen yapım hızında artış izlenmektedir. Hiperandrojenizm seks hormon bağlayıcı globulin seviyelerinde düşüşe neden olarak serbest östradiol ve testosteron düzeylerinin artışına yol açar (82-84). Çalışmamızda tüm çalışma grubu ele alındığında hiperandrojenizmin klinik bulgularından olan hirsutizm ve artmış bel/kalça oranları ile apelin düzeyleri korele olarak bulunmuştur. Çalışma ve kontrol grupları ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise bu korelasyonlar izlenmemiş olup yalnızca kontrol grubunda apelin düzeyleri ile SHBG seviyeleri arasında zayıf bir negatif korelasyon izlenmiştir ($p=0.04$). Bu durum grupların sayısal olarak sınırlı olmasından kaynaklanıyor olabileceği gibi; PKOS grubunda yer alan hastaların hemen hemen tümünün genel olarak yüksek bel/kalça oranı ve FGS değerlerine ; kontrol grubundakilerin ise genel olarak daha düşük bel/kalça düzeyi ve FGS değerlerine sahip olması dolayısıyla gruplar arası dağılım farkına da bağlı olabilir.

Bizim çalışmamızda apelin düzeyleri ile insülin düzeyleri ve HOMA-IR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon izlenmemiştir. Oysa önceki çalışmalarda apelinin insülin direnciyle ilişkisi insan (7) ve fare deneylerinde gösterilmiştir (8). Yine diabetik veya glukoz intoleransı olan hastalarda serum apelin seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir (194). Bizim çalışmamızda bu ilişkinin ortaya konamama nedeninin; çalışma grubunun genel olarak insülin direnci olmayan hastalardan meydana gelmesi olduğunu düşünmekteyiz.

Yine çalışmamızda artmış apelin düzeyleri ile polikistik over görünümü arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir birliktelik olması dikkat çekici bir bulgudur. Memeli hücrelerinde teka hücrelerinde LH'nin apelin ve APJ reseptör mRNA ekspresyonunun doku kültürlerinde ileri derecede arttırdığı gösterilmiş olup, (10) LH 'ın bu yolağı nasıl aktive ettiği henüz bilinmemekle beraber bu durumun transkripsiyon yolağı ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca granuloza hücrelerinde APJ reseptör mRNA ekspresyonundaki artış foliküler atrezinin karakteristiklerinden biridir ve atretik foliküllerde folikül sıvısında apelin yüksek düzeylerde bulunur. PKOS'ta folikül gelişimi devamlı olarak uyarılmakta, fakat ovülasyon meydana gelmemektedir. Overlerde teka hücre hiperplazisi meydana

gelmektedir. Bir döngü içerisinde bazı foliküller atreziye uğramakta, yerlerini yeni foliküller almaktadır (3). Olgunlaşmamış ve atretik foliküller, artmış stroma ve hiperplaziye uğramış bir granuloza tabakası ile karakterli polikistik over yapısının bozulmuş LH – FSH dengesiyle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (10). Yakın dönemli çalışmalarda LH – FSH dengesinin apelinin sistem üzerinden folikül maturasyonu, foliküler anjiogenez, atrezi ve teka hücre hiperplazisi ile bağlantılı olduğu gösterilmiş olup; bu durumun ileri çalışmalarla irdelenmesi gerekmektedir (10, 11).

Literatürde PKOS'ta apelin düzeyleri ve apelinin etkileriyle çalışma yapılmamış olması dolayısıyla; değerlendirme yapmak zor olsa da PKOS'ta apelin benzeri diğer adipositokinlerin değerlendirildiği çalışmalar yol gösterici olabilir. Örneğin PKOS hastalarında TNF α düzeylerinin sağlıklı kadınlara göre bazı çalışmalarda yüksek, (144) bazılarında ise benzer bulunmuştur (145). Ayrıca obez olmayan PKOS hastalarında TNF α 'nın insülin direncine katkı sağladığını destekleyen yayınlar mevcuttur (146).Yapılan çalışmalarda TNF α 'nın insan yağ doku hücrelerinde apelin düzeylerini arttırdığı gözlenmiştir (194). PKOS'lu hastalarda yapılan bazı çalışmalarda IL-6 düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur (148). PKOS'ta da rezistin seviyelerinin incelendiği çalışmalarda sağlıklı bireylerle anlamlı farklılık olmadığı gösterilmiştir (150, 151). Apelin ile benzer özellikler gösteren visfatinin plazma düzeylerinin PKOS hastalarında arttığını gösteren çalışmalar olduğu gibi (156), karşıt çalışmalar da bulunmaktadır. Obez olmayan PKOS hastalarında visfatin düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu gösteren bir çalışma da mevcuttur (157). Adiponektin düzeyleri PKOS 'lularda sağlıklı kadınlara göre düşük bulunmuştur (161). Yakın bir çalışmada normal ve obez farelere 14 günlük intraperitoneal apelin uygulamasının gıda alımından bağımsız olarak vücut yağlanmasını azalttığı, insülin leptin ve trigliserid seviyesini düşürdüğü, bağlanmamış proteinlerin ekspresyonu, adiponektin düzeylerinde artışa yol açtığı gösterilmiştir (195).

Sonuç olarak bizim çalışmamızda PKOS hastalarında plazma apelin düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu durum sebep sonuç ilişkisi içerisinde; obezite, artmış bel/kalça oranı, adipositede artış, adipositokin düzeyi değişiklikleri, LH/FSH etkileşiminde bozulma, insülin direnci,

hipotalamohipofizer aks etkileri ve polikistik overlerin kendi doğasından kaynaklanan lokal parakrin ve endokrinolojik davranışları gibi komponentler nedeniyle olabileceği gibi PKOS'ta meydana gelen metabolik değişimlere bağlı olarak kompensatuar bir mekanizmayla da gelişiyor olabilir. Bu mekanizmanın net bir biçimde aydınlatılabilmesi için daha geniş kapsamlı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Polikistik over sendromu (PKOS) üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen reproduktif endokrinopati olup, sıklığı farklı tanı kriterlerine göre değişmekle beraber, genel olarak reproduktif dönemde %6-8 civarındadır. PKOS sadece üreme sorunlarına yol açan bir hastalık değil; multisistemik reproduktif, metabolik bir sendromdur. Çalışmamızda PKOS hastaları ve sağlıklı kontrol grubunda plazma apelin düzeylerinin karşılaştırılmış ve bunun klinik ve biyokimyasal parametrelerle ilişkisi değerlendirilmiştir.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PKOS grubunda apelin düzeyleri, bel/kalça oranları, ferriman gallway skorları, serbest testosteron düzeyleri, trigliserit düzeyleri, 17-OH progesteron düzeyleri, LH/FSH oranları anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup HDL ve SHBG düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Tüm çalışma grubu ele alındığında apelin düzeyleri biyokimyasal ve demografik parametrelerden yalnızca FGS değerleri ve bel kalça oranlarıyla korelasyon göstermektedir. Bunun dışında VKİ, bel/kalça oranı ve HOMA-IR arasında istatistiksel anlamlı ilişki ve SHBG düzeyleri ile FGS skorları, bel kalça oranı, HOMA-IR düzeyleri ve FGS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. PKOS ve kontrol grupları ayrı olarak ele alındığında PKOS grubunda apelin düzeyleri ile diğer biyokimyasal ve klinik parametreler arasında herhangi bir anlamlı korelasyon gözlenmemiş olup kontrol grubunda ise apelin düzeyleri ile sadece SHBG seviyeleri arasında korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca ultrasonografide polikistik over görünümü bulunan hasta grubunda apelin düzeyleri polikistik over görünümü bulunmayan hastalara oranla anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda PKOS hastalarında plazma apelin düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuş olup daha yüksek olgu sayıları içeren kapsamlı çalışmaların yapılması bu ilişkinin ve oluşum mekanizmalarının daha net bir biçimde ortaya konabilmesi için yarar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- 1- Attar E, Ata B. (2007) Gomel'in Jinekolojisi 1. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s: 293-304.
- 2- 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; 89:2745-49.
- 3- Speroff L, Fritz, M. Anovulation and Polycystic ovary, Part 2, Chapter 12. In: Speroff L, Fritz, M, editor. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite 7. ed. Çeviren Erk A, Günalp S. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, s: 465-498.
- 4- Task force on the phenotype of the polycystic ovary syndrome of the Androgen Excess Society. Position statement: The Androgen Excess Society evidence-based criteria for defining the polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91:9237-45.
- 5- Wild RA. Obesity, lipids, cardiovascular risk, and androgen excess. *Am J Med* 1995; 98:27-32.
- 6- Kershaw E and Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2548-56.
- 7- Ronti T, Lupattelli G and Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clinical Endocrinology* 2006; 64:355-65.
- 8- Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpéné C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P: Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 2005; 146:1764-71.
- 9- Heinonen MV, Purhonen AK, Miettinen P et al: Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul Pept*, 2005; 130:7-13
- 10- Shimizu T, Kosaka N, Murayama C, Tetsuka M, Miyamoto A. Apelin, APJ receptor expression in granulosa, theca cells during different stages of follicular development in the bovine ovary: Involvement of apoptosis and hormonal regulation. *Anim Reprod Sci* 2009,Nov,01;116(1-2):28-37.
- 11- Schilffarth S, Antoni B, Schams D, Meyer HHD, Berisha B. The expression of apelin and its receptor apj during different physiological stages in the bovine ovary. *Int J Biol Sci* 2009; 5:344-50.
- 12- Polson DW, Wadsworth J, Adam. J, Franks S, Polycystic ovaries: a common finding in normal women, *Lancet ii* 1988; 1:870-72.
- 13- Koivunen R, Laatikainen T, Tomas C, Huhtaniemi I, Tapanainen J, Marnkainen H. The prevalence of polycystic ovaries in healthy women, *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78:2:137-41.

- 14-Clayton RN, Ogden V, Hodgkinson J, Worswick L, Rodin DA, Dyer S, Meade TW. How common are polycystic ovaries in normal women and what is their significance for the fertility of the population, *Clin Endocrinol* 1992;37:2:127-34.
- 15-Goldzieher JW, Axelrod LR. Clinical and biochemical features of polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1963; Now-Dec:14:631-53.
- 16-Aono T, Miyazaki M, Miyake A, Kinugasa T, Kurachi K, Matsumoto K. Responses of serum gonadotropins to LH-releasing hormone and estrogens in Japanese women with polycystic ovaries. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1977; 85:840-49.
- 17-Seratini P, Alban F, Lobo RA. 5 α -reductase activity in the genital skin of hirsute women. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60:349-55.
- 18-Lobo RA, Goebelsmann U, Horton R. Evidence for the importance of peripheral tissue events in the development of hirsutism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57:393-97.
- 19-Carmina E, Lobo RA. Do hyperandrogenic women with normal menses have polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril* 1999; 71:319-22.
- 20-Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary I. Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab* 1961; 22:325-38.
- 21-Kenny SJ, Aubert RE, Geiss LS. Prevalence and incidence of non-insulin-dependent diabetes. In: Harris, et al, eds. *Diabetes in America*, 2nd ed. Washington. DC: US National Institutes of Health. NIH 34, Pub. No. 95:1468.
- 22-Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999; 22:141-146.
- 23-Legro RS, Kumselman 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; 84:165-69.
- 24-Conway GS, Agrawal R, Betteridge DJ, Jacobs HS. Risk factors for coronary artery disease in lean and obese women with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992; 37:119-125.
- 25-Anderson P, Selje Flot I, Abdelnoor M. Increased insulin sensitivity and fibrinolytic capacity after dietary intervention in obese women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1995; 44:611-16.
- 26-Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G, et al. Women with polycystic ovary wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril* 1992; 57:505-13.
- 27-Guziek DS, Talbott EO, Sutton-Tyrrell K, Holly C, Herzog, Lewis H, Kuller, Sidney K, Wolfson Jr, MD et al. Carotid atherosclerosis in women with

- polycystic ovary syndrome: initial results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:1224-29.
- 28-Birdsall MA, Farquhar CM, White HD. Association between polycystic ovaries and extent of coronary artery disease in women having cardiac catheterization. *Ann Intern Med* 1997; 126: 32-35.
- 29-Dahlgren E, Janson PO, Johansson S, Lapidus L, Odén A. Polycystic ovary syndrome and risk for myocardial infarction. Evaluated from a risk factor model based on a prospective population study of women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1992; 71:559-604.
- 30-Verkauf BS, Von Thron J, O'Brien WF. Clitoral size in women. *Obstet Gynecol* 1992; 80:41-44.
- 31-Dunaif A, Graf M, Maodeli J, Laumas V, Dobrjansky A, Characterization of groups of hyperandrogenic women with acanthosis nigricans, impaired glucose intolerance and/or hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65:499-507.
- 32-Conway GS, Honour JW, Jacobs HS, Heterogeneity of the polycystic ovary syndrome: clinical endocrine and ultrasound features in 556 patients. *Clin Endocrinol* 1989; 30:459-70.
- 33-Lobo RA, Kletzky DA, Campeau JD, diZerega GS. Elevated bioactive luteinizing hormone in women with polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1983; 39:674-78.
- 34-McNatty KP, Makris A, De-Grazia C, Osathanondh R, Ryan KJ. The production of progesterone, androgens, and estrogens by granulosa cells. theca tissue and stromal tissue from human ovaries in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49:687-99.
- 35-Wajchenberg BL, Achando SS, Matbor MM, Czeresnia CE, Neto DG, Kirschner MA, The source(s) of estrogen production in hirsute women with polycystic ovarian disease as determined by simultaneous adrenal and ovarian venous catheterization. *Fertil Steril* 1988; 49(1):56-61.
- 36-Venturoli S, Porcu E, Fabbri R, Magrini O, Gammi L, Paradisi R, Forcacci M, Bolzani R, Flamigni C, Episodic pulsatile secretion of FSH, LH, prolactin, oestradiol, oestrone and LH circadian variations in polycystic ovary syndrome, *Clin Endocrinol* 1988; 28(1):93-107.
- 37-Imse V, Holzapfel G, Hinney B, Kuhn W, Wutike W, Comparison of luteinizing hormone pulsatility in the serum of women suffering from polycystic ovarian disease using a bioassay and five different immunoassays, *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1053-61.
- 38-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(7):2343-49.

- 39-Chang RJ, Laufer LR, Meldrum DR, DeFazio J, Lu JK, Vale WW, Rivier JE, Judd HL. Steroid secretion in polycystic ovarian disease after ovarian suppression by a long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56:897-903.
- 40-Biffignandi P, Massucchetti C, Molinetti GM. Female hirsutism: pathophysiological considerations and therapeutic options. *Endocr Rev* 1984; 5:498-513.
- 41-Waldstreicher J, Santoro NF, Hall JE, Filicori M, Crowley Jr WF, 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.
- 42-Schoemaker J, Neuroendocrine control in polycystic ovary-like syndrome, *Gynecol Endocrinol* 1991; 5:277-88.
- 43-Lockwood GM, Muttukrishna S, Groome NP, Matthews DR, Ledger WL, Mid-follicular phase pulses of inhibin B are absent in polycystic ovarian syndrome and are initiated by successful laparoscopic ovarian diathermy: a possible mechanism regulating emergence of the dominant follicle. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1730-35.
- 44-Laven JS, Imani B, Eijkemans MJ, de Jong FH, Fauser BC, Absent biologically relevant associations between serum inhibin concentrations and characteristics of polycystic ovary syndrome normogonadotrophic anovulatory infertility, *Humm Reprod* 2001; 16:1359-64.
- 45-Agarwal SK, Judd HL, Magoffin DA, A mechanism for the suppression of estrogen production in polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3686-91.
- 46-Judd HL, Rigg LA, Anderson OC, Ven SSC, The effect of ovarian wedge resection on circulating gonadotropin and ovarian steroid levels in patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 43:347-55.
- 47-Casper RF, Greenblatt EM, Laparoscopic ovarian cautery for induction of ovulation in women with polycystic ovarian disease, *Seminars Reprod Endocrinol* 1990; 8:208-210.
- 48-Hugbesdon PE, Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called "hyperthecosis", *Obstet Gynecol Survey* 1982; 37:59-77.
- 49-Lobo RA. Hirsutism in polycystic ovary syndrome: current concepts. *Clin Obstet Gynecol* 1991; 34:817-826.
- 50-Hoffman DI, Klove K, Lobo RA. The prevalence and significance of elevated dehydroepiandrosterone sulfate levels in anovulatory women. *Fertil Steril* 1984; 42:76-81.
- 51-Rittmaster RS. Differential suppression of testosterone and estradiol in hirsute women with the superactive gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:651-655.

- 52-Deslypere JP, Verdnoek t, Vermeulen A. Fat tissues: a steroid reservoir and site of steroid metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61:564-570.
- 53-Edman CD, MacDonald PC. Effect of obesity on conversion of plasma androstenedione to estrone in ovulatory and anovulatory young women. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 130:456-461.
- 54-Givens JR, Familial polycystic ovarian disease, *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988; 17:771-83.
- 55-Norman RJ, Masters S, Hague W, Hyperinsulinemia is common in family members of women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1996; 66:942-47.
- 56-Franks S, Gharani N, Waterworth D, Batty S, White D, Williamson R, McCarthy M, The genetic basis of polycystic ovary syndrome, *Hum Reprod* 1997;12:2641-8.
- 57- Watenvorth DM, Bennett ST, Gharani N, McCarthy MI, Hague S, Batty S, Conway GS, White D, Todd JA, Franks S, Williamson R, Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Lancet* 1997; 349:986-90.
- 58- Witchel SF, Lee PA, Suda-Hartmann M, Smith R. Hoffman EP, 17 α -hydroxylase/17,20-lyase dysregulation is not caused by mutations in the coding regions of cyp 17. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1998; 11:133-7.
- 59- Urbanek M, Legro RS, Driscoll DA, Azziz R, Ehrmann DA, Norman RJ, Strauss III JF, Spielman RS, Dunaif A, Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin, *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:8573-78.
- 60-Diamanti-Kandarakis E, Bartzis MI, Bergiele AT, Tsianateli TC, Kouli CR, Microsatellite polymorphism (tttta)(n) at -528 base pairs of gene CYP11 α influences hyperandrogenemia in patients with polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril* 2000; 73:735-41.
- 61-EI Mkadem SA, Lautier C, Macari F, Molinari N, Lefebvre P, Renard E, Gris JC, Cros G, Daures JP, Bringer J, White MF, Grigorescu F, role of allelic variants Gly²Arg of IRS-1 and Gly²Asp of IRS-2 in moderate-to-severe insulin resistance of women with polycystic ovary syndrome, *Diabetes* 2001; 50:2164-68.
- 62-Sir-Petermann T, Perez-Bravo F, Angel B, Maliqueo M, Calvillan M, Palomino A, G²R polymorphism of IRS-1 in women with polycystic ovary syndrome, *Diabetologia* 2001; 44:1200-1201.
- 63-Ehrmann DA, Tang X, Yoshiuchi I, Cox NJ, Bell GI, Relationship of insulin receptor substrate-1 and -2 genotypes to phenotypic features of polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4287-96.
- 64-Archard C, Thiers J, Le virilisme pileux et son association à l'insuffisance glycolytique (diabète des femmes à barbe), *Bull Acad Natl Med* 1921; 86:51-64.

- 65-Reavens GM, Role of insulin resistance in human disease, *Diabetes* 1988; 37:1595-1607.
- 66-World Health Organization (WHO), Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO Consultation, *WHO*, 1999.
- 67-Ford ES, Giles WH, Dietz WH, Prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, *JAMA* 2002; 287:356-9.
- 68-Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M, Tvomi T, Karanko S, Nissen M, Ehrnstrom BO, Forsen B, Isomaa B, Snickars B, Taskinen MR, Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia Study): evidence for sex-specific parental effects, *Diabetes* 1996; 45:1585-93.
- 69-Poretsky L, On the paradox of insulin-induced hyperandrogenism in insulin resistant states, *Endocr Rev* 1991; 12:3-13.
- 70-O'Meara NM, Blackman JD, Ehrman DA, Barnes RB, Jaspan JB, Rosenfeld RL, Polonsky KS, Defects in beta-cell function in functional ovarian hyperandrogenism, *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76:1241-47.
- 71-Reaven GM, Lithell H, Landsberg L, Hypertension and associated metabolic abnormalities - the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system, *New Engl J Med* 1996; 334:374-82.
- 72-Facchini FS, Hua N, Abbasi F, Reaven GM, Insulin resistance as a predictor of age-related diseases, *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:3574-78.
- 73-Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PH, Stern MP, Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X), *Diabetes* 1992; 41:715-22.
- 74-Zimmerman S, Phillips RA, Wikenfeld C, Dunaif A, Finegood D, Ardeljan M, Wallenstein S, Gorlin R, Krakoff L, Polycystic ovary syndrome: lack of hypertension despite insulin resistance, *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:508-513.
- 75-Sampson M, Kong C, Patel A, Unwin R, Jacobs H, Ambulatory blood pressure profiles and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity in lean women with and without polycystic ovary syndrome, *Clin Endocrinol* 1996; 45:623-29.
- 76-Schneider D, Sobel B, Synergistic augmentation of expression of PAI-1 induced by insulin, VLDL, and fatty acids, *Coronary Artery Dis* 1996; 7:813-17.
- 77-Dunaif A. insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: Mechanism and implication for pathogenesis. *Endocrine Reviews* 1997;18:774-800.
- 78-Talbot JA, Bricknell EJ, Rajkhowa M, Droom A, O'Rahilly S, Clayton RN, Molecular scanning of the insulin receptor gene in women with polycystic ovarian syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:1979-83.

- 79- Sorbara LR, Tang Z, Cama Z, Xia J, Sehenker E, Kohansi RA, Poretsky L, Koller E, Taylor Si, Dunaif A, Absence of insulin receptor gene mutations in three women with the polycystic ovary syndrome, *Metabolism* 1994; 43:1568-74.
- 80- Dunaif A, Xia J, Book C-B, 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.
- 81- 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, *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4088-93.
- 82- Peiris AN, Sothmann MS, Aiman EJ, Kissebah AH, The relationship of insulin to sex hormone binding globulin: role of adiposity, *Fertil Steril* 1989; 52:69-73.
- 83- Kirschner MA, Samojlik E, Drejda M, Szmaj E, Sebneider G, Ertel N, Androgen-estrogen metabolism in women with upper body versus lower body obesity, *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:473-79.
- 84- Pasquali R, Casimirri F, Balestra V, Flaminia R, Melchionda N, Fahrenri R, Barbara L, The relative contribution of androgens and insulin in determining abdominal fat distribution in premenopausal women, *J Endocrinol Invest* 1991; 14:839-44.
- 85- Deutsch MI, Mueller WH, Malina RM, Androgyny in fat patterning is associated with obesity in adolescents and young adults, *Ann Hum Biol* 1985; 12:275-86.
- 86- Must A, Jacques PF, Dallal GE, Bajema CJ, Dietz WH, Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents: a follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935, *New Engl J Med* 1992; 327:1350-55.
- 87- Morales AJ, Laughlin GA, Bützow T, Maheshwari H, Baumann G, Yen SSC, Insulin, somatotrophic, and luteinizing hormone axes in lean and obese women with polycystic ovary syndrome: common and distinct features, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:2854-64.
- 88- Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA, Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease, *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57:356-9.
- 89- Jialal I, Naiker P, Reddi K, Moodley J, Joubert SM, Evidence for insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease, *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:1066-9.
- 90- Dunaif A, Segal K, Futterweit W, Dobrjansky A, Profound peripheral insulin resistance independent of obesity in polystic ovary syndrome, *Diabetes* 1989; 38:1165-74.

- 91- Buyalos RP, Geffner ME, Bersch N, Judd HL, Watanabe RM, Bergman RN, Golde DW, Insulin and insulin-like growth factor-I responsiveness in polycystic ovarian syndrome, *Fertil Steril* 1992; :57:796-803.
- 92- Toprak S, Yonem A, Cakir B, Guler S, Azal O, Ozata M, Corakci A, Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovary syndrome, *Horm Res* 2001; 55:65-70.
- 93- Anttila L, Ding Y-Q, Ruutiainen K, Erkkola R, Irjala K, Huhtaniemi I, Clinical features and circulating gonadotropin, insulin, and androgen interactions in women with polycystic ovarian disease, *Fertil Steril* 1991; 55:1057-61.
- 94- Insler V, Shoham Z, Barash A, Koistinen R, Seppala M, Hen M, Lunenfeld B, Zadik Z, Polycystic ovaries in non-obese and obese patients: possible pathophysiological mechanism based on new interpretation of facts and findings, *Hum Reprod* 1993; 8:379-84.
- 95- Campbell PJ, Gerich JE, Impact of obesity on insulin action in volunteers with normal glucose tolerance: demonstration of a threshold for the adverse effect of obesity, *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:1114-18.
- 96- Jahanfar S, Eden JA, Warren P, Seppala M, Nguyen TV, A twin study of polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril* 1995; 63:478-86.
- 97- Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D, Vicennati V, Gagliardi L, Colitta D, Fiorini S, Cognigni GE, Filicori M, Morselli-Labate AM, Effect of longterm 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, *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2767-74.
- 98- Cresswell J, Fraser R, Bruce C, Egger P, Phillips D, Barker DJ, Relationship between polycystic ovaries, body mass index and insulin resistance, *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82:61-64.
- 99- Elkind-Hirsch KE, Valdes CT, McConnell TG, Malinak LR, Androgen responses to actually increased endogenous insulin levels in hyperandrogenic and normal cycling women, *Fertil Steril* 199; :55:486-91.
- 100- Smith S, Ravnkar VA, Barbieri RL, Androgen and insulin response to an oral glucose challenge in hyperandrogenic women, *Fertil Steril* 1987; 48:72-77.
- 101- Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Seppala M, Koistinen R, James VHT, Reed MJ, Franks S, Diet-induced changes in sex hormone binding globulin and free testosterone in women with normal or polycystic ovaries: correlation with serum insulin and insulin-like growth factor-1, *Clin Endocrinol* 1989; 31:757-63.
- 102- Barbieri RL, Makris A, Ryan KJ, Insulin stimulates androgen accumulation in incubations of human ovarian stroma and theca, *Obstet Gynecol* 1984; 64:73-80.

- 103- Barbieri RL, Makris A, Randall RW, Daniels G, Kistner RW, Ryan KJ, Insulin stimulates androgen accumulation in incubations of ovarian stroma obtained from women with hyperandrogenism, *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:904-910.
- 104- Nestler JC, Barlascini CO, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Clore JN, Blackard WG, Suppression of serum insulin by diazoxide reduces serum testosterone levels in obese women with polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68:1027-32.
- 105- Ehrmann DA, Cavaghan MK, Imperial J, Sturis J, Rosenfield RL, Polonsky KS, Effects of metformin on insulin secretion, insulin action, and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:524-30.
- 106- Dunaif A, Green G, Futterweit W, Dobrjansky A, Suppression of hyperandrogenism does not improve peripheral or hepatic insulin resistance in the polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:699-704.
- 107- Dale PO, Tanbo T, Djoseland O, Jervell J, Abyholm T, Persistence of hyperinsulinemia in polycystic ovary syndrome after ovarian suppression by gonadotropin-releasing hormone agonist, *Acta Endocrinol* 1992; 126:132-136.
- 108- Lemieux S, Lewis GF, Ben-Chetrit A, Steiner G, Greenblatt EM, Correction of hyperandrogenemia by laparoscopic ovarian cauterization in women with polycystic ovarian syndrome is not accompanied by improved insulin sensitivity or lipid-lipoprotein levels, *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:4278-82.
- 109- Elkind-Hirsch KE, Valdes CT, Malinak LR, Insulin resistance improves in hyperandrogenic women treated with Lupron, *Fertil Steril* 1993; 60(4):634-41.
- 110- Moghetti P, Tosi F, Castello R, Magnani CM, Negri C, Bruni E, Furiani L, Caputo M, Muggeo M, The insulin resistance in women with hyperandrogenism is partially reversed by antiandrogen treatment: evidence that androgens impair insulin action in women, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:952-60.
- 111- Voutilainen R, Franks S, Mason HD, Martikainen H, Expression of insulin-like growth factor (IGF), IGF-binding protein, and IGF receptor messenger ribonucleic acids in normal and polycystic ovaries, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:1003-1008.
- 112- Nestler JE, Role of hyperinsulinemia in the pathogenesis of the polycystic ovary syndrome, and its clinical implications, *Seminars Reprod Endocrinol* 1997;15:111-122.
- 113- Willis D, Franks S, Insulin action in human granulosa cells from normal and polycystic ovaries is mediated by the insulin receptor and not the

- type-1 insulin-like growth factor receptor, *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:3788-90.
- 114- Willis D, Mason H, Gilling-Smith C, Franks S, Modulation by insulin of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone actions in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:302-9.
- 115- Nestler JE, Jakubowicz DJ, de Vargas AF, Brik C, Quintero N, Medina F, Insulin stimulates testosterone biosynthesis by human thecal cells from women with polycystic ovary syndrome by activating its own receptor and using inositolglycan mediators as the signal transduction system, *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2001-5.
- 116- Nestler JE, Powers LP, Matt DW, Steingold KA, Plymate SR, Rittmaster RS, Clore JN, Blackard WG, A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72:83-89.
- 117- Plymate SR, Matej LA, Jones RE, Friedl KE, Inhibition of sex hormone binding globulin production in human hepatoma (hep G2) cell line by insulin and prolactin, *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:460-64.
- 118- Singh A, Hamilton-Fairley D, Koistinen R, Seppala M, James VHT, Franks S, Reed MJ, Effect of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and insulin on the secretion of sex hormone-binding globulin and IGF-binding protein (IGFBP-1) by human hepatoma cells, *J Endocrinol* 1990; 124:1-3.
- 119- Haffner SM, Valdez RA, Morales PA, Hazuda HP, Stern MP, Decreased sex hormone-binding globulin predicts noninsulin-dependent diabetes mellitus in women but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:56-60.
- 120- Jayagopal V, Kilpatrick ES, Jennings PE, Hepburn DA, Atkin SL, The biological variation of testosterone and sex hormone-binding globulin (SHBG) in polycystic ovarian syndrome: implications for SHBG as a surrogate marker of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:1528-33.
- 121- Conover CA, Lee PDK, Kanaley JA, Clarkson JT, Jensen MD, Insulin regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 in obese and nonobese humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74:1355-60.
- 122- Buyalos RP, Pekonen F, Halme JK, Judd HL, Rutanen EM, The relationship between circulating androgens, obesity, and hyperinsulinemia in serum insulin-like growth factor binding protein-1 in the polycystic ovary syndrome, *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:932-39.
- 123- Cataldo NA, Giudice LC, Follicular fluid insulin-like growth factor binding protein profiles in polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74:695-97.

- 124- San Roman GA, Magoffin DA, Insulin-like growth factor binding proteins in ovarian follicles from women with polycystic ovarian disease: cellular source and levels in follicular fluid, *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:1010-16.
- 125- Weerakiet S, Srisombut C, Bunnag P, Sangtong S, Chuangsoongnoen N, Rojanasakul A. Prevalence of type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Asian women with polycystic ovary syndrome. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 75:177-84.
- 126- 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; 88:2031-6.
- 127- Legro RS. Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev* 2003; 24:302-12.
- 128- Kelly CJ, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Rumley A, Lowe GD, Sattar N. A specific elevation in tissue plasminogen activator antigen in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3287-90.
- 129- Yildiz BO, Haznedaroglu IC, Kirazli S, Bayraktar M. Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3871-75.
- 130- Orio F Jr, Palomba S, Cascella T, Tauchmanová L, Nardo LG, Di Biase S, Labella D, Russo T, Savastano S, Tolino A, Zullo F, Colao A, Lombardi G. Is plasminogen activator inhibitor-1 a cardiovascular risk factor in young women with polycystic ovary syndrome? *Reprod Biomed Online* 2004; 9:505-10.
- 131- Hardiman P, Pillay OC, Atiomo W. Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma. *Lancet* 2003; 361:1810-12.
- 132- Pierpoint T, McKeigue PM, Isaacs AJ, Wild SH, Jacobs HS. Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up. *J Clin Epidemiol* 1998; 51:581-86.
- 133- James RG, Krakower GR, Kissebah AH. Influence of androgenicity on adipocyte and precursor cells in female rats. *Obes Res* 1996;4:463-70.
- 134- Krakower GR, Meier DA, Kissebah AH. Female sex hormones, perinatal and peripubertal androgenisation on hepatocyte insulin dynamic in rats. *Am J Physiol* 1993; 264:342-347.
- 135- Ek I, Arner P, Ryden M, Holm C, Thörne A, Hoffstedt J, Wahrenberg H. A unique defect in the regulation of visceral fat cell lipolysis in the polycystic ovary syndrome as an early link to insulin resistance. *Diabetes* 2002; 51:484-492.
- 136- Dunaif A, Segal KR, Shelley DR, Green G, Dobrjansky A, Licholai T. Evidence for distinctive and intrinsic defect in insulin action in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1992; 41:1257-1266.

- 137- Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG: Molecular mechanism of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *TRENDS in Molecular Medicine* 2006; 12:324-332.
- 138- Ciaraldi TP, El-Roeiy A, Madar Z, Reichart D, Olevsky JM, Yen SS. Cellular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:557-83.
- 139- Ciaraldi TP, Morales AJ, Hickman MG, Odom-Ford R, Olefsky JM, Yen SS. Cellular insulin resistance in adipocyte from obese polycystic ovary syndrome subjects involves adenosine modulation of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1421-25.
- 140- Venkatesan AM, Dunaif A and Corbould A. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: Progress and paradoxes. *Recent Prog Horm Res* 2001; 56:295-308.
- 141- Rosenbaum D, Haber RS, Dunaif A. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: decreased expression of GLUT-4 glucose transporters in adipocytes. *Am J Physiol* 1993; 264:197-202.
- 142- Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RL, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin invest* 1995; 95:2111-2119.
- 143- Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:447-452.
- 144- Puder JJ, Varga S, Kraenzelin M, De Geyter C, Keller U, Müller B. Central fat excess in polycystic ovary syndrome: relation to low grade inflammation and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:6014-6021.
- 145- Mohlig M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schlösser HW, Brabant G, Schöfl C. The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased chronic inflammation. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:525-532.
- 146- Gonzalez F, Minium J, Rote SN, Kirwan RP. Hyperglycemia alters TNF- α release from mononuclear cells in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:5336-5342.
- 147- Fernandez-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev* 2003; 24:278-301.
- 148- Vgontzas AN, Trakada G, Bixler EO, Lin HM, Pejovic S, Zoumakis E, Chrousos GP, Legro RS. Plasma IL-6 levels are elevated in polycystic ovary syndrome independently of obesity and sleep apnea. *Metabolism* 2006; 55:1076-1082.
- 149- Koerner A, Kratzch J, Kiess W. Adipocytokines: Leptin-the classical, resistin-the controversial, adiponectin-the promising, and more to come.

- Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005; 19:525-546.
- 150- Seow KM, Juan CC, Wu LY, Hsu YP, Yang WM, Tsai YL, Hwang JL, Ho LT. Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2004; 19:48-53.
- 151- Panidis D, Koliakos G, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouselch T, Rousso D. Serum resistin levels with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81:361-66.
- 152- Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 1994; 14:1431-37.
- 153- Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visfatin: A protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005; 307:426-30.
- 154- Sethi JK, Vidal-Puig A. Visfatin: The missing link between intrabdominal obesity and diabetes? *TREND in Molecular Medicine* 2005; 11:344-47.
- 155- Lopez-Bermejo A, Chico-Julia B, Fernandez-Balsells M, Recasens M, Esteve E, Casamitjana R, Ricart W, Fernández-Real JM. Serum visfatin increases with progressive β -cell deterioration. *Diabetes* 2006; 55:2871-75.
- 156- Tan BK, Chen J, Digby JE, Keay SD, Kennedy CR, Randeve HS. Increased visfatin mRNA and protein levels in adipose tissue and adipocyte in women with polycystic ovary syndrome: Parellel increase in plasma visfatin. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:5022-28.
- 157- Kowalska I, Strackowski M, Nikolajuk A, Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Otziomek E, Wolczynski S, Gorska M. Serum visfatin in relation to insulin resistance and markers of hyperandrogenism in lean and obese women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* 2007; 22:1824-29.
- 158- Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: More than just another fat cell hormone? *Diabetes Care* 2003; 26:803-12.
- 159- Lafontan M, Vigurie N. Role of adipokines in the control of energy metabolism: Focus on adiponectin. *Current Opinion in Pharmacology* 2006; 6:1-6.
- 160- Orio F, Palomba S, Cascella T, Milan G, Mioni R, Pagano C, Zullo F, Colao A, Lombardi G, Vettor R. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2619-23.
- 161- Carmina E, Orio F, Palombo S, Longo RA, Cascella T, Colao A, Lombardi G, Rini GB, Lobo RA. Endotelial dysfunction in PCOS: Role of

- obesity and adipose hormones. *The American Journal of Medicine* 2006; 119:356.1-6.
- 162- Ricardo L, João F, Adelino F. The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. *Arq Bras Cardiol.* 2008; 90(5):343-49.
- 163- Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998; 251:471–76.
- 164- Beltowski J: Apelin and visfatin: Unique “beneficial” adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit* 2006,Jun,01;12(6):RA112-19.
- 165- O’Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, Shi X, Petronis A, George SR, Nguyen T. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 1993; 136:355–60.
- 166- Kleinz MJ, Davenport AP: Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells. *Regul Pept*, 2004; 118:119–25.
- 167- Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, Hinuma S, Kitada C, Nishizawa N, Murosaki S, Kurokawa T, Onda H, Tatemoto K, Fujino M. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta*, 1999; 1452:25–35.
- 168- Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, Osmond DH, George SR, O’Dowd BF. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*, 2000; 74: 34-41.
- 169- Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, Fujimiya M. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*, 2001; 99:87–92.
- 170- Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, Nishizawa N, Kitada C, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim Biophys Acta*, 2001; 1538:162–71.
- 171- Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, Kitada C, Honda S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem*, 2000; 275:21061–67.
- 172- Sykes PA, Watson SJ, Temple JS, Bateman RC: Evidence for tissue-specific forms of glutaminyl cyclase. *FEBS Lett*, 1999; 455:159–61.

- 173- Schilling S, Niestroj AJ, Rahfeld JU, Hoffmann T, Wermann M, Zunkel K, Wasternack C, Demuth HU. Identification of human glutaminyl cyclase as a metalloenzyme. Potent inhibition by imidazole derivatives and heterocyclic chelators. *J Biol Chem*, 2003; 278:49773–79.
- 174- De Mota N, Reaux-Le Goazigo A, El Messari S, Chartrel N, Roesch D, Dujardin C, Kordon C, Vaudry H, Moos F, Llorens-Cortes C. Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101:10464–69.
- 175- Burrell LM, Johnston CI, Tikellis C, Cooper ME: ACE2, a new regulator of the renin-angiotensin system. *Trends Endocrinol Metab*, 2004; 15: 166–69.
- 176- Matsumoto M, Hidaka K, Akiho H, Tada S, Okada M, Yamaguchi T. Low stringency hybridization study of the dopamine D4 receptor revealed D4-like mRNA distribution of the orphan seven-transmembrane receptor, APJ, in human brain. *Neurosci Lett*, 1996; 219:119–22.
- 177- Kleinz MJ, Skepper JN, Davenport AP: Immunocytochemical localisation of the apelin receptor, APJ, to human cardiomyocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Regul Pept*, 2005; 126:233–40.
- 178- Choe H, Farzan M, Konkel M, Martin K, Sun Y, Marcon L, Cayabyab M, Berman M, Dorf ME, Gerard N, Gerard C, Sodroski J. The orphan seven-transmembrane receptor apj supports the entry of primary T-cell-line-tropic and dualtropic human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, 1998; 72:6113–18.
- 179- O'Carroll AM, Selby TL, Palkovits M, Lolait SJ: Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta*, 2000; 1492: 72–80.
- 180- Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, Corvol P, Palkovits M, Llorens-Cortès C. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J Neurochem*, 2001; 77:1085–96.
- 181- Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillon W, Dakin C, Sajedi A, Ghatei M, Bloom S. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002; 291:1208–12.
- 182- Reaux-Le Goazigo A, Morinville A, Bulet A, Llorens-Cortes C, Beudet A. Dehydration-induced cross-regulation of apelin and vasopressin immunoreactivity levels in magnocellular hypothalamic neurons. *Endocrinology*, 2004; 145:4392–400.

- 183- Cheng X, Cheng XS, Pang CC: Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 470:171-75.
- 184- Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, Nishiwaki S, Iguchi T, Harada S, Sugaya T, Matsuzaki H, Yamamoto R, Shiota N, Okunishi H, Kihara M, Umemura S, Sugiyama F, Yagami K, Kasuya Y, Mochizuki N, Fukamizu A. Regulatory roles for APJ, a seven transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo *J Biol Chem* 2004; 279: 26274-79.
- 185- Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, Davenport AP: [125I]-(Pyr1)Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol*, 2001; 132: 1255-60.
- 186- Kagiya S, Fukuhara M, Matsumura K, Lin Y, Fujii K, Lida M. Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regul Pept*, 2005; 125:55-59.
- 187- Kasai A, Shintani N, Oda M, Kakuda M, Hashimoto H, Matsuda T, Hinuma S, Baba A. Apelin is a novel angiogenic factor in retinal endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004; 325:395-400.
- 188- Masri B, Morin N, Cornu M, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin (65-77) activates p70 S6 kinase and is mitogenic for umbilical endothelial cells. *FASEB J*, 2004; 18:1909-11.
- 189- Szokodi I, Tavi P, Foldes G, Voutilainen-Myllylä S, Ilves M, Tokola H, Pikkarainen S, Piuholta J, Rysä J, Tóth M, Ruskoaho H. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*, 2002; 91:434-40.
- 190- Ashley EA, Powers J, Chen M, Kundu R, Finsterbach T, Caffarelli A, Deng A, Eichhorn J, Mahajan R, Agrawal R, Greve J, Robbins R, Patterson JA, Bernstein D, Quertermous T. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res*, 2005; 65:73-82.
- 191- Sunter D, Hewson AK, Dickson SL: Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neurosci Lett*, 2003; 353:1-4.
- 192- Jaszberenyi M, Bujdoso E, Telegdy G: Behavioral, neuroendocrine and thermoregulatory actions of apelin-13. *Neuroscience*, 2004; 129:811-16.
- 193- 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.
- 194- Daviaud D, Boucher J, Gesta S, Dray C, Guigne C, Quilliot D, Ayav A, Ziegler O, Carpenne C, Saulnier-Blache JS, Valet P, Castan-Laurell I. TNF α up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue. *Faseb J*. 2006; 20 (9):1528-30.

- 195- 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 (6):2690-97.
- 196- Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005; 288:2031–41.
- 197- Scarpitta AM, Sinagra D. Polycystic ovary syndrome: an endocrine and metabolic disease. *Gynecol Endocrinol*. 2000; 14;(5):392-5.
- 198- Slowey MJ. Polycystic ovary syndrome: new perspective on an old problem. *South Med J* 2001; 94(2):190-96.
- 199- Salehi M, Vera Bravo R, Sheikh A, Gouller A, Poretsky L. Pathogenesis of polycystic ovary syndrome: What is the role of obesity? *Metabolism* 2004; 53: 358-71.
- 200- Avi Ben-Haroush, Yariv Y, Benjamin F. Insulin resistance and metformin in polycystic ovary syndrome. *Eur J of Obstet Gynecol and Reprod Biology* 2004; 115: 125-33.
- 201- Yen and Jaffe's. Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management. Edited by Jerome F. Strauss, Robert L. Barbieri, 5th ed. 2004; 19: 623.
- 202- Herbert CM, Hill GA, Diamond MP. The use of the intravenous glucose tolerance test to evaluate nonobese hyperandrogenemic women. *Fertil Steril* 1990; 53: 647-53.
- 203- Dale PO, Tanbo T, Vaaler S, Abyholm T. Body weight, hyperinsulinemia, and gonadotropin levels in the polycystic ovary syndrome: Evidence of two distinct population. *Fertil Steril* 1992; 58:487-91.
- 204- Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23: 57-63.
- 205- De Ugarte MC, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril* 2004; 83:1454-59.
- 206- Carmina E, Lobo RA. Use of fasting blood to assess the prevalence of insulin resistance in women polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 82: 661-65.
- 207- Dejager S, Pichard C, Giral P, Bruckert E, et al. Smaller LDL particle size in women with polycystic ovary syndrome compared to controls. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 54: 455-62.
- 208- 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.
- 209- Rajkhowa M, Neary RH, Kumpatla P, Game FL, Jones PW, Obhrai MS, Clayton RN. Altered composition of high density lipoproteins in women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:3389-94.
- 210- Legro RS. Diabetes prevalence and risk factors in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2001; 28: 99-109.
- 211- Gonzalez F, Thusu K, Rahman EH, Prabhala A, Tomani M, Dandona P. Elevated serum levels of tumor necrosis factor α in normal weight women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1999; 48:437-41.
- 212- Sayin N, Gücer F, Balkanli-Kaplan P, Yüce MA, Ciftci S, Küçük M, Yardim T. Elevated serum TNF- α levels in normal weight women with polycystic ovaries or the polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med* 2003; 48:165-70.
- 213- Spranger J, Möhlig M, Wegewitz U, Ristow M, Pfeiffer AFH, Schill T, Schlösser HW, Brabant G, Schöfl C. Adiponectin is independently associated with insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology* 2004; 61: 738-46.
- 214- Graham TE, Yang Q, Blüher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, Wason CJ, Oberbach A, Jansson PA, Smith U, Kahn BB. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006; 354:2552-63.
- 215- Weiping L, Qingfeng C, Shikun M, Xiurong L, Hua Q, Xiaoshu B, Suhua Z, Qifu L. Elevated serum RBP4 is associated with insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2006; 30:283-87.
- 216- Hahn S, Backhaus M, Broecker-Preuss M, Tan S, Dietz T, Kimmig R, Schmidt M, Mann K, Janssen OE. Retinol-binding protein 4 levels are elevated in polycystic ovary syndrome women with obesity and impaired glucose metabolism. *Eur J Endocrinol* 2007; 157:201-207.