T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA ENDOTEL PROGENİTÖR HÜCRE

Yan Dal Uzmanlık Tezi

Uz. Dr. Özge ÜÇÜNCÜ

TRABZON–2013

T.C.

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI BİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA ENDOTEL PROGENİTÖR HÜCRE

THE ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Yan Dal Uzmanlık Tezi

Uz. Dr. Özge Üçüncü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Halil Önder Ersöz

TRABZON–2013

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Polikistik over sendromu (PKOS) üreme çağındaki kadınlarda sık görülen endokrinolojik bir patolojidir. Anovulasyon, hiperandrojenemi ve insülin direnci ile karakterizedir. Diğer etiyolojik faktörler dışlandıktan sonra oligo/anovulasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenemi ve polikistik over kriterlerinden ikisinin bulunması tanı için yeterlidir (1).

Son zamanlarda PKOS'nun patogenezinde hiperinsülineminin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. İnsülin direnci PKOS'lu hastaların %50-60'ında görülmektedir (1). PKOS'lu hastalarda insülin direnci yanı sıra dislipidemi, bozulmuş glukoz toleransı, tip 2 diyabetes mellitus (DM) ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin görülme insidansı artmıştır. Bu nedenle son zamanlarda yapılan çalışmalarda kardiyovasküler hastalıkların prevalansının arttığı gösterilmiştir (2).

İlk kez 1997 yılında Asahara ve arkadaşları tarafından, periferik kanda kemik iliği kaynaklı endotel progenitör hücre (EPH)'lerin varlığı tanımlanmıştır (3). EPH'ler hasarlı damarın reendotelizasyonuna ve iskemik dokunun neovaskülarizasyonuna katkıda bulunmaktadırlar. Bu nedenle kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (4). EPH'lerin kemik iliğinden mobilizasyonu çeşitli büyüme faktörleri, enzimler, ligandlar ve yüzey reseptörleri ile düzenlenir. MMP-9 aktivasyonu bu sürecin erken basamağını oluşturur. EPH'lerin kemik iliğinden mobilizasyonunda pek çok endojen faktör etkili olmakla birlikte vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve stromal hücre kaynaklı faktör (SDF)-1 en önemlisi olarak gözükmektedir. Vasküler hasar ve doku iskemisi VEGF ve SDF-1 üretimine neden olarak kemik iliğinden EPH'lerin mobilizasyonunu uyarmaktadırlar (5).

Yapılan çalışmalarda tip 1 ve tip 2 DM'lu hastalarda EPH sayısının azaldığı ve hiperglisemik durumun EPH sayı ve fonksiyonunu olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Kötü glisemik kontrollü tip 2 DM'li hastalarda EPH sayısının kontrol grubuna göre azaldığı ve hemoglobin A1C (Hb A1C) ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Glisemik kontrolün iyileşmesiyle EPH sayısının arttığı gösterilmiştir. Tip 1 DM'li hastalardan izole edilen EPH'lerin anjiogenik kapasitelerinin azaldığı; tip 2 DM'li hastalardan izole edilen EPH'lerin ise adezyon, proliferasyon ve migrasyon kapasitesinde azalma olduğu gösterilmiştir. Glukoz toksisitesinin EPH apopitozunu artırdığı ispat edilmiştir (6).

Vasa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise koroner arter hastalıklı bireylerde EPH sayısının azaldığı ve migrasyon yeteneğinin bozulduğu gösterilmiştir (7). Bir diğer çalışmada metabolik sendromlu obez erkeklerde EPH sayısının azaldığı gösterilmiştir (8).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar EPH'ler ile insülin direnci arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. İnsülin direnci endotelyal hasar ve tamir süreçleri arasındaki dengeyi bozarak ateroskleroza zemin hazırlar. İnsülin direncinde görülen bazı biyokimyasal anormallikler EPH'lerin kemik iliğinden mobilizasyonunu önleyerek dolaşan EPH sayısını azaltır, endotelyal adezyon, integrasyon ve proliferasyon kapasitesinin azalmasına neden olur. İnsülin direnci, EPH aracılı endotelyal rejenerasyonu bozarak ateroskleroza eğilim oluşturur ve kardiyovasküler hastalıklar için bir risk oluşturur (5).

İnsülin direncinin eşlik ettiği tip 2 DM'lu hastalarda, metabolik sendromda ve obez bireylerde EPH sayı ve fonksiyonunda değişikliklerin gözlendiği pek çok çalışma mevcuttur. PKOS'unda EPH'lerin değerlendirildiği birkaç çalışma mevcuttur (9-12). Ancak PKOS'lu hastalarda EPH'lerin adezyon molekülleri, VEGF ve MMP-9 ile ilişkisinin incelendiği deneysel ya da klinik bir çalışma tıbbi literatürde mevcut değildir.

Bu çalışma ile tüm dünyada yaygın olarak görülen bir endokrinolojik patoloji olan ve insülin direnci başta olmak üzere pek çok kardiyovasküler risk faktörünü barındıran PKOS'lu hastalarda EPH'yi değerlendirmek; insülin direnci, obezite dislipidemi ve inflamasyon gibi diğer kardiyovasküler risk faktörleri ile EPH arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik Over Sendromu

Polikistik over sendromu ilk kez 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından yedi vakadan oluşan bir seride amenore, hirsutizm ve obezite ile birlikte bilateral polikistik overlerin varlığı ile tanımlanmıştır (1).

PKOS genellikle menstrüel düzensizlikler (oligo-amenore), hiperandrojenizm bulguları (hirsutizm, akne, ciltte yağlanma, androjenik alopesi) ve infertilite ile karşımıza çıkmaktadır (1).

Reproduktif dönemdeki kadınlarda infertilite, düzensiz uterin kanamalar ve gebelik kayıpları gibi önemli morbiditelere neden olabilmektedir. Aynı zamanda artmış metabolik ve kardiyovasküler riskle de ilişkilidir (13).

2.1.1. Etiyoloji ve Prevalans

PKOS reproduktif çağdaki kadınların % 5-10'unda görülmektedir. Bu dönemde görülen en sık endokrinolojik patolojidir (13).

Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkan kompleks bir bozukluktur. PKOS'lu hastalarda kronik anovulasyon ve hiperandrojenemi aile öyküsünün pozitif olma sıklığının artmış olması nedeniyle etyolojide genetik faktörlerin de önemli rol oynadığı düşünülmektedir (13).

2.1.2. Patogenez

PKOS'un patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır, ancak genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. PKOS'un fizyopatolojisinde gonadotropin dinamiğinde değişiklikler, steroidogenez defektleri, insülin salınım ve etki bozuklukları beraberinde genetik faktörler ön plana çıkmaktadır (14).

2.1.2.1. Gonadotropin Sekresyon Defektleri

PKOS'ta hipotalamus-hipofizer-over aksının fonksiyonunda bozukluklar tanımlanmıştır. Luteinize edici hormon (LH) pulslarının frekansı, amplitüdü ve ortalama serum LH konsantrasyonu artmıştır. Bu değişikliklere gonodotropin releasing hormon (GnRH) pulse sıklığının artışı, GnRH'ya hipofizer yanıtın artışı ve yüksek östrojen düzeylerinin neden olduğu düşünülmektedir (13,14).

PKOS'lu hastalarda LH'nın aksine FSH sekresyonu erken foliküler fazda belirgin olarak düşük tespit edilmiştir. Düşük FSH düzeyinin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte kronik karşılanmamış östrojenin negatif feed-back etkisi ile, artmış GnRH pulsalitesinin LHβ gen ekspresyonunu FSHβ gen ekspresyonundan daha fazla artırması patogenezde sorumlu olduğu düşünülen mekanizmalardır (14).

2.1.2.2. Steroidogenez Değişiklikleri

PKOS'da over ve adrenal bez steroidogenezinde pek çok değişiklik bulunmuştur. Anovulasyonlu kadınlarda LH uyarısına bağlı olarak östrojen ve androjenlerin üretimi artmıştır (13). Dolaşımdaki testosteron, androstenedion, dehidroepiandrosteron (DHEA), dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS), 17-hidroksiprogesteron ve östrojen seviyeleri artmıştır (13).

2.1.2.3. İnsülin Etki ve Salınım Bozuklukları

PKOS'lu kadınların % 50-60'ında insülin direnci görülmektedir (1). İnsülin direnci zayıf ve obez kadınlarda görülebilmekle birlikte daha ağır derecelerde insülin direnci ve glukoz tolerans bozukluğu obez kadınlarda daha sık olarak görülmektedir (13). Son zamanlarda insülin direnci ve hiperinsülineminin PKOS patogenezinde major rol oynadığı düşünülmektedir (1).

İnsülin etki anormalliklerinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte periferik hedef dokuda direnç, hepatik yıkımın azalması, pankreasta duyarlılığın artması, hepatik glukoneogenezde baskılanmanın bozulması ve insülin reseptör sinyalizasyonunda anormallikler olduğu düşünülmektedir (15).

2.1.2.4. Genetik Faktörler

PKOS'lu kadınların anne ve kızkardeşlerinde hiperandrojenizm ve menstrüel disfonksiyon artmış sıklıkta bulunmaktadır. Ayrıca tüm birinci derece yakınlarda insülin direnci ve değişik derecelerde glukoz hemostaz bozukluklarının görülme riski artmıştır (13).

PKOS gelişiminde rol oynayabilecek olası genetik bozuklukların incelendiği çalışmalar sonucunda sendromun poligenik bir bozukluk olduğu sonucuna varılmıştır (13).

2.1.2.5. İnflamasyon

Yapılan çalışmalar PKOS'da düşük derecede kronik bir inflamasyonun olduğunu göstermiştir (16,17). PKOS'da artmış CRP, sitokinler ve lökosit sayısı inflamasyonun belirleyicisi olarak gösterilmiştir.

Düşük dereceli kronik inflamasyonun hiperandrojenizm patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmektedir (14). Çalışmaların birinde tümör nekroz faktör (TNF)- α'nın in vitro ortamda teka hücrelerinin çoğalmasını ve steroidogenezi uyardığı ve insülin ve insülin benzeri büyüme faktörünün etkisini artırdığı gösterilmiştir (18).

Ratlarda yapılan başka bir çalışmada ise TNF- α'nın anovulasyona ve insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesini azaltarak insülin direnci gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir (19). IL-6 ile in vitro ortamda yapılan bir çalışmada bu molekülün insan adrenal hücrelerini uyararak adrenal steroidogenezi ve adrenal androjen üretimini artırabildiği gösterilmiştir (20).

2.1.3. Klinik

PKOS genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstrüel düzensizlikler (oligo-amenore, disfonksiyonel uterus kanaması), hiperandrojenizm bulguları (akne, hirşutizm, ciltte yağlanma, androjenik alopesi) ve infertilite ile karşımıza çıkmaktadır (1,14). Ancak vakaların %20'sinde adetlerin düzenli olabileceği bildirilmiştir. PKOS belirti ve bulguları tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Polikistik Over Sendromu Belirti ve Bulguları

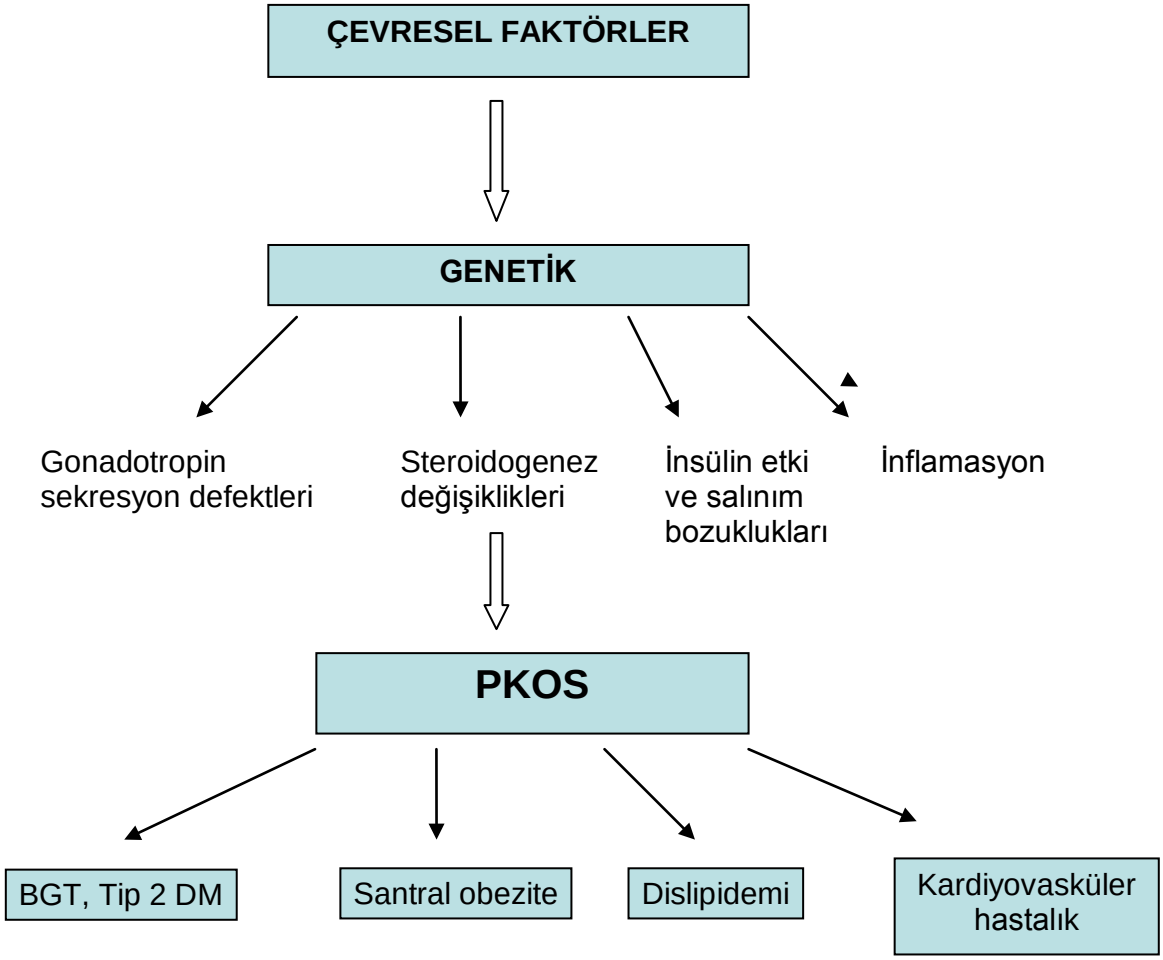
Hirşutizm	%60-90
Oligomenore	%50-90
İnfertilite	%55-75
Polikistik over	%50-75
Obezite	%40-60
Amenore	%25-50
Akne	%25
Disfonksiyonel uterin kanama	%30
Normal menstrüel patern	%22

PKOS'da en sık görülen hiperandrojenizm bulgusu hirşutizmdir. Hirşutizm kadınlarda normalde sık kıl olmayan merkezi yerleşimli bölgelerde aşırı kıl büyümesi olarak tanımlanır. Hirşutizm Ferriman-Gallwey metodu ile değerlendirilir. Bu metot ile üst dudak, alt çene, göğüs bölgesi, sırtın alt ve üst kısımları, alt ve üst abdomen, kol ve bacakların üst kısımları olmak üzere toplam dokuz alanda kıl dağılımı 0-4 arasında skorlanarak toplam skorun 8 ve üzerinde olması hirşutizm olarak tanımlanır (21).

Akne, ciltte yağlanma ve androjenik alopesi de hiperandrojenizme bağlı olarak görülebilen klinik bulgularıdır. Fizik muayenede akantozis nigrikans görülebilir. PKOS'lu vakaların %50'sinde obezite görülür ve genellikle santral obezite şeklindedir (1,14).

2.1.4. Metabolik Değişiklikler

PKOS, insülin direnci, obezite, bozulmuş glukoz toleransı, dislipidemi ve uzun dönemde artmış kardiyovasküler komplikasyon riski nedeniyle metabolik bir hastalık olarak da kabul edilmektedir (şekil 1).



Şekil 1. PKOS etiyolojisi ve sendromda görülen metabolik değişiklikler

BGT: Bozulmuş glukoz toleransı

2.1.4.1. Obezite

PKOS'lu kadınların yaklaşık %50'sinde obezite görülmektedir (13). Obez olan hastaların daha düşük LH, seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG), DHEAS, dihidrotestosteron, IGF-1 ve HDL-kolesterol düzeylerine karşılık daha yüksek LDL-kolesterol düzeylerine sahip oldukları gösterilmiştir. Başta visseral adipozite olmak üzere artmış yağ oranları, hiperandrojenemi, insülin direnci, glukoz intoleransı ve dislipidemi ile birliktelik göstermektedir (14).

2.1.4.2. İnsülin Direnci, Bozulmuş Glukoz toleransı ve Tip 2 Diyabet

Yapılan çalışmalar PKOS'lu kadınların yaklaşık %50'sinde insülin aracılı reseptör otofosforilasyonunun bozulmuş olduğunu ya da sinyal mekanizmalarında anormallikler olduğunu göstermektedir. Bunlara ilaveten insülin duyarlılığının azalması ile beraber pankreatik hücrelerde sekresyon bozukluğu da bildirilmektedir. Tüm bu bozuklukların sonucunda özellikle obez PKOS'lu kadınların %30-40'ında bozulmuş glukoz toleransı bulunmaktadır ve bunların yaklaşık %10'u kırklı yaşlarda diyabetik hale gelmektedir (22).

2.1.4.3. Dislipidemi

PKOS'lu kadınlarda yapılan pek çok çalışmada artmış trigliserid ve LDL-kolesterol ve azalmış HDL-kolesterol düzeyini içeren lipid profil bozuklukları gösterilmiştir. Ayrıca dislipidemi derecesi insülin direncinin şiddetiyle korelasyon göstermiştir (1).

2.1.4.4. Kardiyovasküler Hastalık Riski

Yapılan bazı çalışmalarda PKOS'lu kadınların dislipidemi, obezite ve bozulmuş glukoz toleransı gibi bağımsız kardiyovasküler risk faktörlerinin toplamından daha yüksek kardiyovasküler hastalık riski barındırdıkları sonucuna varılmıştır (23,24). Üreme çağında menstrüel düzensizlikleri olan kadınlarda gelecekte kardiyovasküler hastalık ortaya çıkma riskinin belirgin olarak artmış olduğu gösterilmiştir (25).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda PKOS zemininde gelişen düşük dereceli kronik inflamasyon ile uzun dönem metabolik ve kardiyovasküler komplikasyonlar arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Ancak eldeki veriler yeterli olmayıp bu konuda yapılacak daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (14).

2.1.5. Tanı

Klinik bulguların PKOS'u düşündürdüğü olgularda tanı biyokimyasal ve ultrasonografik bulgularla desteklenmelidir.

En yaygın olarak kullanılan tanı kriterleri, 1990 yılında A.B.D. Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından düzenlenen konferansta oluşturulmuştur. Buna göre PKOS tanısı için klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ile kronik anovulasyon bulunması ve diğer nedenleri ekarte edilmesi ile tanı konmaktaydı. Ancak 2003 yılında tanı kriterleri yeniden gözden geçirilmiş ve diğer etiyolojik nedenler ekarte edildikten sonra oligo-anovulasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ve ultrasonografide polikistik over görünümünden ikisinin bulunması PKOS tanısı için yeterli kabul edilmiştir (1,13). PKOS tanı kriterleri tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Polikistik Over Sendromu Tanı Kriterleri

1990 NIH tanı kriterleri
1. Kronik anovülasyon ve 2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ve diğer etyolojik nedenlerin ekarte edilmesi
2003 Rotterdam yeniden gözden geçirilmiş tanı kriterleri
1. Oligo-anovülasyon 2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları 3. Polikistik overler ve diğer etyolojik nedenlerin ekarte edilmesi * Tanı için üç kriterden ikisinin bulunması gerekmektedir.

Hastaların laboratuar incelemesinde over ve adrenal kökenli androjenlerde artış gözlenmektedir. Total testosteron, serbest testosteron, DHEAS ve androstenedion düzeyleri artmıştır. SHBG düzeyleri düşmüştür. Bu nedenle dolaşımdaki serbest östrojen ve testosteron seviyeleri artmıştır (1).

LH ve LH/FSH oranında artış olmaktadır. Vakaların %50-60'ında insülin direnci ve hiperinsülinemi görülmektedir (1). Değişen sıklıklarda özellikle obez kadınlarda bozulmuş açlık glukozu, bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 DM görülebilmektedir. Yüksek trigliserid, LDL-kolesterol ve düşük HDL-kolesterol bu hastalarda görülen diğer laboratuar anormalliklerindendir (1). PKOS'lu kadınlarda %30'a varan oranlarda hafif-orta düzeylerde PRL yüksekliği görülebilmektedir (14).

PKOS'lu kadınların ultrasonografik görüntülemesinde 2-9 mm çaplı 12 ya da daha fazla folikül bulunması ve/veya artmış over volümü (>10 ml) polikistik over olarak kabul edilmektedir (13,14).

2.1.6. Ayırıcı Tanı

Ayırıcı tanıda menstrüel düzensizlikler ve hiperandrojenizme neden olabilecek hastalıklar bulunmaktadır.

Androjen salgılayan tümörler ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken hastalıklardan birisidir. Hızlı gelişen hirşutizm ve virilizm bulguları neoplastik bir etiyoloji için uyarıcı olmalıdır. Testosteronun >200 ng/dl, DHEAS > 7000 ng/ml olması adrenal ya da over kökenli tümör varlığını akla getirir (14).

Geç başlangıçlı konjenital adrenal hiperplazi ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken diğer bir hastalıktır. Erken foliküler fazda 17-α hidroksi progesteron (17-α OHP) düzeyinin 3 ng/ml'nin altında olması hastalığı ekarte ettirir. Bu değerin üzerindeki olgularda adrenokortikotropik hormon (ACTH) uyarısı ile ölçülen 17-α OHP düzeyinin 10 ng/ml'nin üzerinde olması 21 hidroksilaz eksikliğinin tansını koydurur (14).

Cushing Sendromu da ayırıcı tanıda yer alması gereken hastalıklardandır. Hastalığı düşündüren klinik bulguların varlığında 24 saatlik idrarda serbest kortizol ölçümü ve 1 mg deksametazon supresyon testi ile tarama yapılması gerekmektedir.

Hiperprolaktinemi ve tiroid hastalıkları da menstrüel bozukluklara neden olabileceğinden ayırıcı tanıda yer almaktadır.

Hiperandrojenizme ya da hiperandrojenik değişikliklere yol açan steroidler, progestanlar, androjenler ve fenitoin gibi ilaçlarda ayırıcı tanıda düşünülmelidir (14).

2.1.7. Tedavi

PKOS'un uzun dönem sonuçları düzensiz uterin kanama, infertilite, androjen fazlalığı, kronik karşılanmamış östrojen fazlalığına bağlı olarak artmış endometrium kanser riski ve insülin direnciyle ilişkili olarak artmış kardiyovasküler hastalık ve diyabetes mellitus riskini kapsamaktadır. Bu nedenle tedavide bu sonuçların önlenmesi öncelikli hedef olmalıdır (10).

Yaşam tarzı değişikliği ile birlikte normal vücut ağırlığına ulaşmak kardiyovasküler hastalık ve tip 2 DM gelişiminin önlenmesinde ve ovulasyonun sağlanmasında etkilidir (10). % 5-10'luk kilo kaybı santral yağ oranını % 30 azaltarak insülin duyarlılığını artırmakta ve ovulasyonu iyileştirmektedir (26).

PKOS'da en çok tercih edilen farmakolojik ajan OKS'lerdir. Overyan kaynaklı androjen üretimini süprese ederek ve seks hormon bağlayıcı globulin düzeyini artırarak dolaşımdaki androjen seviyesini düşürürler, bu sayede hirsutizmi düzeltirler. Düzenli siklik kanama, kotrasepsiyon sağlaması ve endometriumu koruması da diğer faydalı etkileri arasındadır (13).

Kronik karşılanmamış östrojene maruziyet disfonksiyonel uterin kanama, amenore, infertilite ve endometrium Ca riskine neden olmaktadır. Anovulatuar PKOS'lu hastalarda 20'li yaşalardan önce bile endometrium Ca görülebilmektedir. Bu nedenle yaşa bakılmaksızın periyodik olarak endometrium biyopsisi yapılmalıdır. Progestin ya da oral kontraseptifler ile uzun süreli tedavi endometrium Ca riskini azaltmaktadır (13).

Anovulatuar ve düzensiz kanamaları olan ancak hirsutizmi olmayan hastalarda tek başına progestinler OKS'lere alternatif olarak kullanılabilir. Medroksiprogesteron asetat endometrium hiperplazisinin önlenmesi ve çekilme kanamasının sağlanması için her ayın ilk on günü 10 mg/gün dozunda intermittan olarak uygulanabilir. Ancak bu tedavinin hiperandrojenemiyi azaltmakta yeri yoktur (1).

Ciddi hirsutizmi olan ya da OKS'lere cevap vermeyen vakalarda bir aldosteron antagonisti olan spironolakton tedaviye eklenebilir. Spironolakton adrenal ve over kaynaklı androjen biyosentezini ve 5α-redüktazı inhibe ederek antiandrojenik etki gösterir. OKS'lerle birlikte kullanıldıklarında sinerjistik etki gösterir. Diğer antiandrojenik ilaçlar olan finasterid ve flutamid de tedavide kullanılanabilir (1).

Şiddetli hirsutizmi olan ve OKS'lere yanıt vermeyen hastalarda GnRH agonistleri tedavide kullanılabilir (13).

Hasta gebelik istiyorsa klomifen sitrat ya da rekombinan FSH ile ovulasyonun indüksiyonu gerekebilir. PKOS'lu gebelerde yüksek LH seviyelerine bağlı olarak spontan düşük riski artmıştır. Bu nedenle ovulasyonun indüksiyonundan önce 4-6 hafta süreyle OKS kullanımı ile LH süpresyonu sağlanmalıdır (13).

İnsülin direnci ile PKOS arasındaki kuvvetli ilişki ve hiperinsülineminin hiperandrojenizme neden olması nedeniyle insülin duyarlılığını artırıcı ajanların tedavideki

yeri önemlidir. Bu grupta en sık kullanılan ajan metformindir. Bir biguanid analoğu olan metformin insülin duyarlılığını artırır, androjen düzeylerinde azalma, spontan ovulasyon oranında artma ve Tip 2 DM gelişiminde azalmaya neden olur (13).

İnsülin duyarlılığını artıran diğer bir grup ilaç tiazolidinedionlardır. Bu grupta rosiglitazon ve pioglitazon bulunmaktadır. Bu grup ilaçların da PKOS'lu kadınlarda androjen seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (13).

2.2. Endotel Progenitör Hücre

Endotel progenitör hücreler ilk kez 1997 yılında Asahara ve arkadaşları tarafından tanımlanan kemik iliği kaynaklı hücrelerdir (3). Çeşitli uyarılara cevaben periferik dolaşıma mobilize olurlar. Matür endotel hücrelere dönüşebilme, endotelyal rejenerasyon ve yeni damar oluşumuna katkıda bulunabilme yeteneğine sahiptirler (5).

EPH'ler hücre kültürlerinde proliferasyon, adherasyon ve migrasyon kabiliyetleri ve taşıdıkları hücre yüzey belirteçleri ile karakterize edilirler. EPH'ler endotel hücreler ve hematopoetik kök hücrelerle bir takım ortak hücre yüzey belirteçleri taşırlar. Yapılan çalışmalarda EPH'lerin endotel hücre belirteç proteini olan VEGF reseptör-2 (VEGFR-2), hematopoetik kök hücre yüzey belirteci olan CD34 ve endotel hücrelerce taşınmayan CD133'ü taşıdıkları gösterilmiştir. Endotel progenitör hücreler olgunlaştıkça üzerlerindeki CD133 belirtecini kaybetmekte ve olgun endotel hücrelere dönüşmektedirler (5).

2.2.1. Endotel Progenitör Hücrelerin Kemik İliğinden Mobilizasyonu

EPH'ler kemik iliğinin vasküler bölgesinde depolanmakta ve dolaşıma sabit bir hızda salınmaktadırlar. Bu depo ihtiyaç halinde dolaşıma gerektiği kadar EPH sağlayan bir rezervuar olarak da görev görmektedir (27).

EPH'ler bazal durumlarda endotelde düşük seviyelerde bulunmasına rağmen iskemik bölgelerde endotelin yaklaşık %10'unu oluştururlar.

EPH'lerin dolaşıma salınmasını sağlayan pek çok fizyolojik ve patolojik olay vardır. Bu olayların başında doku iskemisi ve doku hasarı gelmektedir. Bu olaylarda hasarlı bölgelerden salınan VEGF, stromal hücre faktörü (SDF), GM-CSF gibi çeşitli büyüme

faktörleri ve sitokinlerin salınımını uyararak kemik iliğinden EPH'lerin mobilizasyonu ve hasarlı bölgeye toplanmasını sağlar (27).

Hipoksi SDF üretimi aracılığıyla hipoksi ile indüklenebilir faktör-1α salınımını uyararak vasküler hasar bölgesine EPH'lerin toplanmasına neden olur (5). Kemik iliğinin sessiz bölgesinde bulunan EPH'ler nitrik oksit, matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve soluble kit ligand (sKit L) gibi medyatörlerin aracılığıyla kemik iliğinin vasküler bölgesine geçerek çoğalırlar ve dolaşıma katılmak üzere mobilize olurlar. EPH'lerin kemik iliğinden mobilizasyonunda kemik iliği stromal hücrelerinden salınan endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesininde etkili olduğu düşünülmektedir (27).

Akut vasküler travma durumunda da dolaşımdaki EPH sayısı artmaktadır. Koroner arter cerrahisi geçiren hastalarda yapılan çalışmalarda hasardan 6-12 saat sonra dolaşımda bulunan EPH sayısının %50 arttığı ve 2-3 gün içerisinde bazal seviyelerine döndüğü gösterilmiştir (27).

Yapılan çalışmalarda eritropoetin ve östrojenin de EPH sayısını artırdığı gösterilmiştir (28). Dimmeler ve arkadaşları statinlerin EPH'lerin dolaşımdaki sayısını, proliferasyon hızı ve CD34 (+) hücrelerden farklılaşma hızını artırdığını göstermiştir (29).

2.2.2. Vasküler Tamirde Endotel Progenitör Hücrelerin Rolü

Endotel hücrelerin çoğalarak ve göç ederek var olan damarlardan yeni kapillerler oluşturmasına anjiogenez denmektedir. Vaskülogenez ise dolaşımda bulunan endotel hücre öncüllerinin var olan bir damardan köken almadan olgun endotel hücrelere dönüşerek yeni bir damar oluşturmasıdır. Yakın zamana kadar postnatal dönemde organizmanın fizyolojik gereksinimlerini karşılamak ya da iskemik dokulara oksijen sağlamak amacıyla yeni kapiller damarların oluşmasında sadece anjiogenezin rol aldığı düşünülmekteydi. Vaskülogenezin ise sadece embriyonik dönemde yeni damar oluşumunu sağladığı düşünülmekteydi (27).

1999 yılında Asahara ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada arka bacak iskemili hayvanlara EPH transplante edildiğinde endotel hücrelere dönüşerek iskemi sonrası endotel bütünlüğün tekrar sağlanmasında ve yeni damar oluşumunda rol aldıkları tespit edildi. Bu bulgular yetişkinlerde endotel rejenerasyonun ve yeni damar oluşumunun sadece matür endotel hücrelerin proliferasyonundan kaynaklandığı konusundaki yaygın kanıyı değiştirmiştir (30).

EPH'ler yeni endotel hücrelere prolifere olarak ve diğer EPH'lerin ya da matür endotel hücrelerin proliferasyonunu uyaran proanjiogenik sitokinler ve büyüme faktörleri salgılayarak endotel tamire katkıda bulunur (28).

Son zamanlarda yapılan in vivo ve invitro çalışmalarda EPH'lerin aterosklerotik plağın ilerlemesinin inhibisyonunda önemli olan hasar sonrası vasküler rejenerasyonda rolü olabileceği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada ateroskleroza eğilim oluşturan bir durum olan apolipoprotein E eksikliği olan farelere EPH infüzyonu sonrasında endotel fonksiyonların iyileştiği ve ateroskleroza gidişin azaldığı gösterilmiş (31). Yapılan hayvan çalışmaları EPH'nin endotel disfonksiyon ve ateroskleroz gelişiminden koruyucu bir rol oynadığını düşündürmektedir.

İnsanlarda yapılan çalışmalarda ise EPH ile endotel disfonksiyon arasında ilişki gözlenmiş ve azalmış EPH sayısının gelecekteki kardiyovasküler olayların bir habercisi olabileceği üzerinde durulmuştur (28). Koroner arter hastalığı olan insanlarda EPH sayısı ile koroner arter hastalığının yaygınlığı arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur (29).

2.2.3. İnsülin Direnci Ve Endotel Progenitör Hücre

Son zamanlarda yapılan çalışmalar insülin direncinin endotel hasar ve endojen tamir süreçleri arasındaki dengeyi olumsuz olarak etkilediğini düşündürmektedir.

Akım sitometri ve hücre kültür analizleri ile insülin direnci durumlarının hemen hepsinde dolaşan EPH sayılarının düşük olduğu gösterilmiştir. Dolaşan EPH sayısının azalması birçok faktöre bağlanabilir. Bunlar arasında defektif mobilizasyon, azalmış proliferasyon ve dolaşımda yaşam sürelerinin kısalması yer alır

İnsülin direncinde görülen nitrik oksit biyoyararlanımında azalma, reaktif oksijen radikallerinde artma ve PI-3 kinaz aracılı sinyalde azalma gibi biyokimyasal anormallikler EPH aracılı vasküler tamiri bozmaktadır. Kemik iliğinden EPH mobilizasyonunda azalma, adezyon, endotel integrasyon ve proliferasyon kapasitesinde azalma görülmektedir (5).

Endotel rejenerasyonu için EPH'lerin kemik iliğinden mobilizasyonu, hasarlı bölgeye göçü ve proliferasyonu gereklidir. Bu basamaklar büyük oranda NO bağımlıdır. İnsan ve hayvan deneysel modellerinde insülin direnci görülen durumlarda azalmış NO biyoyararlanımı EPH mobilizasyonu ve fonksiyonunu bozar (32-35).

PI3K/Akt yolunun kemik iliğinden EPH mobilizasyonunda, diferansiasyonunda ve apopitozun inhibisyonuda rol aldığı düşünülmektedir. PI3K/Akt yolu insülin dirençli kişilerin iskelet kasında selektif olarak azalmıştır (28). Akt-1'in genetik delesyonu olan farelerde iskemi ve VEGF'e cevaben gelişen EPH mobilizasyonu bozulmuştur (36).

Obezite, metabolik sendrom ve tip 2 DM gibi insülin direnci olan durumlarda düşük dereceli kronik bir inflamasyon görülür (28). İnflamatuar mediatörler EPH'lerin yaşam sürelerini, diferansiasyon ve fonksiyonlarını azaltır (37). Bunun tersine vasküler travmadan hemen sonra salınan inflamatuar mediatörler ise EPH'lerin mobilizasyonu ve hasarlı bölgeye göçünü uyaran büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımını uyarır (38). Akut vasküler hasar sonrası geçici inflamatuar cevap EPH'lerin mobilizasyonu için gereklidir, fakat inflamasyonun düşük derecelerde devam etmesi EPH sayı ve fonksiyonunu azaltmaktadır (28).

İnsülin direncinde serbest oksijen radikalleri üretimi artmıştır ve EPH'lerin oksidatif stresi tolere etme yetenekleri azalmıştır. Serbest oksijen radikalleri endotel hücrelerine direk sitotoksik etkilidir. NO ile reaksiyona girdiklerinde NO biyoyararlanımını azaltır ve güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur (39). Artmış serbest oksijen radikalleri EPH disfonksiyonuna neden olabilir. Hayvan modellerinde SOR'lerinin yüksek olduğu durumlarda EPH sayısının azaldığı gösterilmiştir (40,41).

2.2.4. Çeşitli Hastalıklarda Endotel Progenitör Hücre

2.2.4.1. Kardiyovasküler Hastalıklar

Son zamanlarda yapılan çalışmalar EPH'lerin ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde major bir rol oynadığını düşündürmektedir.

EPH sayı ve fonksiyonu iskemi ya da damar hasarına cevaben salınan çeşitli anjiogenik büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinlerle düzenlendiği gibi egzersiz, sigaranın bırakılması gibi yaşam tarzı değişikliklerinden ve renin anjiotensin sistem inhibitörleri, statinler ve eritropoetin gibi farmokolojik tedavilerden de etkilenir (4).

Werner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada EPH sayısında azalmanın KVH morbidite ve mortalitesinde bağımsız bir prediktör olduğunu göstermişitr. Bu bulgular EPH

sayı ve fonksiyonunun düzenlenmesinin KVH gelişimi ve sürdürülmesini direkt olarak etkilediğini düşündürmektedir (42).

Vasa ve arkadaşları koroner arter hastalıklı hastalarda EPH sayı ve migrasyon kapasitesinin azaldığını göstermiştir. Sağlıklı kontrollere kıyasla KAH'lı hastalarda EPH sayısının %48 daha düşük olduğu bulunmuştur (7).

Shintani ve arkadaşları akut miyokard infaktüslü hastalarda dolaşan EPH sayısının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu ve 7. günde zirve yaptığını göstermiştir (43).

Yapılan çalışmalar kardiyovasküler risk faktörlerinin EPH sayı ve fonksiyonunu etkilediğini göstermiştir (4,44). Yaş, erkek cinsiyet, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabetes mellitus, sigara, obezite ve fiziksel inaktivite kardiyovasküler risk faktörleridir. Hill ve arkadaşları total risk faktörleri ve EPH sayısı arasında negatif korelasyon bildirmiştir (44). Kardiyovasküler risk faktörleri ile EPH arasında ters korelasyon olduğu aşikardır ancak bunun nedeni tam olarak aydınlatılamamıştır. Kemik iliğinden EPH mobilizasyonunda nitrik oksitin önemli rolü olduğu bilinmektedir. Nitrik oksit biyoyararlanımının kardiyovasküler risk faktörlerinden etkilendiği ve EPH mobilizasyonundaki azalmanın olası nedeni olabileceği üzerinde durulmaktadır (5).

Yaşlanma EPH sayını azaltan ve fonksiyonunu etkileyen güçlü bir faktördür. Yaşlılarda NO biyoyararlanımının azalması EPH sayısındaki azalmaya katkıda bulunmaktadır (5). Scheubel ve arkadaşları yaptığı çalışmada yaşlılarda VEGF seviyesindeki azalmanın EPH mobilizasyonundaki azalmayla ilişkili olabileceğini bildirmiştir (45).

2.2.4.2. Hipertansiyon

Hipertansiyon EPH sayı ve fonksiyonunu azaltan güçlü bir risk faktörüdür. Serbest oksijen radikallerinin birikimi NO biyoyararlanımını azaltarak kemik iliğinde EPH mobilizasyonunu azalttığı düşünülmektedir (46). Serbest oksijen radikallerinin aynı zamanda EPH proliferasyonunu etkilediği ve yaşlanma ya da apopitoza neden olduğu düşünülmektedir (5). Anjiotensin II' nin oksidatif stresi artırarak EPH yaşlanması ve apopitozuna neden olduğu bildirilmiştir (47).

RAS inhibitörleriyle tedavi edilen bireylerde EPH sayısının arttığı gösterilmiştir. Bahlmann ve arkadaşları normotansif ve hipertansif vakalarda bir anjiotensin II reseptör

antogonisti olan olmesartanın EPH sayısını artırdığını göstermiştir (48). Bu bulgular hipertansiyonlu vakalarda EPH biyoaktivitesinin düzenlenmesinde RAS'ın önemli rolü olduğunu desteklemektedir.

2.2.4.3. Dislipidemi

Çok sayıda çalışmada lipid metabolizması ile EPH arasında ilişki olduğu belirtilmiştir. Serum kolesterol düzeyleri yüksek bireylerde EPH sayısının belirgin olarak azaldığı görülmüştür (44). Yüksek LDL-kolesterol düzeylerinin EPH sayı ve fonksiyonunu azalttığı gösterilmiştir (49). Okside LDL'nin Akt/eNOS yolunun inaktivasyonu ile EPH adezyon ve migrasyon kapasitesini bozduğu ve yaşlanmayı uyardığı gösterilmiştir (49). Llevadot ve arkadaşları simvastatinin Akt/eNOS aktivasyonu aracılığıyla kemik iliğinden EPH mobilizasyonunu artırdığını bildirmiştir (50). Koroner arter hastalığında LDL kolesterol ile dolaşan EPH sayısı arasında negatif korelasyon vardır (29).

HDL-kolesterol aterosklerozun progresyonunu önlemektedir. Düşük HDL-kolesterol seviyeleri kardiyovasküler hastalık insidansını artırmaktadır. Ancak HDL-kolesterolün ateroskleroz üzerine yararlı etkileri hala belirsizdir. EPH sayı ve fonksiyonunun HDL-kolesterol aracılı artışının vasküler protektif etkilerine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. HDL-kolesterol EPH apopitozunu önler, PI3 kinaz/akt/NOS yolunu aktive ederek EPH diferansiasyonunu ve mobilizasyonunu artırır (4).

Statin tedavisi EPH sayısı, kemik iliğinden mobilizasyonu, diferansiasyonu, proliferasyonu, migrasyon ve adezyonu artırırırken EPH yaşlanmasını azaltır (6).

2.2.4.4. Obezite

Obezitenin endotel disfonksiyon ve ateroskleroza neden olduğu bilinmektedir. Ancak obezite ve EPH arasındaki ilişki hakkında az bilgi mevcuttur. Fadini ve arkadaşları metabolik sendromlu hastalarda EPH sayısının azaldığını bildirmiştir (51). Visseral yağ birikimi, TNF-α ve IL-6 artışını ve adiponektin azalmasını uyararak endotel disfonksiyon ve insülin direncine yol açar, EPH sayı ve fonksiyonuyla ters koreledir.

2.2.4.5. Diyabetes Mellitus

Glukoz regülasyon bozuklukları EPH biyolojisindeki anormalliklerle ilişkilidir. Bunlar arasında dolaşımdaki EPH sayısında azalma, kemik iliğinden defektif mobilizasyon ve EPH fonksiyonlarında azalma sayılabilir (28).

Tip 1 ve tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda EPH sayısının azaldığı ve fonksiyonunun bozulduğu gösterilmiştir (52,53). Tepper ve arkadaşları tip 2 DM'li hastalarda EPH'lerin adezyon, proliferasyon ve tubulizasyon fonksiyonunun bozulduğunu, EPH sayısı ile HbA_1c arasında negatif korelasyon olduğunu bildirmiştir (54). Loomans ve arkadaşları da tip 1 DM'li hastalarda EPH sayısının azaldığı ve fonksiyonunun bozulduğunu ve EPH sayısı ile HbA_1c arasında negatif korelasyon olduğunu bildirmiştir (55).

EPH'ler vasküler tamire katılabilmeleri için kemik iliğinden mobilizasyonundan sonra endotel hasarı bölgesine etkili bir şekilde ulaşmalı, endotel tabakaya adezyon ve integrasyon yaparak, prolifere ve diferansiye olmalıdır (28). Tip 2 DM'li insan ve hayvanlarda EPH'lerde in vitro ortamda çok sayıda fonksiyonel defektler vardır. Bunlar arasında kemotaktik uyarılara bozulmuş migrasyon cevabı, proliferasyonda azalma ve damar benzeri yapı oluşturma yeteneğinde azalma sayılabilir. Bu defektler EPH'lerin rejeneratif kapasitelerini sınırlamaktadır (54). Bu fonksiyonel defisitler biyolojik olarak in vivo fonksiyonları ile de ilişkilidir. Li ve arkadaşları endoteli soyulmuş tip 2 DM'li farelerde reendotelizasyonun bozulduğunu göstermiştir (56).

EPH'lerin hasarlı damar bölgesine göçü lokal olarak üretilen kemokinler ve EPH'ler üzerinde bulunan kemokin reseptör 4 (CXCR4) arasındaki etkileşime bağlıdır. Diyabetiklerde hasarlı dokularda kemokin SDF-1α salınımı (57) ve periferal mononükleer hücrelerde CXCR4 expresyonu azalır (58).

Krankel ve arkadaşları hiperglisemik ortamda EPH sayısının azaldığını, apopitozun arttığını, migrasyon ve integrasyon kapasitesinin azaldığını (59), Pistrosch ve arkadaşları tip 2 DM'li hastalarda EPH migrasyon kapasitesinin azaldığını göstermiştir (60).

Hipergliseminin EPH sayı ve yaşam süresini kısaltmasında, proliferasyon ve migrasyon kapasitesini azaltmasında birkaç mekanizma sorumlu tutulur. Bunlar arasında NO biyoyararlanımında azalma (59), mitojen aktiviteli protein (MAP) kinaz aktivasyonu sonucunda EPH yaşlanmasında artış (61) ve oksidatif stresde artış (62) sayılabilir.

Tip 2 DM'li hastalarda insülin ya da oral antidiyabetik ajanlarla glisemik kontrolün sağlanmasının EPH sayısını artırdığı gösterilmiştir (63). Tip 1 ve tip 2 DM'li hastalarda yapılan çalışmalarda HbA_1C ve EPH sayısı arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Bu da glisemik kontrolün iyileşmesinin EPH sayısını artırdığını desteklemektedir (54,55).

İn vitro ortamda insülin ve insülin analoglarının EPH mobilizasyonu ve fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (64). Başka bir çalışmada maternal insülin tedavisinin glisemik kontrolden bağımsız olarak fetal dolaşımdaki EPH'leri artırdığı gösterilmiştir (65).

PPAR-γ agonisti olan roziglitazonun EPH sayı ve fonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (5). Yapılan bir çalışmada roziglitazonun EPH sayısını artırdığı ve migrasyon aktivitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (60). Bir diğer çalışmada NADPH oksidaz aktivitesini azalttığı ve tip 2 DM'li hastalarda EPH reendotelizasyon kapasitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (66). Pioglitazonun da EPH sayı ve fonksiyonunu artırdığı, apopitozunu azalttığı gösterilmiştir (67,68).

2.2.4.6. Polikistik Over Sendromu

Rajendran ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 24 PKOS'lu hasta 12'si obez ve 12'si normal kilolu olmak üzere iki gruba ayrılmış. Her iki grupta endotel progenitör hücre açısından kontrol grubuna göre anlamlı fark görülmemiştir (9).

Baradez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada beden kitle indeksi (BKİ) <30 kg/m^2 olan 14 PKOS'lu hastada EPH sayısı ve in vitro tüp formasyonu değerlendirilmiş. PKOS'lu hasta grubunda EPH sayısının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ve invitro tüp formasyonunun bozulduğu gösterilmiştir (10). Buradan yola çıkılarak PKOS'lu hastalarda vasküler tamirin bozulacağı sonucuna varılmıştır (10).

Bairagi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 44 amenoreik vakanın 38'i hiperandrojeneminin klinik ya da biyokimyasal bulgusu olmayan polikistik over (nonklasik PKOS) vakası idi. Bu vakalarda açlık $CD133^+$, $CD34^+$ ve $CD133^+CD34^+$ hücre sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. 75 gram oral glukoz yüklemesi sonrasında kontrol grubunda $CD133^+$ ve $CD133^+CD34^+$ hücreler 1. saatte 2 kat arttı. 2. saatte %40 düştü. Amenoreik bireylerde OGTT sonrası $CD133^+$ hücre artışı kontrol grubuna göre belirgin olarak daha zayıftı. $CD133^+CD34^+$ hücre sayısında ise artış gözlenmedi. Polikistik

bireylerden kültüre edilen progenitör hücrelerde fibronektine azalmış adherens, azalmış endotelyal nitrik oksit sentaz ve nitrik oksit seviyeleri tespit edildi (11).

Chan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 18-60 yaşları arasında 109 PKOS vakası çalışmaya alındı. 50 yaşına kadar EPH sayısının giderek arttığı 50 yaşından sonra ise azaldığı gösterildi. Ancak PKOS vakaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (12).

2.2.5. Endotel Progenitör Hücrelerin Töropatik Kullanımı

Son zamanlarda yapılan çalışmalar EPH'lerin kardiyovasküler hastalıkların gelişimini önlemede ve tedavisinde bir şans olduğunu düşündürmektedir. Ancak kardiyovasküler hastalık riski bulunan kişilerde EPH'lerin sayı ve rejeneratif fonksiyonlarının azalması hücre bazlı tedavide kullanılmasını sınırlandıran bir durumdur. Bu nedenle töropatik müdahale için EPH sayısının artırılması ve fonksiyonlarının iyileştirilmesi gerekmektedir (28).

Granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF) EPH mobilizasyonunun güçlü bir uyarıcısıdır ve hayvan modellerinde damar hasarını takiben reendotelizasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir (69). Huang ve arkadaşları ciddi alt ekstremite iskemili diyabetik hastalara G-CSF ile mobilize edilmiş EPH'den zengin periferik mononükleer hücre transplantasyonu yapıldığında ekstremite perfüzyonunun arttığı ve amputasyon ihtiyacının azaldığını göstermiştir (70).

Akut MI'da G-CSF ile mobilize edilen edilen kemik iliği hücrelerinin intrakoroner infüzyonu sonucunda myokardiyal perfüzyonun ve sol ventrikül sistolik fonksiyonun iyileştiği gösterilmiştir (71,72). Bununla beraber eş zamanlı koroner arter stenti uygulanan çalışmanın birinde stent restenozu oranlarını anlamlı olarak artırdığı gösterilmiştir (72).

Hücre bazlı tedavilerde periferal kandan alınan EPH'lerin ex vivo kültürleri alternatif bir yaklaşımdır. Ex vivo büyüyen insan EPH'leri MI ve ekstremite iskemisinde in vivo ortamda da tamir edici potansiyellerini devam ettirirler (73,74). Hayvan modellerinde kültüre edilen EPH'lerin sistemik transfüzyonunun reendotelizasyonu hızlandırdığı (75), endotel fonksiyonları iyileştirdiği (31) ve aterosklerozu önlediği gösterilmiştir (76).

2.3.Vasküler Endotel Büyüme faktörü (VEGF)

VEGF damar endotel hücrelerine özgü homodimerik glikoprotein yapısında heparin bağlayan büyüme faktörüdür (77). Anjiojenezi uyaran faktörler içinde hem anjiojenik etki gösteren hem de damar geçirgenliğini arttıran tek faktördür (78).

VEGF, makrofaj, mastosit, fibroblast, keratinosit ve düz kas hücresi gibi pek çok hücreden salgılanır. Endotel hücreleri VEGF üretmez ancak üzerlerinde VEGF için reseptör taşırlar (79). VEGF hücre dışına salgılanarak 3 tip tirozin kinaz, 2 tip de nörofilin reseptörüne bağlanır (80).

VEGF reseptör 1'in (VEGFR1) pozitif ve negatif anjiojenik etkisi vardır. Endotel hücreleri dışında monositler, osteoblastlar, makrofajlar, perisitler, hemopoetik kök hücreleri, damar düz kas hücreleri ve kolorektal tümör hücrelerinde bulunur (80).

VEGFR2 (Flk-1/KDR) VEGF-A'nın mitojenik, anjiyojenik ve vasküler geçirgenlik artışı etkilerinden sorumludur. Endotel hücre büyümesi, farklılaşması, göçü ve tübül oluşumunu düzenler. Endotel hücrelerine ek olarak hemopoetik kök hücrelerde, megakaryositlerde, retina öncü hücrelerinde, damar düz kas hücrelerinde ve bazı tümör hücrelerinde bulunur (80).

VEGFR3, lenfatik damarlarda anjiojenik etkiden sorumludur (80).

Nörofilin-1 endotel, nöron ve tümör hücrelerinde bulunur. Nörofilin-1 ve 2'nin nöronal hücre korunması, akson büyümesi gibi olaylarda fonksiyonu vardır (80)

VEGF salınımına etkili faktörler hipoksi, inflamatuar sitokinler, reaktif oksijen radikalleri, nitrik oksit ve hormonlardır (81).

VEGF vaskülojenez, anjiojenez ve lenfanjiojenezi düzenler. Endotel hücrelerinin büyüme ve farklılaşması için gereklidir. Ayrıca monositler için kemotaktiktir. Endotel hücrelerinde apoptozisi engelleyerek hücre devamlılığını sağlar. Proinflamatuar etkilidir (82).

EPH'lerin kemik iliğinden mobilizasyonunda pek çok endojen faktör etkili olmakla birlikte VEGF bunlar arasında en önemli olanlarındandır. Vasküler hasar ve doku iskemisi sonrasında salınan VEGF kemik iliğinden EPH'lerin mobilizasyonunu uyarmaktadırlar (4).

2.4. Matriks metalloproteinaz (MMP)-9

Matriks metalloproteinazlar ekstrasellüler matriksin (ESM) yıkımından sorumlu proteinazlardır. MMP'lerin aktivitesi inflamatuar hücrelerin infiltrasyonu, düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonu gibi aterosklerotik plak oluşumu ile ilişkili birçok süreç için temeldir. MMP'ler 5 temel sınıfa ayrılırlar, Bunlar;

1. Kollajenazlar
2. Stromelizinler
3. Jelatinazlar
4. Matrilsinler
5. Mebran-tip MMP'ler (Mt-MMP) (83).

Jelatinazlar, ESM yıkımı, anjiogenez, doku remodeling ve hücre migrasyonu süreçlerinde önemli rol oynarlar. Ayrıca birçok sitokin ve kemokin üzerinde etkileri vardır. MMP-9, IL-8'i parçalayarak daha potent IL-8 ortaya çıkmasını sağlar (84). Yine TNF-α, TGF-β ve IL-1β'yı inaktif formdan aktif forma dönüştürür (85). MMP-9 jelatinaz sınıfına dahildir.

MMP-9, akciğer dokusunda infeksiyon veya inflamatuar hastalıklar sırasında uyarılan bronş epitel hücreleri, clara hücreleri, alveolar tip II hücreleri, fibroblast, düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinden üretilir. Lökosit, lenfosit, eosinofil, makrofaj, NK hücreleri, dentritik hücreler ve mast hücreleri tarafından da üretilir (86,87).

MMP-9 denatüre kollajen ve tip 4 kollajeni parçalar. Endotel progenitör hücrelerin kemik iliğinden mobilizasyonunda MMP-9 aktivasyonu esansiyel basamaktır. MMP-9 aktivasyonu ile membrana bağlı kit ligand solubl kit liganda dönüşür. Bu aktivasyon cKit pozitif progenitör hücrelerin kemik iliğinin stromal alanından vasküler zonuna hareketini sağlar. MMP-9, VEGF'ün salınımını arttırarak anjiogenezde önemli rol oynar (88).

2.5. İnterselüler Adezyon Molekülü (ICAM)-1

ICAM-1 immünglobulin süper ailesi üyesidir. Lökositlerin yapışmasında, migrasyonunda, immün ve inflamatuar hücrelerin aktivasyonunda önemli role sahiptir. Endotel hücreleri, lenfositler ve monositler gibi birçok hücrede az miktarda bulunur. Akut ve kronik inflamasyon sırasında interlökin (İL)-1, TNF-α ve interferon (IFN)-γ gibi sitokinlerin

etkisi ile artırılır. ICAM-1'in ekstraselüler kısmının ayrılması ile solubl formu (sICAM-1) oluşur. sICAM-1 serum düzeyleri bir çok enfeksiyon, inflamatuar ve neoplastik hastalıkta artmıştır (89,90).

2.6. Vasküler Selüler Adezyon Molekülü (VCAM)-1

VCAM-1 immünglobulin süper ailesi üyesidir. Endotel hücreleri, antijen sunan hücreler, kemik iliği stromal hücreleri, embriyonik doku ve sinoviyal dokuda eksprese olur. T lenfositlerin, monositlerin ve eozinofillerin endotel hücrelerine adezyonu ile görevlidir. İnflamasyon alanına lenfosit ve lökosit göçü ile lenfosit aktivasyonu ve kositümülasyonuna katılır. İL-1, TNF-α ve endotoksin ile uyarıldıktan sonra eksprese olur ve 24 saatte maksimuma erişir. Kronik inflamasyon alanlarında endotel hücrelerinde VCAM-1 ekspresyonu artmıştır (89).

2.7. Endotelyal Lökosit Adezyon Molekülü-1 (E-Selektin)

E-selektin endotel hücreleri üzerinde bulunur, IL-1 ve TNF- α gibi inflamatuar uyarılara cevaben artar. Lökositlerin endotele yapışarak yuvarlanmasında rol alır (91).

E-selektin anjiogenezin güçlü bir mediatörü olarak bilinir ve EPH'ler için kemotaktik bir faktördür.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi İç Hastalıkları AbD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı ve Biyokimya Anabilim Dalı tarafından yürütülmüştür. Çalışma protokolü Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokal Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (30.06.2009 tarih ve 2009/87 sayılı dosya numarası ile).

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları polikliniğine başvuran, yeni tanı konmuş ve hiç tedavi almamış, anovulatuar polikistik over sendromu olan 40 vaka alındı. Hastalar insülin direnci bulunan ve bulunmayan olarak iki gruba ayrıldı. İnsülin direnci bulunan 20 hastanın yaş ortalaması 23,0±4,4 yıl, insülin direnci bulunmayan 20 hastanın yaş ortalaması ise 21,2±2,6 yıl idi. Kontrol grubu olarak da yaş ve cins uyumlu 20 sağlıklı birey alındı. Kontrol grubunun yaş ortalaması 22,9±3,5 yıl idi.

PKOS tanısı 2003 Rotterdam yeniden gözden geçirilmiş tanı kriterlerine göre oligo-anovülasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları, polikistik overler kriterlerinden ikisinin bulunması ve diğer etyolojik nedenlerin ekarte edilmesi ile konuldu.

İnsülin direnci, HOMA-IR (Homeostasis model assesment-insulin resistance) = Açlık insülini (μU/mL) x Açlık glukozu (mg/dL)] / 405 formülü kullanılarak tespit edildi**.** HOMA-IR; 2,7 ve üzerindeki değerler insülin direnci pozitif olarak kabul edildi (92).

DM, karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu, koroner arter hastalığı, hipertansiyon, sigara kullanım öyküsü, oral kontraseptif ajanlar, glukoz, lipid ve kan basıncını etkileyen ilaçlar ve antiplatelet ilaç kullanım öyküsü bulunan vakalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya dahil edilen her hastadan ve kontrol grubundaki bireylerden adetin 3-5. günleri arasında, 8-12 saatlik açlığı takiben 10'ar ml kan örneği alındı. Hematoloji laboratuarında akım sitometri yöntemi ile CD34, CD133 ve VEGF-R2 taşıyan hücreler EPH kabul edilip tespit edildi. Biyokimya laboratuarında glukoz, insülin, C-peptid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid, FSH, LH, östradiol, total testosteron, serbest testosteron, 17-alfa hidroksi progesteron, DHEA-SO4, hs-CRP,

fibrinojen ve ferritin ölçümleri aynı gün yapıldı. VEGF, ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin ve MMP-9'un çalışılması için alınan kan örnekleri bekletilmeden 3500 devirde 20 dakika santrifüj edildikten sonra plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazma örnekleri çalışma anına kadar -80°C'de saklandı.

Çalışmada yapılan ölçümler için uygulanacak yöntem ve kullanılan cihazlar aşağıda verilmiştir.

CD34, CD133 ve VEGF-R2	:	Flow cytometry Epix XL MCL
VEGF	:	ELISA
ICAM-1	:	ELISA
VCAM-1	:	ELISA
E-Selektin	:	ELISA
MMP-9	:	ELISA
Glukoz	:	Enzimatik kolorimetrik yöntem, Roche moduler otoanalizör
İnsülin	:	Chemiluminescent immunoassay, İmmulite 2000
C-peptid	:	Chemiluminescent immunoassay, İmmulite 2000
Total kolesterol	:	Enzimatik kolorimetrik yöntem, Roche moduler otoanalizör
HDL-kolesterol	:	Enzimatik kolorimetrik yöntem, Roche moduler otoanalizör
LDL- kolesterol	:	Enzimatik kolorimetrik yöntem, Roche moduler otoanalizör
Trigliserid	:	Enzimatik kolorimetrik yöntem, Roche moduler otoanalizör
FSH	:	Electrochemiluminescence immunuassay (ECLIA), E170 Roche moduler
LH	:	Electrochemiluminescence immunuassay (ECLIA), E170 Roche moduler
Östradiol	:	Electrochemiluminescence immunuassay (ECLIA), E170 Roche moduler
Total testosteron	:	Electrochemiluminescence immunuassay (ECLIA), E170 Roche moduler
Serbest testosteron	:	Radioimmunassay, PC-RICA,MAS STRATEC
17-alfa hidroksi progesteron	:	Radioimmunassay, PC-RICA,MAS STRATEC
DHEA-SO_4	:	Chemiluminescent immunoassay, İmmulite 2000
Hs C-reaktif protein (CRP)	:	Nefelometrik yöntem, Dade Behring
Fibrinojen	:	Turbidumetrik yöntem, STA
Ferritin	:	Electrochemiluminescence immunuassay (ECLIA), E170 Roche moduler

İstatistiksel Analiz:

Hasta grupları ile kontrol grubu arasında Kolmogorow Simirnov testiyle değerlerin normal dağılım uygunlukları tespit edildikten sonra uygulanacak istatistiki yöntem belirlendi. Parametrik koşulları taşıyan parametrelerdeki karşılaştırmalar One-way Anova testi ile parametrik koşulları taşımayan parametrelerdeki karşılaştırmalar ise Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Veriler aritmetik ortalama ± standart hata olarak sunuldu. $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Korelasyon analizleri için Pearson korelasyon analiz testi kullanıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya insülin direnci olan 20 polikistik over sendromlu hasta ve insülin direnci olmayan 20 polikistik over sendromlu hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak yaş ve cins uyumlu 20 sağlıklı birey alındı.

Hasta ve kontrol grubuna ait klinik özellikler tablo 3.de gösterilmiştir.

Tablo 3. Polikistik over sendomlu hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda klinik özellikler

	A.İnsülin direnci (+) PKOS	**B.İnsülin direnci (-) PKOS**	**C.Kontrol**	**P Değeri**
Birey sayısı (n)	20	20	20	
Yaş (yıl)	23,0±4,4	21,2±2,6	22,9±3,5	A.D
Vücut ağırlığı (kg)	83,0±2,5	64,4±1,2	58,3±7,4	<0,0005*
BKİ (kg/m^2)	31,9±9,0	25,3±5,0	22,2±1,9	<0,0005**

A.D: Anlamlı değil

BKİ: beden kitle indeksi

* A vs B p=0,002, A vs C p<0,0005

** A vs B p=0,003, A vs C p<0,0005

İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre glukoz ve trigliserid seviyeleri anlamlı olarak yüksekken, HDL-kolesterol seviyesi anlamlı olarak düşük bulundu. İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalar ile kontrol grubu arasında total-K ve LDL-K açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4).

İnsülin direnci olmayan PKOS'lu hastalar ile kontrol grubu arasında glukoz, total-K, LDL-K, HDL-K ve trigliserid açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4).

Tablo 4. Polikistik over sendomlu hastalar ve kontrol grubunda metabolik parametreler

	A. İnsülin direnci (+) PKOS	**B. İnsülin direnci (-) PKOS**	**C. Kontrol**	**P değeri**
Glukoz (mg/dl)	89,8±5,8	83,6±8,3	83,4±5,2	0,004*
İnsülin (μIU/ml)	29,5±2,1	5,4±2,2	4,5±2,6	<0,0005**
HOMA-IR	6,5±4,8	1,1±0,4	1,0±0,6	<0,0005***
Total-K (mg/dl)	169,6±27,0	158,3±26,0	157,3±25,7	A.D
LDL-K (mg/dl)	97,2±31,8	97,7±23,2	92,4±20,5	A.D
HDL-K (mg/dl)	45,5±11,3	50,6±8,2	55,0±11,5	0,02****
Trigliserid (mg/dl)	114,0±45,9	67,4±2,9	78,8±31,4	<0,0005*****

* A vs C p= 0,01, A vs B p= 0,01

** A vs C p< 0,0005, A vs B p< 0,0005

*** A vs C p< 0,0005, A vs B p< 0,0005

**** A vs C p= 0,01

***** A vs C p=0,007, A vs B p< 0,0005

İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre total testosteron ve 17-0HP anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu grupta LH seviyesi anlamlılık sınırında yüksekti. İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalar ile kontrol grubu arasında FSH, E_2, serbest testosteron ve DHEAS açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 5).

İnsülin direnci olmayan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre LH ve total testosteron seviyesi anlamlı olarak yüksekken, FSH, E_2, serbest testosteron, 17-OHP ve DHEAS seviyeleri kontrol grubu ile benzerdi (Tablo 5).

Hormonal parametreler açısından insülin direnci olan ve olmayan PKOS'lu gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 5).

Tablo 5. Polikistik over sendomlu hastalar ve kontrol grubunda hormonal parametreler

	A. İnsülin direnci (+) PKOS	**B. İnsülin direnci (-) PKOS**	**C. Kontrol**	**P değeri**
FSH (mIU/ml)	5,95±1,8	6,1±1,4	6,4±2,1	A.D
LH (mIU/ml)	10,0±6,8	10,4±6	6,8±4,7	0,04*
E_2 (pg/ml)	58,3±48,2	61,3±4,9	66,4±50,7	A.D
T.testos. (ng/ml)	0,4±0,2	0,5±0,2	0,2±0,1	<0,0005**
S. testos. (ng/dl)	1,5±0,8	1,6±0,8	1,3±0,5	A.D
17-OHP (ng/ml)	1,3±1,07	1,2±0,7	0,7±0,3	0,04***
DHEAS (µg/dl)	247,1±102	274,4±124,5	203,0±66,7	A.D

* A vs C p= 0,05, B vs C p= 0,01

** A vs C p= 0,01, B vs C p< 0,0005

*** A vs C p= 0,04

İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre hsCRP, fibrinojen ve ferritin seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 6).

İnsülin direnci olmayan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre hsCRP, fibrinojen ve ferritin seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 6).

İnflamasyon belirteçleri açısından insülin direnci olan ve olmayan PKOS'lu gruplar arasında fark sadece ferritinde vardı (Tablo 6).

Tablo 6. Polikistik over sendomlu hastalar ve kontrol grubunda inflamasyon belirteçleri

	A. İnsülin direnci (+) PKOS	**B. İnsülin direnci (-) PKOS**	**C. Kontrol**	**P değeri**
hsCRP (mg/dl)	1,5±4,4	0,4±0,2	0,3±0,0	0,01*
Fibrinojen (mg/dl)	358,8±70,9	319,8±62,3	306,1±48,3	0,02**
Ferritin (ng/ml)	44,9±28,9	25,1±16,4	26,0±19,5	0,01***

* A vs C p= 0,02

** A vs C p= 0,02

*** A vs C p= 0,02, A vs B p= 0,02

İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre E-Selektin ve MMP-9 seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu. ICAM-1, VCAM-1 ve VEGF seviyeleri yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi. İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalar ile kontrol grubu arasında EPH açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 7).

İnsülin direnci olmayan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre VCAM-1 seviyesi anlamlı olarak yüksek bulundu. İnsülin direnci olmayan PKOS'lu hastalar ile kontrol grubu arasında ICAM-1, E-Selektin, MMP-9, VEGF ve EPH açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 7).

Tablo 7. Polikistik over sendomlu hastalar ve kontrol grubunda endotel fonksiyon belirteçleri

	A.İnsülin direnci (+) PKOS	**B. İnsülin direnci (-) PKOS**	**C. Kontrol**	**P değeri**
ICAM-1 (pg/ml)	1189,2±49	924,3±618,6	927±380,6	A.D
VCAM-1 (ng/ml)	639,2±190,4	737,4±259,2	538,4±116,4	0,009*
E-Selektin (pg/ml)	18755±9054	16530±3368	10159±4645	0,006**
MMP-9 (pg/ml)	3857,5±1318	3368,6±1145	2709,4±873,6	0,008***
VEGF (pg/ml)	1524±473,1	1459,2±897	1258,9±580,8	A.D
EPH(her 100.000)	3,5±2,2	2,5±1,6	3,9±2,3	A.D

* B vs C p= 0,007

** A vs C p= 0,007, B vs C p= 0,06

*** A vs C p= 0,006

Yapılan korelasyon analizinde dikkat çekici bir sonuca rastlanmadı.

5. TARTIŞMA

Polikistik over sendromu üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrinolojik patolojidir. Anovulasyon, hiperandrojenemi ve insülin rezistansı ile karakterizedir (1).

Son zamanlarda PKOS'nun patogenezinde hiperinsülineminin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. İnsülin direnci PKOS'lu hastaların %50-60'ında görülmektedir (1). PKOS'lu hastalarda dislipidemi, bozulmuş glukoz toleransı, tip 2 diyabetes mellitus (DM) ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin görülme insidansı artmıştır. Bu nedenle son zamanlarda yapılan çalışmalarda kardiyovasküler hastalıkların prevalansının arttığı gösterilmiştir (2).

İlk kez 1997 yılında Asahara ve arkadaşları tarafından, periferik kanda kemik iliği kaynaklı endotel progenitor hücre (EPH)'lerin varlığı tanımlanmıştır (3). EPH'ler hasarlı damarın reendotelizasyonuna ve iskemik dokunun neovaskülarizasyonuna katkıda bulunmaktadırlar. Bu nedenle kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (4).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar EPH'ler ile insülin direnci arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. İnsülin direnci endotelyal hasar ve tamir süreçleri arasındaki dengeyi bozarak ateroskleroza zemin hazırlar. İnsülin rezistansında görülen bazı biyokimyasal anormallikler EPH'lerin kemik iliğinden mobilizasyonunu önleyerek dolaşan EPH sayısını azaltır, endotelyal adezyon, integrasyon ve proliferasyon kapasitesinin azalmasına neden olur. İnsülin direnci EPH aracılı endotelyal rejenerasyonu bozarak ateroskleroza eğilim oluşturur ve kardiyovasküler hastalıklar için bir risk oluşturur (5).

Bu çalışma ile tüm dünyada yaygın olarak görülen bir endokrinolojik patoloji olan ve insülin direnci başta olmak üzere pek çok kardiyovasküler risk faktörünü barındıran PKOS'lu hastalarda EPHyi değerlendirmek; insülin direnci, obezite dislipidemi ve inflamasyon gibi diğer kardiyovasküler risk faktörleri ile EPH arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Rajendran ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 24 PKOS'lu hasta 12'si obez ve 12'si normal kilolu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır (9). Obez olan grupta açlık insülin

ve HOMA-IR seviyeleri, normal kilolu olan gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Her iki PKOS grubunda testosteron düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. EPH açısından kontrol grubuna göre anlamlı fark görülmemiştir (9).

Baradez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BKİ<30 kg/m^2 olan 14 PKOS'lu hastada EPH sayısı ve in vitro tüp formasyonu değerlendirilmiş. PKOS'lu hasta grubunda EPH sayısının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ve invitro tüp formasyonunun bozulduğu gösterilmiş. Buradan yola çıkılarak PKOS'lu hastalarda vasküler tamirin bozulacağı sonucuna varılmıştır (10).

Bairagi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 44 amenoreik vakanın 38'i hiperandrojeneminin klinik ya da biyokimyasal bulgusu olmayan polikistik over (nonklasik PKOS) sendromu çalışmaya alınmıştır (11). Bu vakalarda açlık $CD133^+$, $CD34^+$ ve $CD133^+CD34^+$ hücre sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. 75 gram oral glukoz yüklemesi sonrasında kontrol grubunda $CD133^+$ ve $CD133^+CD34^+$ hücrelerin 1. saatte 2 kat arttığı, 2. saatte %40 düştüğü saptanmıştır. Amenoreik bireylerde OGTT sonrası $CD133^+$ hücre artışı kontrol grubuna göre belirgin olarak daha zayıftı. $CD133^+CD34^+$ hücre sayısında ise artış gözlenmemiştir. Bu gözlemler sonucunda postprandial glukoz pikinin sağlıklı kadınlarda reproduktif sisteme kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin periyodik mobilizasyonunu uyardığı savunulmuştur. Polikistik bireylerden kültüre edilen progenitör hücrelerde fibronektine azalmış adherens, azalmış endotelyal nitrik oksit sentaz ve nitrik oksit seviyeleri tespit edilmiştir (11).

Chan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 18-60 yaşları arasında önceden PKOS tanısı konmuş 109 vaka ve 133 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alınmıştır (12). PKOS'lu vakalarda BKİ, açlık insülin, HOMA-IR ve testosteron düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. 50 yaşına kadar EPH sayısının giderek arttığı 50 yaşından sonra ise azaldığı tespit edilmiş, PKOS vakaları ile kontrol grubu arasında bizim çalışmamızda olduğu gibi EPH sayısı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (12).

Bizim çalışmamızda EPH sayısı açısından insülin direnci olan ve olmayan her iki PKOS'lu vaka grubunda kontrol grubuna göre anlamlı fark gözlenmedi. Her iki vaka grubu arasında da fark izlenmedi. Daha önce yapılmış dört çalışmanın ikisinde benzer

sonuçlar elde edilmiştir. Ancak Bairagi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada EPH sayısı PKOS'lu vakalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ancak bu çalışmada PKOS'lu vakalarda hiperandrojeneminin klinik ya da biyokimyasal bulgusu izlenmemekteydi. Serum testosteron düzeyleri kontrol grubuyla benzerdi. Bizim çalışmamızda ise serum total testosteron düzeyleri her iki vaka grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Biz EPH sayısının kontrol grubu ile benzer olmasını androjen fazlalığının eritropoezi uyarmasından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Baradez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hiperandrojeneminin klinik ve/veya biyokimyasal bulgusu mevcuttu, ancak bu çalışmada PKOS'lu vaka sayısı 14 olup oldukça azdı (10).

Bu konuyla ilgili yapılmış en geniş kapsamlı çalışma Chan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır (12). Bu çalışmada PKOS tanısı konmuş 109 vakada serum testosteron düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ve EPH sayısı sağlıklı kontrol grubuyla benzerdi.

Yapılan çalışmalar PKOS'unda düşük derecede kronik bir inflamasyonun olduğunu göstermiştir (2,93). İnflamasyon aterosklerotik komplikasyonların gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamakta, koroner arter hastalığı ve tip 2 DM riskini artırmaktadır. PKOS'unda artmış CRP, lökosit sayısı, sitokinler ve adezyon molekülleri inflamasyonun belirleyicisi olarak gösterilmiştir. ICAM-1, VCAM-1 ve E-Selektin gibi adezyon moleküllerinin artmış seviyeleri endoteldeki kronik inflamasyonu gösterir ve koroner kalp hastalığı ve tip 2 DM için bağımsız bir prediktördür (93).

Yapılan pek çok çalışmada PKOS'lu kadınlarda CRP seviyelerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (2,93-97). Bizim çalışmamızda da insülin direnci olan grupta hsCRP düzeyleri literatürle uyumlu olarak yüksek bulundu.

PKOS'lu kadınlarda yapılan çalışmalarda düşük dereceli kronik inflamasyonun bir göstergesi olarak serum ICAM-1, VCAM-1 ve E-Selektin düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur (93,98-104).

Diamanti-Kandarakis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu hastalarda ICAM-1, E-Selektin ve hsCRP seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (93). VCAM-1 seviyeleri kontrol grubuna göre yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Metformin ile altı aylık bir tedavinin ardından hsCRP

ve VCAM-1 seviyeleri anlamlı olarak düşmüş fakat ICAM-1 ve E-Selektin seviyelerinde tedavi sonrasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (93).

Diamanti-Kandarakis ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada PKOS'lu hastalarda ICAM-1, VCAM-1 ve hsCRP seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (100). PKOS vakaları hsCRP>1mg/L ve <1 olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Her iki grup arasında adezyon molekülleri açısından anlamlı fark izlenmemiştir (100).

Victor ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise PKOS'lu kadınlarda hsCRP, VCAM-1 ve E-Selektin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. ICAM-1 seviyeleri kontrol grubu ile benzerdi. Bu çalışmada adezyon molekülleri ve hsCRP düzeylerinin yüksek bulunması PKOS'lu vakalarda kronik bir inflamasyonun varlığını doğrulamış ve bu hastalarda ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık riskinin artacağı sonucuna varılmıştır (103).

Bizim çalışmamızda insülin direnci olan PKOS'lu vakalarda literatürle uyumlu olarak E-Selektin seviyesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ICAM-1 ve VCAM-1 seviyesi kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. İnsülin direnci olmayan PKOS'lu vakalarda VCAM-1 seviyesi anlamlı olarak yüksek, ICAM-1 seviyesi kontrol grubu ile benzer bulunmuştur. E-Selektin seviyesi yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. PKOS'lu kadınlarda adezyon moleküllerinin artmış seviyelerinin sedece insülin direnci ile ilişkili değil aynı zamanda hiperandrojenemiyle de ilişkili olduğu düşünülmektedir (105). Bizim çalışmamızda da her iki hasta grubunda adezyon moleküllerinin artmış olması bu görüşü desteklemektedir.

PKOS'lu kadınlarda fibrinojenin değerlendirildiği çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. Bir kısım çalışmada PKOS'lu kadınlarda fibrinojen düzeyinin arttığı gösterilirken (106-110,117) diğer çalışmalarda fibrinojen düzeyinin değişmediği gösterilmiştir (111-115). Yapılan bir metaanalizde 507 PKOS'lu vakada kontrol grubuna göre fibrinojen düzeylerinin sınırda yüksek olduğu tespit edilmiştir (116). Manneras-Holm ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fibrinojen düzeyleri PKOS'lu kadınlarda kontrole kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Artmış fibrinojen ve PAI-1 aktivitesinden yola çıkılarak PKOS'nun protrombotik bir durum olduğu sonucuna varılmıştır (106). Karadeniz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fibrinojen düzeyleri

PKOS'lu vakalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Pek çok kardiyovasküler hastalık risk faktörünü barındıran PKOS'unda fibrinojen yüksekliğinin de kardiyovasküler hastalık riskini artırabileceği sonucuna varılmıştır (117). Erdoğan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu vakalarda fibrinojen düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (108).

PKOS'unda fibrinojenle ilgili yapılmış çalışmaların hiçbirinde hastalar insülin direncine göre gruplandırılmamıştır. Ancak fibrinojen düzeylerinin yüksek bulunduğu pek çok çalışmada açlık insülin düzeyleri ve HOMA-IR kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda insülin direnci olan grupta fibrinojen düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, insülin direnci olmayan grupta kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Biz insülin direncinde üretilen inflamatuar sitokinlerin hepatositlerden fibrinojen üretimini uyardığını ve artmış fibrinojen düzeylerinin kardiyovasküler hastalık riskini artırabileceğini düşünmekteyiz.

Escobar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada PKOS'lu kadınlarda serum ferritin ve açlık insülin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, insülin duyarlılık indeksi düşük olarak bulunmuştur. Yüksek serum ferritin düzeylerinin obezite ve glukoz tolerans bozukluğu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ferritinin bir akut faz reaktanı olduğu ve PKOS'unda görülen düşük dereceli kronik inflamasyon ve insülin direncine bağlı olarak arttığı sonucuna varılmıştır (118). Luque–Ramirez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum ferritin düzeyleri obez ve fazla kilolu hastalarda yüksek, insülin duyarlılaştırıcı indeks düşük bulunmuştur. PKOS'da düşük dereceli kronik inflamasyon ve androjen fazlalığının insülin direncini agrave ettiğini ve serum ferritin düzeylerinde artışa neden olduğunu savunmuşlardır (119). Martinez-Garcia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'da açlık serum ferritin düzeylerinin yüksek olduğu, glukoz yüklemesinden sonra arttığı ve glukoz tolerans bozukluğu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. PKOS'da insülin direnci ve hiperinsülineminin intestinal demir emilimini artırarak, hiperandrojeneminin ise eritropoezi uyararak ve intestinal demir emilimini artırarak vücut demir depolarını artırdığı ileri sürülmüştür (120). Yıldır ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da serum ferritin düzeyleri PKOS'lu vakalarda yüksek bulunmuştur (121).

Bizim çalışmamızda literatürle uyumlu olarak serum ferritin düzeyleri insülin direnci olan hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Biz

insülin direncinin ve düşük dereceli kronik inflamasyonun ferritin düzeylerini artırdığını düşünüyoruz.

Lewandowski ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu kadınlarda serum MMP-9 konsantrasyonları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yüksek MMP-9 seviyelerinin PKOS'lu vakalarda aterosklerotik plak gelişimini uyararak kardiyovasküler hastalık riskini artırabileceği sonucuna varılmıştır (122). Baka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu kadınların folikül sıvısında MMP-9 konsantrasyonunun kontrol grubuna göre yüksek olduğu gösterilmiştir (123). Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'nda serum MMP-9 konsantrasyonu kontrole göre yüksek bulunmuştur (124). Gomes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise MMP-9 PKOS'lu kadınlarda yüksek olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (125).

Bizim çalışmamızda literatürle uyumlu olarak serum MMP-9 konsantrasyonu insülin direnci olan hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulundu. İnsülin direnci olmayan hasta grubunda yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi.

PKOS'unda serum VEGF düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. Ancak pek çoğunda serum VEGF düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (126-130). Behery ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu kadınlarda serum VEGF düzeyleri ve overyan kan akımı yüksek olarak bulunmuştur (126). Agrawal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu kadınlarda serum VEGF düzeyleri ve overyan stromal kan akımları yüksek olarak saptanmıştır. Overyan stromal kan akımı artışının overyan VEGF ekspresyonundaki artışa bağlı olduğu düşünülmüştür (130). Sova ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu kadınlarda serum VEGF düzeyleri yaş ve BKİ uyumlu kontrol grubuyla benzer olarak bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda kontrol grubunun sadece yaş uyumlu olduğu, BKİ uyumlu olmadığı ve serum VEGF düzeylerindeki farklılığın buna bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (131). Ng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu kadınlarda serum VEGF düzeyleri kontrol grubu ile benzer bulunmuştur (132).

Bizim çalışmamızda insülin direnci olan ve olmayan PKOS'lu kadınlarda serum VEGF düzeyleri kontrol grubu ile benzer bulundu.

PKOS'lu kadınlarda yapılan pek çok çalışmada artmış trigliserid ve LDL-kolesterol ve azalmış HDL-kolesterol düzeyini içeren lipid profil bozuklukları gösterilmiştir (108,117,118,133). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak insülin direnci olan grupta trigliserid düzeyleri yüksek, HDL-kolesterol düzeyleri düşük bulunmuştur. Total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç olarak, PKOS'lu hastalarda serum hsCRP, fibrinojen, ferritin, E-Selektin ve MMP-9'un yüksek olmasının kardiyovasküler hastalık riskini artırabileceği sonucuna varılmıştır. PKOS'da diğer kardiyovasküler hastalık risk faktörleri ile EPH arasında bir ilişki bulunmamıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1) İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre glukoz ve trigliserid seviyeleri anlamlı olarak yüksekken, HDL-kolesterol seviyesi anlamlı olarak düşük bulundu.

.

2) İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre hsCRP, fibrinojen ve ferritin seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu.

3) İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre E-Selektin ve MMP-9 seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu. ICAM-1, VCAM-1 ve VEGF seviyeleri yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi.

4) İnsülin direnci olmayan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre VCAM-1 seviyesi anlamlı olarak yüksek bulundu.

5) Her iki PKOS'lu hasta grubunda EPH sayısı kontrol grubu ile benzerdi.

6) PKOS'lu hastalarda serum hsCRP, fibrinojen, ferritin, VCAM-1, E-Selektin ve MMP-9'un yüksek olması endotelyal düzeyde mikroinflamasyon ve endotel hasarı ile ilgili olup ilerleyen süreçte kardiyovasküler hastalık riskini artırabilir.

7) PKOS'da diğer kardiyovasküler hastalık risk faktörleri ile endotel progenitör hücre arasında bir ilişki bulunmamıştır.

   a) İnsülin direnci ile EPH arasında hiçbir ilişki olmayabilir.

   b) Bu ilişki doğrudan hiperglisemiden kaynaklanabilir, bizim hasta grubumuzda henüz hiperglisemi yoktu.

   c) Hiperandrojenemi EPH sayısını artırabilir.

   d) EPH sayısının artmış olması gerekirken artmaması da patolojik olabilir.

7. ÖZET

POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA ENDOTEL PROGENİTÖR HÜCRE

Bu çalışma ile tüm dünyada yaygın olarak görülen bir endokrin patoloji olan PKOS'unda endotel progenitör hücreyi değerlendirmek; insülin direnci, obezite, dislipidemi ve inflamasyon gibi diğer kardiyovasküler risk faktörleri ile EPH arasındaki ilişkiyi incelemek amaçlandı. Bu amaçla, 40 tane yeni tanı konmuş ve hiç tedavi almamış, anovulatuar polikistik over sendromu vakası çalışmaya alındı. Hastalar insülin direnci bulunan ve bulunmayan olarak iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak yaş ve cins uyumlu 20 sağlıklı birey seçildi. Tüm gruplarda glukoz, insülin, C-peptid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid, folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinizan hormon (LH), östradiol, total testosteron, serbest testosteron, 17-alfa hidroksi progesteron, dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-SO4), hs C-reaktif protein (CRP), fibrinojen, ferritin, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), endotelyal lökosit adezyon molekülü-1 (E-Selektin) ve matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) ve EPH ölçümleri yapıldı. İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre glukoz ve trigliserid seviyeleri anlamlı olarak yüksekken, HDL-kolesterol seviyesi anlamlı olarak düşük bulundu. İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre hsCRP, fibrinojen ve ferritin seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu. İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre E-Selektin ve MMP-9 seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu. ICAM-1, VCAM-1 ve VEGF seviyeleri yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi. İnsülin direnci olmayan PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna göre VCAM-1 seviyesi anlamlı olarak yüksek bulundu. Her iki PKOS'lu hasta grubunda EPH sayısı kontrol grubu ile benzerdi. Yapılan korelasyon analizinde dikkat çekici bir sonuca rastlanmadı. Sonuç olarak, insülin direnci olan PKOS'lu hastalarda serum hsCRP, fibrinojen, ferritin, E-Selektin ve MMP-9'un daha belirgin olarak yüksek olmasının kardiyovasküler hastalık riskini artırabileceği sonucuna varılmıştır. PKOS'da diğer kardiyovasküler hastalık risk faktörleri ile endotel progenitör hücre sayısı arasında bir ilişki bulunmamıştır.

8. SUMMARY

ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS IN THE POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

In this study, we aimed to assess endothelial progenitor cells and to investigate the relationship between the EPC and insulin resistance, obesity, dyslipidemia, and other cardiovascular risk factors like inflammation, in the PCOS patients, which is a common endocrine pathology all over the world. For this purpose, 40 newly diagnosed and untreated, anovulatory polycystic ovary syndrome cases were enrolled into the study. Patients were divided into two groups according to the presence of insulin resistance. Age and sex matched control group of 20 healthy subjects were selected. Glucose, insulin, C-peptide, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol, total testosterone, free testosterone, 17-alpha-hydroxy progesterone, dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-SO4), high sensitive C-reactive protein (hs-CRP), fibrinogen, ferritin, vascular endothelial growth factor (VEGF), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (E-selectin) and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) levels and EPC count were measured. In PCOS patients group with insulin resistance, glucose and triglyceride levels were significantly higher than the control group and HDL-cholesterol levels were significantly lower. Also in this group hsCRP, fibrinogen, and ferritin levels were significantly higher than controls. In PCOS patients group with insulin resistance E-selectin and MMP-9 levels were significantly higher than controls, while ICAM-1, VCAM-1 and VEGF levels were higher but not statistically significantly. In PCOS patients group without insulin resistance, only VCAM-1 levels were significantly higher than controls. EPC counts were similar in both groups of the patients with PCOS and the control group. We did not find a remarkable result in correlation analysis. As a result, serum levels of hsCRP, fibrinogen, ferritin, E-selectin and MMP-9 were found to be elevated in PCOS predominantly in the patients with insulin resistance and may increase the risk of cardiovascular disease. In PCOS there is no correlation between cardiovascular disease risk factors and endothelial progenitor cell count.

9. KAYNAKLAR

1. Rosen MP, Cedars MI. Female reproductive endocrinology and infertility. In: Gardner DG, Shoback D. Basic & Clinical Endocrinology. Ninth edition, McGraw-Hill, 2011. pp.445-451.

2. Tarkun I, Arslan BC, Cantürk Z, Türemen E, Sahin T, Duman C. Endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome: relationship with insulin resistance and low-grade chronic inflammation. J Clin Endocrinol Metab. 89(11): 5592-5596, 2004.

3. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. Science. 275(5302):964-967, 1997.

4. Umemura T, Higashi Y. Endothelial progenitor cells: therapeutic target for cardiovascular diseases. J Pharmacol Sci. 108(1):1-6, 2008.

5. Cubbon RM, Rajwani A, Wheatcroft SB. The impact of insulin resistance on endothelial function, progenitor cells and repair. Diab Vasc Dis Res. 4(2):103-111, 2007.

6. Liew A, McDermott JH, Barry F, O'Brien T. Endothelial progenitor cells for the treatment of diabetic vasculopathy: panacea or Pandora's box? Diabetes Obes Metab.10(5): 353-366, 2008.

7. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. Circ Res. 6;89(1): E1-7, 2001.

8. Westerweel PE, Visseren FL, Hajer GR, Olijhoek JK, Hoefer IE, de Bree P, Rafii S, Doevendans PA, Verhaar MC. Endothelial progenitor cell levels in obese men with the metabolic syndrome and the effect of simvastatin monotherapy vs. simvastatin/ezetimibe combination therapy. Eur Heart J. 29(22): 2808-17, 2008.

9. Rajendran S, Willoughby SR, Chan WP, Liberts EA, Heresztyn T, Saha M, Marber MS, Norman RJ, Horowitz JD. Polycystic ovary syndrome is associated with severe platelet and endothelial dysfunction in both obese and lean subjects. Atherosclerosis. 204(2):509-514, 2009.

10. Dessapt-Baradez C, Reza M, Sivakumar G, Hernandez-Fuentes M, Markakis K, Gnudi L, Karalliedde J. Circulating vascular progenitor cells and central arterial stiffness in polycystic ovary syndrome. PLoS One. 6(5):20317, 2011.

11. Bairagi S, Gopal J, Nathan AA, Babu SS, Kumar NP, Dixit M. Glucose-induced increase in circulating progenitor cells is blunted in polycystic amenorrhoeic subjects.

Hum Reprod. 27(3):844-853, 2012.

12. Chan WP, Ngo DT, Sverdlov AL, Rajendran S, Stafford I, Heresztyn T, Chirkov YY, Horowitz JD. Premature Aging of Cardiovascular/Platelet Function in Polycystic Ovarian Syndrome. The American Journal of Medicine. 126, 640.e1-640.e7, 2013.

13. Bulun SE. Physiology and pathology of the female reproductive axis. In: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM. Williams Textbook of Endocrinology. 12th edition. Elsevier Saunders, 2011, pp. 622-632.

14. Karaca Z, Keleştimur F. Polikistik Over Sendromu: Tanı ve Etiyopatogenez. Turkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics. 2(2):17-22, 2009.

15. O'Meara NM, Blackman JD, Ehrmann DA, et al. Defects in beta-cell functional ovarian hyperandrogenism. J Clin Endocrinol Metab. 76:1241-1247, 1993.

16. Ojeda-Ojeda M, Murri M, Insenser M, Escobar-Morreale HF. Mediators of Low-Grade Chronic Inflammation in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). Curr Pharm Des. 19(32):5775-5791, 2013.

17. Diamanti-Kandarakis E, Paterakis T, Kandarakis HA. Indices of low-grade inflammation in polycystic ovary syndrome. Ann N Y Acad Sci. 1092: 175-186, 2006.

18. Seftel AD. Testosterone selectively reduces the high molecular weight form of adiponectin by inhibiting its secretion from adipocytes. J Urol. 174(3):1045-1046, 2005.

19. Kaipia A, Chun SY, Eisenhauer K, Hsueh AJ. Tumor necrosis factor-alpha and its second messenger, ceramide, stimulate apoptosis in cultured ovarian follicles. Endocrinology. 137(11):4864-4870, 1996.

20. Path G, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Scherbaum WA. Interleukin-6 and the interleukin-6 receptor in the human adrenal gland: expression and effects on steroidogenesis. J Clin Endocrinol Metab. 82(7):2343-2349. 1997

21. Ehrmann DA. Hirsutism and virilization. In: Jameson JL. Harrison's Endocrinology. Second edition. 2013; pp. 216-221.

22. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. Diabetes Care. 22(1):141-146, 1999.

23. Ehrmann DA, Liljenquist DR, Kasza K, Azziz R, Legro RS, Ghazzi MN; PCOS/Troglitazone Study Group. Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 91(1):48-53, 2006.

24. Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ, Nestler JE. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 90(4):1929-1935, 2005.

25. Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, Rich-Edwards JE, Stampfer MJ, Willett WC, Speizer FE, Manson JE. Menstrual cycle irregularity and risk for future cardiovascular disease. J Clin Endocrinol Metab. 87(5):2013-2017, 2002.

26. Barnes RB, Ehrmann DA. Hyperandrogenism, Hirsutism and the polycystic ovary syndrome. In: Jameson JL, De Groot LJ. Endocrinology Adult and Pediatric. Sixt edition. 2010; pp.2386-2406.

27. Tekeli SÖ, Emerk K. Endotel Progenitör Hücreler**.** Marmara Medical Journal .20(1);59-65, 2007.

28. Cubbon RM, Kahn MB, Wheatcroft SB. Effects of insulin resistance on endothelial progenitor cells and vascular repair Clin Sci (Lond). 3;117(5):173-190, 2009

29. Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildner-Rihm C, Adler K, Tiemann M, Rütten H, Fichtlscherer S, Martin H, Zeiher AM. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. J Clin Invest. 108(3):391-397, 2001.

30. Asahara, T.,Masuda, H., Takahashi, T., Kalka, C., Pastore, C., Silver, M., Kearne, M., Magner, M. and Isner, J. M. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. Circ. Res. 85, 221–228, 1999.

31. Wassmann S, Werner N, Czech T, Nickenig G. Improvement of endothelial function by systemic transfusion of vascular progenitor cells. Circ Res. 13;99(8):e74-83, 2006.

32. Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S, Matthaei S, Rett K, Häring HU. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. Circulation. 18;101(15):1780-1784, 2000.

33. Duncan ER, Walker SJ, Ezzat VA, Wheatcroft SB, Li JM, Shah AM, Kearney MT. Accelerated endothelial dysfunction in mild prediabetic insulin resistance: the early role of reactive oxygen species. Am J Physiol Endocrinol Metab. 293(5): E1311-1319, 2007.

34. Wheatcroft SB, Shah AM, Li JM, Duncan E, Noronha BT, Crossey PA, Kearney MT. Preserved glucoregulation but attenuation of the vascular actions of insulin in mice heterozygous for knockout of the insulin receptor. Diabetes. 53(10):2645-2652, 2004.

35. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. J Clin Invest. 1;97(11):2601-2610, 1996.

36. Ackah E, Yu J, Zoellner S, Iwakiri Y, Skurk C, Shibata R, Ouchi N, Easton RM, Galasso G, Birnbaum MJ, Walsh K, Sessa WC. Akt1/protein kinase Balpha is critical for ischemic and VEGF-mediated angiogenesis. J Clin Invest. 115(8):2119-2127, 2005.

37. Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, Szmitko PE, Zucco L, Wang CH, Badiwala MV, Mickle DA, Weisel RD, Fedak PW, Stewart DJ, Kutryk MJ. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease. Circulation. 4;109(17):2058-2067, 2004.

38. Rabelink TJ, de Boer HC, de Koning EJ, van Zonneveld AJ. Endothelial progenitor cells: more than an inflammatory response? Arterioscler Thromb Vasc Biol. 24(5):834-838, 2004.

39. Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. J Clin Invest. 1;100(9):2153-2157, 1997.

40. Thum T, Fraccarollo D, Galuppo P, Tsikas D, Frantz S, Ertl G, Bauersachs J. Bone marrow molecular alterations after myocardial infarction: Impact on endothelial progenitor cells. Cardiovasc Res. 1;70(1):50-60, 2006.

41. Thum T, Fraccarollo D, Schultheiss M, Froese S, Galuppo P, Widder JD, Tsikas D, Ertl G, Bauersachs J. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function in diabetes. Diabetes. 56(3):666-674, 2007.

42. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Böhm M, Nickenig G Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. N Engl J Med. 353(10):999-1007, 2005.

43. Shintani S., Murohara T., Ikeda H., Ueno T., Honma T., Katoh A., Sasaki K., Shimada T., Oike Y. and Imaizumi T. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. Circulation. 103, 2776–2779, 2001.

44. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. N Engl J Med. 13;348(7):593-600, 2003.

45. Scheubel RJ, Zorn H, Silber RE, Kuss O, Morawietz H, Holtz J, Simm A. Age-dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. J Am Coll Cardiol. 17;42(12):2073-2080, 2003.

46. Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C, Urbich C, Ihling C, Technau-Ihling K, Zeiher AM, Dimmeler S. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. Nat Med. 9(11):1370-1376, 2003.

47. Imanishi T, Hano T, Nishio I. Angiotensin II accelerates endothelial progenitor cell senescence through induction of oxidative stress. J Hypertens. 23(1):97-104, 2005.

48. Bahlmann FH, de Groot K, Mueller O, Hertel B, Haller H, Fliser D. Stimulation of endothelial progenitor cells: a new putative therapeutic effect of angiotensin II receptor antagonists. Hypertension. 45(4):526-529, 2005.

49. Zhou B, Ma FX, Liu PX, Fang ZH, Wang SL, Han ZB, Poon MC, Han ZC. Impaired therapeutic vasculogenesis by transplantation of OxLDL-treated endothelial progenitor cells. J Lipid Res. 48(3):518-527, 2007.

50. Llevadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H, Kawamoto A, Walsh K, Isner JM, Asahara T. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow--derived endothelial progenitor cells. J Clin Invest. 108(3):399-405, 2001.

51. Fadini GP, de Kreutzenberg SV, Coracina A, Baesso I, Agostini C, Tiengo A, Avogaro A. Circulating CD34+ cells, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. Eur Heart J. 27(18):2247-2255, 2006.

52. Fadini GP, Avogaro A. Potential manipulation of endothelial progenitor cells in diabetes and its complications. Diabetes Obes Metab. 12(7):570-583, 2010.

53. Fadini GP, Miorin M, Facco M et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus. J Am Coll Cardiol. 45: 1449–1457, 2005.

54. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, Levine JP, Gurtner GC. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. Circulation. 26;106(22):2781-2786, 2002.

55. Loomans CJ, de Koning EJ, Staal FJ et al. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes. Diabetes. 53: 195–199, 2004.

56. Ii M, Takenaka H, Asai J, Ibusuki K, Mizukami Y, Maruyama K, Yoon YS, Wecker A, Luedemann C, Eaton E, Silver M, Thorne T, Losordo DW. Endothelial progenitor thrombospondin-1 mediates diabetes-induced delay in reendothelialization following arterial injury. Circ Res. 17;98(5):697-704, 2006.

57. Badillo AT, Chung S, Zhang L, Zoltick P, Liechty KW. Lentiviral gene transfer of SDF-1alpha to wounds improves diabetic wound healing. J Surg Res. 143(1):35-42, 2007.

58. Egan CG, Lavery R, Caporali F, Fondelli C, Laghi-Pasini F, Dotta F, Sorrentino V. Generalised reduction of putative endothelial progenitors and CXCR4-positive peripheral blood cells in type 2 diabetes. Diabetologia. 51(7):1296-1305, 2008.

59. Kränkel N, Adams V, Linke A, Gielen S, Erbs S, Lenk K, Schuler G, Hambrecht R. Hyperglycemia reduces survival and impairs function of circulating blood-derived progenitor cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 25(4):698-703, 2005.

60. Pistrosch F, Herbrig K, Oelschlaegel U, Richter S, Passauer J, Fischer S, Gross P. PPARgamma-agonist rosiglitazone increases number and migratory activity of cultured endothelial progenitor cells. Atherosclerosis. 183(1):163-167, 2005.

61. Kuki S, Imanishi T, Kobayashi K, Matsuo Y, Obana M, Akasaka T. Hyperglycemia accelerated endothelial progenitor cell senescence via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. Circ J. 70(8):1076-1081, 2006.

62. Callaghan MJ, Ceradini DJ, Gurtner GC. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species and impaired endothelial progenitor cell function. Antioxid Redox Signal. 7(11-12):1476-1482, 2005.

63. Kusuyama T, Omura T, Nishiya D, Enomoto S, Matsumoto R, Takeuchi K, Yoshikawa J, Yoshiyama M. Effects of treatment for diabetes mellitus on circulating vascular progenitor cells. J Pharmacol Sci. 102(1):96-102, 2006.

64. Humpert PM, Djuric Z, Zeuge U, Oikonomou D, Seregin Y, Laine K, Eckstein V, Nawroth PP, Bierhaus A. Insulin stimulates the clonogenic potential of angiogenic endothelial progenitor cells by IGF-1 receptor-dependent signaling. Mol Med. 14(5-6):301-308, 2008.

65. Fadini GP, Baesso I, Agostini C, Cuccato E, Nardelli GB, Lapolla A, Avogaro A. Maternal insulin therapy increases fetal endothelial progenitor cells during diabetic pregnancy. Diabetes Care. 31(4):808-810, 2008.

66. Sorrentino SA, Bahlmann FH, Besler C, Müller M, Schulz S, Kirchhoff N, Doerries C, Horváth T, Limbourg A, Limbourg F, Fliser D, Haller H, Drexler H, Landmesser U. Oxidant stress impairs in vivo reendothelialization capacity of endothelial progenitor cells from patients with type 2 diabetes mellitus: restoration by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone. Circulation. 10;116(2):163-173, 2007.

67. Werner C, Kamani CH, Gensch C, Böhm M, Laufs U. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist pioglitazone increases number and function of endothelial progenitor cells in patients with coronary artery disease and normal glucose tolerance. Diabetes. 56(10):2609-2615, 2007.

68. Wang CH, Ting MK, Verma S, Kuo LT, Yang NI, Hsieh IC, Wang SY, Hung A, Cherng WJ. Pioglitazone increases the numbers and improves the functional capacity

of endothelial progenitor cells in patients with diabetes mellitus. Am Heart J. 152(6):1051-1058, 2006.

69. Yoshioka T, Takahashi M, Shiba Y, Suzuki C, Morimoto H, Izawa A, Ise H, Ikeda U. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) accelerates reendothelialization and reduces neointimal formation after vascular injury in mice. Cardiovasc Res. 1;70(1):61-69, 2006.

70. Huang P, Li S, Han M, Xiao Z, Yang R, Han ZC. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes. Diabetes Care. 28(9):2155-2160, 2005.

71. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N, Grünwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). Circulation. 10;106(24):3009-3017, 2002.

72. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, Kim YJ, Soo Lee D, Sohn DW, Han KS, Oh BH, Lee MM, Park YB. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. Lancet. 6;363(9411):751-756, 2004.

73. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Kalka-Moll WM, Silver M, Kearney M, Li T, Isner JM, Asahara T. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. Proc Natl Acad Sci U S A. 28;97(7):3422-3427, 2000.

74. Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, Yamaguchi JI, Uchida S, Masuda H, Silver M, Ma H, Kearney M, Isner JM, Asahara T. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. Circulation. 6;103(5):634-637, 2001.

75. Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M, Nickenig G. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. Circ Res. 25;93(2):17-24, 2003.

76. Rauscher FM, Goldschmidt-Clermont PJ, Davis BH, Wang T, Gregg D, Ramaswami P, Pippen AM, Annex BH, Dong C, Taylor DA. Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis. Circulation. 29;108(4):457-463, 2003.

77. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, et al.: Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. Circulation. 93:1493-1495, 1996.

78. Kaiser PK.: Antivascular endothelial growth factor agents and their development: therapeutic implications in ocular disease. Am J. Ophthalmol. 142:660-668, 2006.

79. Kasama T, Shiozawa F, Kobayashi K, Yajima N. Vascular endothelial growth factor expression by activated synovial leukocytes in rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheumatism. 44: 2512-2524, 2001.

80. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH.: Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). J Cell Mol Med. 9:777-794, 2005.

81. Bren E C. VEGF in Biological Control. Journal of Cellular Biochemistry 102: 1358-1367, 2007.

82. Nazmiye EROL. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü ve Anti-VEGF Ajanlar Ret-Vit 15:Özel Sayı:35-40, 2007.

83. Amano S. Akutsu N. Matsunaga Y, Nishiyama T, Champliaud M.F, Burgeson R.E. and Adachi E. Importance of balance between extracellular matrix synthesis and degradation in basement membrane formation. Exp. Cell Res.: 10;271(2):249-262,2001.

84. Chakrabarti S, Patel KD. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. Exp Lung Res. 31(6):599-621, 2005.

85. Mohan MJ, Seaton T, Mitchell J, Howe A, Blackburn K, Burkhart W, et al. The tumor necrosis factor-alpha converting enzyme (TACE): a unique metalloproteinase with highly defined substrate selectivity. Biochemistry. 41(30):9462-9469,2002.

86. Atkinson JJ, Senior RM. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling. Am J Respir Cell Mol Biol. 28(1):12-24, 2003.

87. Baram D, Vaday GG, Salamon P, Drucker I, Hershkoviz R, Mekori YA. Human mast cells release metalloproteinase-9 on contact with activated T cells: juxtacrine regulation by TNF-alpha. J Immunol. 167(7):4008-4016, 2001.

88. Hristov M, Weber C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. J Cell Mol Med. 8(4):498-508, 2004**.**

89. Schmid-Schönbein GW. Analysis of inflammation. Annu Rev Biomed Eng. 8:93-131, 2006.

90. Cook-Mills JM. VCAM-1 signals during lymphocyte migration: role of reactive oxygen species. Mol Immunol. 39(9):499-508, 2002.

91. Mulvihill NT, Foley JB, Crean P, Walsh M. Prediction of cardiovascular risk using soluble cell adhesion molecules. Eur Heart J. 23(20):1569-1574, 2002.

92. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. Diabetes Care. 21: 2191-2192, 1998.

.

93. Diamanti-Kandarakis E, Paterakis T, Alexandraki K, Piperi C, Aessopos A, Katsikis

I, Katsilambros N, Kreatsas G, Panidis D. Indices of low-grade chronic inflammation in polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin. Hum Reprod. 21(6):1426-1431, 2006.

94. Kelly CC, Lyall H, Petrie JR, Gould GW, Connell JM, Sattar N. Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 86(6): 2453-2455, 2001.

95. Fenkci V, Fenkci S, Yilmazer M, Serteser M. Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. Fertil Steril. 80(1):123-127, 2003.

96. Boulman N, Levy Y, Leiba R, Shachar S, Linn R, Zinder O, Blumenfeld Z. Increased C-reactive protein levels in the polycystic ovary syndrome: a marker of cardiovascular disease. J Clin Endocrinol Metab. 89(5):2160-2165, 2004 .

97. Orio F Jr, Palomba S, Cascella T, Di Biase S, Manguso F, Tauchmanovà L, Nardo LG, Labella D, Savastano S, Russo T, Zullo F, Colao A, Lombardi G.
The increase of leukocytes as a new putative marker of low-grade chronic inflammation and early cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 90(1):2-5, 2005.

98. Moran LJ, Noakes M, Wittert GA, Clifton PM, Norman RJ.Weight loss and vascular inflammatory markers in overweight women with and without polycystic ovary syndrome. Reprod Biomed Online. 25(5):500-503, 2012**.**

99. González F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP. Evidence of proatherogenic inflammation in polycystic ovary syndrome. Metabolism. 58(7):954-962, 2009.

100. Diamanti-Kandarakis E, Alexandraki K, Piperi C, Protogerou A, Katsikis I, Paterakis T, Lekakis J, Panidis D. Inflammatory and endothelial markers in women with polycystic ovary syndrome. Eur J Clin Invest. 36(10):691-697, 2006.

101. Nasiek M, Kos-Kudła B, Ostrowska Z, Marek B, Kajdaniuk D, Siemińska L, Foltyn W. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule-1 in women with polycystic ovary syndrome. Gynecol Endocrinol. 19(4):208-215, 2004.

102. Seow KM, Juan CC, Wang PH, Ho LT, Hwang JL. Expression levels of vascular cell adhesion molecule-1 in young and nonobese women with polycystic ovary syndrome.
Gynecol Obstet Invest. 73(3):236-241, 2012.

103. Victor VM, Rocha M, Bañuls C, Alvarez A, de Pablo C, Sanchez-Serrano M, Gomez M, Hernandez-Mijares A. Induction of oxidative stress and human leukocyte/endothelial cell interactions in polycystic ovary syndrome patients with insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab. 96(10):3115-3122, 2011.

104. Foltyn W, Strzelczyk J, Marek B, Kajdaniuk D, Siemińska L, Zemczak A, Blicharz-Dorniak J, Kos-Kudła B. Selected markers of endothelial dysfunction in women with polycystic ovary syndrome. Endokrynol Pol. 62(3):243-248, 2011.

105. Repaci A, Gambineri A, Pasquali R. The role of low-grade inflammation in the polycystic ovary syndrome. Mol Cell Endocrinol. 15;335(1):30-41, 2011.

106. Mannerås-Holm L, Baghaei F, Holm G, Janson P O, Ohlsson C, Lo M, Stener-Victorin E. Coagulation and Fibrinolytic Disturbances in Women with Polycystic Ovary Syndrome. J. Clin. Endocrinol Metab. 96: 1068–1076, 2011.

107. MohamadinA M, Habib FA, Al-Saggafb A A. Cardiovascular disease markers in women with polycystic ovary syndrome with emphasis on asymmetric dimethylarginine and homocysteine. Ann Saudi Med. 30(4): 278–283, 2010.

108. Erdogan M, Karadeniz M, Berdeli A, Tamsel S, Yilmaz C. The relationship of the interleukin-6 -174 G>C gene polymorphism with cardiovascular risk factors in Turkish polycystic ovary syndrome patients. Int J Immunogenet. 36(5):283-288, 2009.

109. Erdoğan M, Karadeniz M, Alper GE, Tamsel S, Uluer H, Cağlayan O, Saygili F, Yilmaz C. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and cardiovascular risk factors in polycystic ovary syndrome. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 116(3):143-147, 2008.

110. Atiomo WU, Bates SA, Condon JE, Shaw S, West JH, Prentice AG
The plasminogen activator system in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 69(2):236-241, 1998.

111. Nasiek M, Kos-Kudla B, Ostrowskab Z, Mareka B, Kudla M, Siemi´nska L, Kajdaniuk D, Foltyn W, Zemczaka A. Acute phase proteins: C-reactive protein and fibrinogen in young women with polycystic ovary syndrome. Pathophysiology. 14; 23–28, 2007.

112. Kebapcilar L, Eftal Taner C, Kebapcilar A G, Sari I. High mean platelet volume, low-grade systemic coagulation and fibrinolytic activation are associated with androgen and insulin levels in polycystic ovary syndrome. Arch Gynecol Obstet. 280:187–193, 2009.

113. Lenarcik A, Bidzińska-Speichert B, Tworowska-Bardzińska U. The role of chronic inflammation and Leu55Met PON1 polymorphism in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome. Gynecol Endocrinol. 26(9):673-683, 2010.

114. Karakurt F, Gumus II, Bavbek N, Kargili A, Koca C, Selcoki Y, Ozbek M, Kosar A, Akcay A. Increased thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor antigen levels as a clue for prothrombotic state in polycystic ovary syndrome. Gynecol Endocrinol. 24(9):491-497, 2008.

115. Yildiz BO, Haznedaroğlu IC, Kirazli S, Bayraktar M. Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. J Clin Endocrinol Metab. 87(8):3871-3875, 2002.

116. Toulis KA, Goulis DG, Mintziori G, Kintiraki E, Eukarpidis E, Mouratoglou SA, Pavlaki A, Stergianos S, Poulasouchidou M, Tzellos TG, Makedos A, Chourdakis M, Tarlatzis BC. Meta-analysis of cardiovascular disease risk markers in women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod Update. 17(6):741-760, 2011.

117. Karadeniz M, Erdoğan M, Ayhan Z, Yalcin M, Olukman M, Cetinkalp S, Alper GE, Eroglu Z, Tetik A, Cetintas V, Ozgen AG, Saygili F, Yilmaz C. Effect Of G2706A and G1051A polymorphisms of the ABCA1 gene on the lipid, oxidative stress and homocystein levels in Turkish patients with polycystıc ovary syndrome. Lipids Health Dis. 28;10:193, 2011.

118. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramírez M. Role of androgen-mediated enhancement of erythropoiesis in the increased body iron stores of patients with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 95(5):1730-1735, 2011.

119. Luque-Ramírez M, Alpañés M, Escobar-Morreale HF. The determinants of insulin sensitivity, β-cell function, and glucose tolerance are different in patients with polycystic ovary syndrome than in women who do not have hyperandrogenism. Fertil Steril. 94(6):2214-2221, 2010.

120. Martínez-García MA, Luque-Ramírez M, San-Millán JL, Escobar-Morreale HF Diabetes Care. Body iron stores and glucose intolerance in premenopausal women: role of hyperandrogenism, insulin resistance, and genomic variants related to inflammation, oxidative stress, and iron metabolism. 32(8):1525-1530, 2009.

121. Yildir IC, Kutluturk F, Tasliyurt T, Yelken BM, Acu B, Beyhan M, Erkorkmaz U, Yilmaz A. Insulin resistance and cardiovascular risk factors in women with PCOS who have normal glucose tolerance test. Gynecol Endocrinol. 29(2):148-151, 2013.

122. Lewandowski KC, Komorowski J, O'Callaghan CJ, Tan BK, Chen J, Prelevic GM, Randeva HS. Increased circulating levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in women with the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 91(3):1173-1177, 2006.

123. Baka S, Zourla K, Kouskouni E, Makrakis E, Demeridou S, Tzanakaki D, Hassiakos D, Creatsas G. Matrix metalloproteinases 2 and 9 and their tissue inhibitors in the follicular fluid of patients with polycystic ovaries undergoing in vitro fertilisation. In Vivo. 24(3):293-296, 2010.

124. Liu B, Cai LY, Lv HM, Xia L, Zhang YJ, Zhang HX, Guan YM. Raised serum levels of matrix metalloproteinase-9 in women with polycystic ovary syndrome and its association with insulin-like growth factor binding protein-1. Gynecol Endocrinol. 24(5):285-288, 2008.

125. Gomes VA, Vieira CS, Jacob-Ferreira AL, Belo VA, Soares GM, Fernandes JB, Ferriani RA, Tanus-Santos JE. Imbalanced circulating matrix metalloproteinases in polycystic ovary syndrome. Mol Cell Biochem. 353(1-2):251-257, 2011.

126. El Behery MM, Diab AE, Mowafy H, Ebrahiem MA, Shehata AE. Effect of laparoscopic ovarian drilling on vascular endothelial growth factor and ovarian stromal blood flow using 3-dimensional power Doppler. Int J Gynaecol Obstet. 112(2):119-121; 2011.

127. Artini PG, Monti M, Matteucci C, Valentino V, Cristello F, Genazzani AR Gynecol Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in polycystic ovary syndrome during controlled ovarian hyperstimulation. Endocrinol. 22(8):465-470, 2006.

128. Abd El Aal DE, Mohamed SA, Amine AF, Meki AR. Vascular endothelial growth factor and insulin-like growth factor-1 in polycystic ovary syndrome and their relation to ovarian blood flow. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 118(2):219-224, 2001.

129. Amin AF, Abd el-Aal DE, Darwish AM, Meki AR. Evaluation of the impact of laparoscopic ovarian drilling on Doppler indices of ovarian stromal blood flow, serum vascular endothelial growth factor, and insulin-like growth factor-1 in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 79(4):938-941, 2003.

130. Agrawal R, Sladkevicius P, Engmann L, Conway GS, Payne NN, Bekis J, Tan SL, Campbell S, Jacobs HS. Serum vascular endothelial growth factor concentrations and ovarian stromal blood flow are increased in women with polycystic ovaries. Hum Reprod. 13(3):651-655, 1998.

131. Sova H, Morin-Papunen L, Puistola U, Karihtala P. Distinctively low levels of serum 8-hydroxydeoxyguanosine in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 94(7):2670-2673, 2010.

132. Ng EH, Chan CC, Yeung WS, Ho PC. Comparison of ovarian stromal blood flow between fertile women with normal ovaries and infertile women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod. 20(7):1881-1886, 2005.

133. Rashad NM, El-Shal AS, Abdelaziz AM. Association between inflammatory biomarker serum procalcitonin and obesity in women with polycystic ovary syndrome. J Reprod Immunol. 97(2):232-239, 2013.