

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA ADİPONEKTİN
GEN POLİMORFİZMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Halef AYDIN

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Fatma Ferda VERİT**

**ŞANLIURFA
2009**

TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince; bilgisini ve deneyimini esirgemeyen, araştırmacı yönü ile bana her zaman yol gösteren mesleki eğitimime büyük katkıları olan başta anabilim dalı başkanımız ve tez danışmanım saygıdeğer hocam Doç.Dr.Fatma Ferda VERİT, ve diğer hocalarım Yrd.Doç.Dr.Hakan CAMUZCUOĞLU, Yrd.Doç.Dr.Harun TOY ve Yrd.Doç.Dr.Mehmet VURAL 'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Rotasyonda bulunduğum bölüm hocalarım ve asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada 'adiponektin gen polimorfizmini' çalışan Yrd.Doç.Dr.Fuat DİLMEÇ'e teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum başta hocalarım olmak üzere asistan arkadaşlarım, ameliyathane ve kliniğimiz hemşirelerine yardımları ve paylaşımları için teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca sevgi ve desteğini her zaman hissettiğim bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan babam, annem ve ağabeylerime en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamıma girdiği ilk günden beri büyük bir özveri ve sabır ile her zaman bana destek olan, inanan hayat arkadaşım sevgili Eşime ve biricik Kızıma teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Halef AYDIN

İÇİNDEKİLER	Sayfa
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	iv
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1 POLİKİSTİK OVER SENDROMU	2
2.1.1 Tanım ve Tarihçe	2
2.1.2 Prevelans ve Epidemiyoloji	2
2.2 PKOS'UN TİPLERİ	3
2.2.1 Klasik PCOS	3
2.2.2 Atipik PKOS	3
2.2.3 Fonksiyonel Over Hiperandrojenemi(FOH)	4
2.2.4 Fonksiyonel Adrenal Hiperandrojenemi(FAH)	4
2.3 PKOS ETYOPATOGENEZİ	4
2.4 GENETİK NEDENLER	8
2.5 PKOS TANI KRİTERLERİ	8
2.5.1 1990 Yılı Birleşmiş Milletler Uluslararası Sağlık Örgütü (NIH) Kriterleri	8
2.5.2 2003 Rotterdam ASRM/ESHRE Kriterleri	9
2.5.3 2006 Androgen Excess Society (AES) Kriterleri	10
2.5.4 Polikistik Overlerin Ultrasonografik Tanı Kriterleri	11
2.6 ANDROJENLERİN, BİYOSENTEZİ ve METEBOLİZMASI	13
2.7 PKOS'TA KLİNİK BULGULAR	15
2.7.1 Hirsutizmus (Kıllanma)	15
2.7.2 Kıl Gelişimi	15
2.7.2.1 Lunago	16
2.7.2.2 Vellus tipi kıllar	16

2.7.2.3 Terminal kıllar	16
2.7.3 Kıl Büyümesini Etkileyen Faktörler	16
2.7.3.1 Lokal ve sistemik faktörler	16
2.7.3.2 Deri 5 alfa redüktaz enzim aktivitesi	17
2.7.3.3 Seks Steroidleri	17
2.7.4 Hirsutizmin Klinik Olarak Değerlendirilmesi ve Tanısı	17
2.7.5 Menstruel Düzensizlikler	20
2.7.6 İnfertilite	20
2.7.7 Akantozis Nigrikans	20
2.7.8 Obesite	21
2.8 UZUN DÖNEM SAĞLIK RİSKLERİ	21
2.8.1 İnsülin Direnci, Glikoz İntoleransı ve Tip II DM	21
2.8.2 Lipid Profili ve Kardiovasküler Hastalık	22
2.8.3 Kanser	22
2.9 POLİKİSTİK OVER SENDROMU VE GENETİK	23
2.9.1 LH ve LH Reseptör Geni	24
2.9.2 Androjen Reseptör Geni	24
2.9.3 İnsülin Sekresyon ve Etkisi ile İlişkili Genler (INS-VNTR)	24
2.9.4 Follistatin Geni	25
2.9.5.SHBG Geni	25
2.9.6 CYP21 (P450c21 α) Gen	25
2.9.7 Calpain-10 Geni (CAPN10)	25
2.9.8 Adiponektin Geni	25
3.MATERYAL VE METOD	29
3.1 Hasta Seçimi	29
3.2 Çalışma Protokolü	29
3.3 Kan örnekleri	30
3.4 DNA İzolasyonu	30
3.4.1 Primerler	30
3.5 PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu)	31
3.6 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Analizi	32
3.7 Elektroforez	32

3.8 Değerlendirme	33
3.9 İstatistik	34
4.BULGULAR	35
5.TARTIŞMA	37
6. SONUÇ	42
7.KAYNAKLAR	43

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo-1 PKOS'lu olgularda insülin direnci olasılığını gösteren klinik ve biyokimyasal bulgular.	5
Tablo-2 PKOS tanı kriterlerine göre olası fenotipleri	10
Tablo-3 PKOS tanı kriterleri	11
Tablo-4 Adiponektin geni üzerinde seçilen primer dizileri	31
Tablo-5 PKOS ve kontrol grubunda klinik ve laboratuvar özellikleri	35
Tablo-6 PKOS ve kontrol grubunda <i>Adiponektin</i> geni polimorfizmlerinin dağılımı.	36

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil-1 PKOS etyopatogenezi	7
Şekil-2 Steroid hormon biyosentezi	14
Şekil-3 Modifiye Ferriman-Gallwey skorlama sistemi	19
Şekil-4 <i>Adiponektin</i> geni 4522C>T polimorfik noktasının <i>Hinfl</i> kesim profili	33
Şekil-5 <i>Adiponektin</i> geni 10211T>G noktasına ait <i>Hinfl</i> kesim profili	34
Şekil-6 <i>Adiponektin</i> geni 45T>G polimorfik noktasının <i>Bsp</i> HI kesim profili	34

KISALTMALAR :

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
ADİPOQ	Adiponektin
AES	Androgen Excess Society
ASRM	American Society for Reproductive Medicine
BMI	Body Mass İndex
C	Sitozin
CI	Güven aralığı
CRP	C-reaktif protein
DHEAS	Dihidroepiandrosteron sülfat
DM	Diabetes Mellitus
ESHRE	European Society for Human Reproduction and Embryology
FAH	Fonksiyonel adrenal hiperandrojenemi
FOH	Fonksiyonel over hiperandrojenemi
FSH	Folikül uyarıcı hormon
G	Guanin
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
IGF-I	İnsülin benzeri büyüme faktörü-I
IGFBP-I	İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-I
IGT	Bozulmuş glikoz toleransı
IL	İnterlökin
INS-VNTR	İnsülin sekresyon ve etkisi ile ilişkili genler
KAH	Konjenital adrenal hiperplazi
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LH	Lüteinizan hormon
NIH	National Institutes Of Health
NKAH	Klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi
OD	Otozomal dominant
OR	Odds oranı(Olasılık oranı)
PAI	Plazminojen aktivatör inhibitörü
PCOS/PKOS	Polikistik over sendromu
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PKO	Polikistik over
PRL	Prolaktin
RIA	Radyoimmunoassay
RFLP	Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi
SHBG	Seks hormonu bağlayan globulin
SNP	Tek nükleotid değişimi
T	Timin
TNF- α	Tümör nekroze edici faktör alfa
VKİ	Vücut kütle indeksi
17-OHP	17 hidroksi progesteron

ÖZET

POLİKİSTİK OVER SENDROMUNDA ADİPONEKTİN GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Halef AYDIN

Kadın Hastalıkları ve Doğum, Uzmanlık Tezi

Amaç: Bu çalışmanın amacı polikistik over(PKOS) hastalarında adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri araştırılması idi.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamıza Ocak 2008– Haziran 2009 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvuran 51 PKOS'lu hasta (18-35 yaş arası, ortalama yaş 26.49±4.187) ve 49 sağlıklı birey (18-35 yaş arası ortalama yaş 26.24±4.54) olmak üzere toplam 100 olgu çalışmaya dahil edildi. PKOS tanısı 2003 Rotterdam kriterleri esas alınarak konuldu. Kontrol grubu 28±7 günlük intervallerle adet gören, Modifiye Ferriman Gallwey skoru < 8 olan ve pelvik ultrasonografide unilateral veya bilateral polikistik over görünümü olmayan olgulardan oluştu. PKOS tanısı konmuş 51 hasta birey ve aynı yaş grubunda olan 49 sağlam kişiden 2'şer ml EDTA'lı tam kan alındı ve kanlar DNA izolasyonuna kadar -20°C'de stoklandı.

Bulgular: PKOS ve kontrol grubu arasında yaş değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). İki grup arasında BMI, DHEAS, glukoz /insulin oranı ve total testosteron istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklıydı ($p<0.05$). Adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri açısından PKOS'lu hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Sonuç: Çalışmamızda PKOS grubu hastalar ile kontrol grubu arasında adiponektin geni polimorfizmi bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Adiponektin gen polimorfizmi PKOS etyolojisinde önemli bir rol almadığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: PKOS, Adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri

ABSTRACT

ADIPONECTIN GENE POLYMORPHISM IN POLYCYSTIC OVER SYNDROME

Dr. Halef Aydın

Obstetrics and Gynecology, Residency Thesis

Objective: The aim this study was to investigate adiponectin gene 4522C>T, 10211T>G and 45T>G polymorphisms in polycystic ovary syndrome(PCOS) patients.

Materials and Methods: A total of 100 women, 51 PCOS (between 18-35 years old, mean age 26.49±4.187), 49 healthy women (between 18-35 years old, mean age 26.24±4.54) were enrolled in the study between January 2008 - June 2009 in Harran University Faculty of Medicine, Department of Gynecology and Obstetrics. PCOS was defined on basis of 2003 Rotterdam criteria. Control group was consisted of healthy women that menstruates between 28 ± 7 days interval, had Modified Ferriman Gallwey score <8 and normal appearing ovaries at pelvic ultrasonography. 2 ml of whole blood with EDTA was taken and blood was stored at -20 ° C until isolation.

Results: There was no significant difference in terms of age between PCOS and the control groups (p>0.05). BMI, DHEAS, total testosterone and glucose / insulin ratio were statistically different in both groups (p<0.05; for all). There was no significant difference in adiponectin gene 4522C> T, 10211T> G and 45T> G polymorphisms between PCOS patient and control groups (p> 0.05).

Conclusion: Adiponectin gene polymorphism was not found to be statistically significant between PCOS patients and controls. It was suggested that adiponectin gene polymorphism does not have an important role in etiology of PCOS.

Key Words: PCOS, Adiponectin gene 4522C> T, 10211T> G and 45T> G polimorphism

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Polikistik over sendromu(PKOS), ilk kez 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından obezite, hirsutizm, infertilite ve polikistik over morfolojisi olan bir kadında tanımlanmıştır [1]. PKOS, en sık görülen endokrinopatilerden biridir ve reproduktif dönemdeki kadınların %5-10'unda rastlanmaktadır [2]. Anovulatuvar infertilitenin en sık nedenidir. Klinik olarak hirsutizm, sebore, akne gibi hiperandrojeneminin klinik bulguları yanında artmış plazma androjen düzeyinin biri ya da bir kaçının kombinasyonu vardır [3].

PKOS, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan ve bireysel farklılıklardan dolayı heterojen görünüm sergileyen ailesel kompleks bir hastalıktır. Genetik temeli ve kalıtım şekli henüz aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, sendromun gelişiminde farklı metabolik yollarda aday olduğu düşünülen genlerdeki polimorfizmler çalışılarak genetik temeli araştırılmaktadır [4,5]. Bu amaçla steroid üretimi ve etki mekanizmalarında ifadelenen genler, gonadotropin salınımı ve düzenlenmesinde rolü olan genler, insülin salınımında görevli olan genler ve enerji metabolizmasında rolü olan genlerdeki polimorfizmler çalışılmaktadır [6].

PKOS çeşitli endokrin ve üreme ile ilgili bozukluklara yol açabilen familyal bir hastalıktır. Ancak, genetik alt yapısı tam olarak açıklık kazanmamıştır. PKOS'un genetik temeline yönelik yapılan çalışmalarda 30 dan fazla gen üzerinde çalışılmıştır [4,7,8]. Bunlardan birisi olan adiponektin geni, 17 kb'lık 3 ekson ve 2 introndan oluşur ve 3q27 kromozomunda lokalizedir [9-11]. Bu gendeki polimorfizmin obezite ve insülin direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada sağlıklı bireyler ile PCOS teşhisi konulmuş bireylerde adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 POLİKİSTİK OVER SENDROMU

2.1.1 Tanım ve Tarihçe

PKOS, ilk kez 1935 yılında Stein ve Leventhal tarafından obezite, hirsutismus, amenore ve büyümüş polikistik overleri olan hasta grubu olarak tanımlanmıştır. Asemptomatik olgularda ultrasonografik incelemede overlerin polikistik görünmesi ile semptomatik olgularda infertilite, obesite ve hiperandrojenemiye neden olan geniş spectruma sahip heterojen bir klinik tablodur [1]. İnsülin ve hiperandrojenizm ilişkisine ilk kez 1921'de Achard ve Theirs isimli araştırmacılar dikkati çekmiştir [12]. 1958 yılında McArthur ve arkadaşları, polikistik overli kadınlarda yüksek luteinize hormon (LH) düzeyleri gözlemişler ve 1971 yılında radyoimmunoassay(RIA) tekniğinin kullanıma girmesiyle biyokimyasal tanı gündeme gelmiştir.1976 yılında Kahn ve arkadaşları ve 1980 yılında Burghen ve arkadaşları, insülin direnci ve polikistik over sendromu arasında ilişki kurarak bu konuda kilometre taşı oluşturmuşlardır.

Polikistik overlerin ultrasonografik bulgusu, 1981 yılında Swanson ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. 1985 yılında ise Adams ve arkadaşları, polikistik overlerin ultrasonografik varlığının tanı kriteri olabileceğini açıklamışlardır [13].

PKOS, disfonksiyonel uterin kanama, infertilite, obezite, TipII Diabetes Mellitus (TipII DM), endometrial karsinom, dislipidemi, hipertansiyon ve olası kardiyovasküler hastalıklar gibi reproduktif, endokrin, metabolik ve onkolojik etkileri olan bir durum olup kadın anovulatuvar infertilitesinin en sık sebebi olarak karşımıza çıkmaktadır [1].

2.1.2 Prevelans ve Epidemiyoloji

PKOS'nun sıklığı reproduktif çağıdaki kadınlarda %5-10,ergenlik dönemindeki kızlarda %3 olarak bildirilmektedir [14]. Polikistik overler (PKO) ile Polikistik Over Sendromu (PKOS) birbiri ile karıştırılmamalıdır. Toplumdaki bazı normal kadınlarda tesadüfi olarak PKOS'e rastlanabilmektedir. Reproduktif dönemdeki kadın popülasyonunun PKOS açısında yapılan ultrason değerlendirmelerinde prevelansın %21–22 civarında olduğu tesbit edilmiştir. PKOS ise bir grup semptomlar topluluğuna sahip kadınlarda polikistik overlerin bulunmasıdır [15-17].

1990 National Institutes Of Health(NIH) kriterlerine göre doğurganlık dönemindeki kadınların % 6,5-8'inde PKOS görülmektedir [18]. Oysa 2003 Rotterdam kriterlerine göre yapılan prevelans çalışmalarında bu oranın 2-3 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir [19]. NIH 1990 ve Rotterdam 2003 kriterlerine göre PKOS prevelansını kıyaslayan daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır [18].

Obesite, insülin direnci, TipII DM ve oligo ovulatuvar infertilite gibi durumlar artmış PKOS prevelansı ile birlikte. PKOS'lu kadınların % 40-50 ' si obez [20-23], en az % 50 'sinde insülin direnci [24], %25-30 'unda bozulmuş glikoz toleransı ve %8'inde Tip II DM görülmektedir [25].

Normal kadınların %16-25'inde başka hiçbir bulgu olmadan PKO vardır [26;27]. Anovulasyonu olan kadınların ise %75 'inde PKO görülmektedir [28].

2.2 PKOS'UN TIPLERİ

2.2.1 Klasik PCOS

Klasik PKOS, ilk defa 1935 yılında Stein-Leventhal tarafından tanımlanan amenore, polikistik görünümlü overler, hirsutismus ve obesiteyi içeren klasik formdur [13]. Sendromla ilgili çalışmalar ve hasta sayısı arttıkça hastaların sadece % 50 sinde sendromun tanımlanan bütün özelliklerini taşıdığı anlaşılmıştır. Klasik PKOS'lu kadınların yaklaşık %65'inde hirsutismus ,%65'inde anovulatuvar semptomlar ve %50'sinde obesite mevcuttur [22;29]. Klasik PKOS'un laboratuvar bulguları arasında hiperandrojenemiye eşlik eden ultrasonografik olarak tesbit edilmiş polikistik over görünümü ve artmış LH/FSH(foliküler uyarıcı hormon) oranı vardır. Ancak, günümüzde bu bulguların her ikisinde tanı için gerekli görülen laboratuvar verileri olarak kabul görmemektedir [21;22;30].

2.2.2 Atipik PKOS

Atipik PKOS, ultrasonografik anormallikler olmaksızın, başka sebeplerle açıklanamayan kronik androjen artışı olan bireyler için kullanılmaktadır. Ergenlik çağında ve erişkin dönemde klinik ve laboratuvar verilerinde izlenen heterojenite nedeniyle hastaların yaklaşık yarısı bu gruba girmektedir [21].

PKOS'undaki androjen artışının kaynağı çoğunlukla fonksiyonel over hiperandrojenemisi(FOH), az sıklıkla ise fonksiyonel adrenal hiperandrojenemidir(FAH) [21;22].

2.2.3 Fonksiyonel Over Hiperandrojenemi(FOH)

FOH, PKOS'lu olgularda %80 saptanan gonadotropin hormon bağımlı aşırı androjen üretimidir. Overlerde androjen üretiminde bozukluk söz konusu olup, gonodotropin uyarımına aşırı şekilde steroidogenik yanıt vardır. Normalde overlerde androjn üretimi ağırlıklı olarak LH uyarımı ile korpus luteumda yapılır. Daha sonra FSH etkisi ile androjenler östrojene dönüşür. Fakat FOH'li olgularda gonodotropinlere verilen aşırı yanıt sonucu LH etkisiyle intraovaryan androjen yoğunluğu artar. Özellikle testesteronda gözlenen artış sonucu küçük foliküller büyür ve tek bir folikülün dominant folikül haline gelmesi engellenir [31-33].

2.2.4 Fonksiyonel Adrenal Hiperandrojenemi(FAH)

FAH, PKOS'lu hastaların %25'inde saptanan glukokortikoidler tarafından baskılanabilen adrenokortikotropik hormona(ACTH) bağımlı 17 ketosteroid artışıdır [33;34]. FAH ve FOH olgularının birbiri ile etkileşimi over ve adrenal bezde benzer steroidogenik üretim aşamalarının yer almasından kaynaklanır. Özellikle p450c 17 α enzim aktivitesinin hem over hemde adrenallerde mevcut olması buna örnek teşkil etmektedir [22;33;34].

2.3 PKOS ETYOPATOGENEZİ

PKOS, etyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılmamakla birlikte genetik yatkınlık, gonadotropin salgısında ve over steroid yapımında bozukluk, insülin direnci ve buna bağlı kompensatuvar hiperinsülinemi rol oynamaktadır [35]. Bazı araştırmacılar, PKOS etyopatogenezinde insülin direncini, diğerleri ise hiperandrojenizmi anahtar neden olarak düşünmektedir. Azziz ve arkadaşları, PKOS'lu olguların çoğunun insülin direnci ve hiperinsülinemiye sahip olmalarına karşın, hastalıkta endokrin bozukluklardan sorumlu anahtar nedenin hiperandrojenizm olduğunu öne sürmektedir [36]. Lobo ise hiperandrojenizmin PKOS tanımında önemli olduğunu; ancak tanısız ölçüt olarak kullanılamayacağını ileri sürmektedir [37].

Son yıllarda PKOS etyopatogenezinde en çok suçlanan neden periferik insülin direnci ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan kompensatuvar hiperinsülinemidir. PKOS'lu olgularda insülin direnci varlığı ve bunun hiperandrojenizmle ilişkisi gösterilmiştir [36-38]. İlk defa 1921 yılında Achard ve Thiers hiperandrojenizmle insülin metabolizması arasındaki ilişkiyi saptamış ve 'diabetes des femmes a barbe' olarak bu olayı tanımlamıştır [39]. Günümüzden tam 30 yıl önce, genç kadınlarda

virilizasyon ile ciddi insülin direnci ilişkisinin saptanması bu bulguyu pekiştirmiş ve PCOS'lu olgularda sağlıklı kadınlara göre ağızdan glukoz artmış insülin yanıtı saptanmıştır [40;41].

Yapılan çalışmalarda PKOS'un obeziteden bağımsız olarak insülin direncini arttırdığı tesbit edilmiştir. Normalden kilolu PCOS'lu olgulardaki insülin direncinin, PKOS'u olmayan şişman kadınlara göre daha fazla olduğu gösterilmiş, bu durum normal kilolu olgularda da saptanmıştır [42]. PKOS'da insülin direnci olasılığını gösteren bulgular tablo I'de görülmektedir.

Tablo I: PKOS'lu olgularda insülin direnci olasılığını gösteren klinik ve biyokimyasal bulgular.[42]

1. Obesite
2. Bel/kalça oranı>0.85
3. Subskapüler cilt kalınlığı>50mm
4. Bel/kalça oranı>0.85
5. Subskapüler cilt kalınlığı>50mm
6. Akantozis nigrikans
7. Açlık insülin >30Mu/L
8. Açlık glukoz/Açlık İnsülin<4.5
9. Trigiserid>5.5 mmol/l
10. Amenore

İnsülin direnci, normal yanıtı sağlamak için gereken insülin düzeyinin normalden fazla olduğu durumdur. Bu durum pankreas beta hücrelerinden insülin salgısının artmasına ve kompensatuvar hipeinsülinemiye neden olur. Bu süre içinde hiperinsülinemi, insülin direncinin üzerine çıkarsa kan glukoz düzeyi normal sınırlar içinde kalır. Eğer beta hücrelerinin kompensatuvar yanıtı azalırsa göreceli ya da mutlak insülin yetmezliği ve sonucunda bozulmuş glukoz toleransı ve tipII DM oluşur. İnsülin direnci ile ilgili Metabolik Sendrom adı altında bir takım bozukluklar tanımlanmıştır.

Metabolik sendrom içinde insülin direnci, hiperinsülinemi, dislipidemi, artmış plazma PAI, ürik asid ve fibrinojen düzeyi, hipertansiyon ve ateroskleroz yer alır [42]. Genel olarak insülin direncinin nedenleri 3 grupta toplanabilir [42]

1. Anormal hücre salgı ürünleri
 - a-Anormal insülin molekülleri
 - b-Proinsülin insülin molekülleri
2. Dolaşımda insülin antagonistlerinin bulunması
 - a-İnsülin karşıtı hormonlarda artış
 - b-Antiinsülin antikorların varlığı
 - c-Antiinsülin reseptör varlığı
- 3.Hedef organ defekti
 - a-insülin reseptör bozukluğu
 - b-reseptör sonrası bozukluk

İnsülin direncinin mekanizması ne olursa olsun PKOS'da insülin direnci, genellikle hiperandrojenizmin ve anovulasyonun ana yapısal nedeni olarak kabul edilmektedir.

Hiperinsülinemi, PKOS'da overleri doğrudan uyararak ya da dolaylı olarak LH salgısını uyararak androjen üretimini arttırmaktadır. Bununla beraber IGFBP-I yapımını arttırarak, SHBG salgı ve salınımını engelleyerek de bu üretime katkıda bulunmaktadır. İnsülin, adrenal androjen sentezini de arttırabilmektedir [43]. Diğer yönden hiperandrojenemi hafif düzeyde bir insülin direncine neden olmaktadır. Ancak bu direnç PKOS'a göre daha düşük düzeydedir [44].

İnsan overleri özgün insülin reseptörüne sahiptir [45]. Çeşitli in vitro çalışmalarda insülinin granüloza ve teka hücrelerinde doğrudan etkiyle aromataz etkisini arttırması daha az belirginken, dolaylı etkiyle FSH aracılı östradiol yapımını arttırması daha belirgindir [36;46;47].

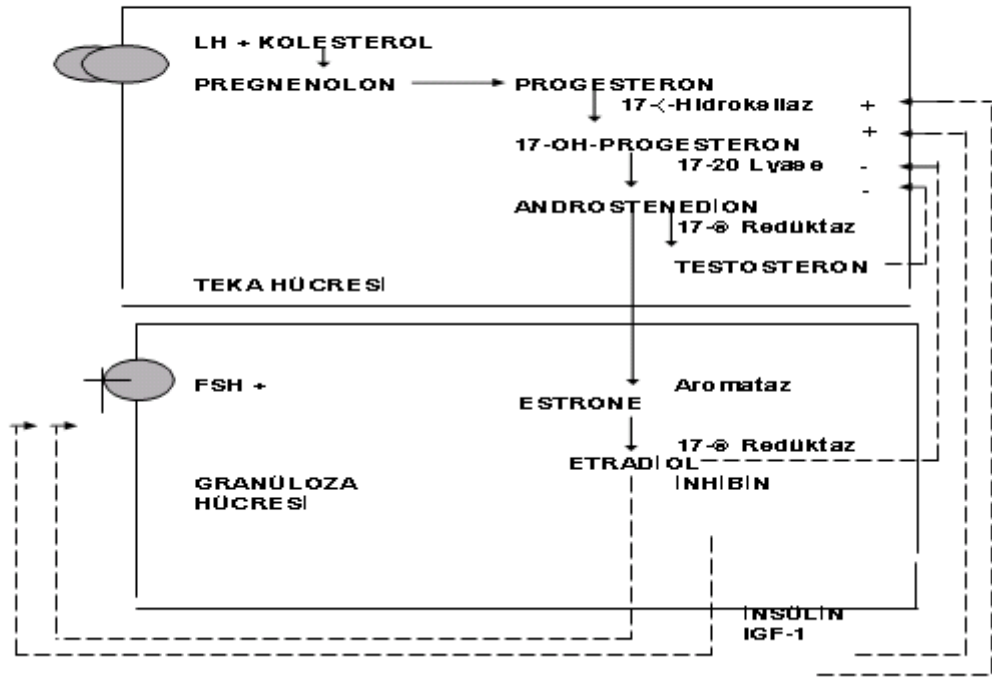
İnsülinin teka hücre proliferasyonunu, LH aracılı androjen salınımını, P450c 17mRNA düzeyini arttırdığı, LH reseptör ve over IGF-I reseptör düzeyini arttırdığı gösterilmiştir [48-50].

İnsülin androjen metabolizmasını yalnızca yapım ve salgısını arttırmakla etkilemez dolaylı olarak SHBG düzeyini düzenleyerek de etkiler. SHBG düzeyi azaldığında, serbest androjen düzeyi artar. PKOS'lu olgularda SHBG düzeyi

azalmaktadır. Hiperinsülinemi ve insülin direnci azaldığında ise SHBG düzeyi artmaktadır [51;52]. PKOS'lu olgularda yapılan çalışmalarda IGF-I/IGFBP-I oranı belirgin olarak artmış olarak bulunmuştur [53]. Bunun sonucunda tekal dokuda IGF-I'in kullanılabilirliği artmakta, otokrin ve parakrin etkiyle hiperandrojenizme yol açan bir ko-gonodotropin etkisi göstermektedir. IGF-I, granüloza hücrelerinde östrojen sentezinide uyarabilmektedir [54]. IGF-I bu etkisinin yanında, hipotalamusta GnRH gen regülasyonunuda etkilemekte ve bunun sonucunda bazal ve GnRH tarafından uyarılan gonodotropin salgısını arttırmaktadır [55].

PKOS'da adrenal androjen yapımıda artmaktadır. İnsülin overde olduğu gibi sürrenalde de androjen yapımında önemli rol oynamaktadır [42]. PKOS etyopatogenezi ile ilgili tüm bu veriler şekil-1 de toplu olarak sunulmuştur.

Şekil I: PKOS etyopatogenezi



(-): Negatif feedback

(+): Pozitif feedback

2.4 GENETİK NEDENLER

PKOS'un genetik nedenlerinin araştırılması için yapılan çalışmalarda şuan ki mevcut bulgularla somut verilere ulaşamadığı anlaşılmaktadır. Örneğin, polikistik overli olan her kadında sendromun belirtilerinin görülmemesi ya da PKOS'lu kızların annelerinin polikistik over varlığına rağmen asemptomatik olmaları açıklanamamaktadır. Anne ve çocuklardaki hormon değerlerine bakıldığında genetik geçiş daha çok otozomal dominant forma uymaktadır [56;57]. PKOS'lu kızların kız kardeşlerinin ise sendromun klinik ve laboratuvar özelliklerini % 46 oranında taşıdıkları gösterilmiştir. PKOS'lu hastalar insülin sekresyonunda tipII diabetekine benzer bozukluk gösterirler. Ayrıca bu hastaların yaklaşık % 50'sinin ebeveynlerinde tipII DM varlığı gösterilmiştir[56-58].

2.5 PKOS TANI KRİTERLERİ

2.5.1 1990 Yılı Birleşmiş Milletler Uluslararası Sağlık Örgütü (NIH) Kriterleri

İlk kez 1990 yılında PKOS tanısı için spesifik kriterler getirilmiştir. Bu tarihten önce düzenli menstruel siklusları olup klinik veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları olan veya overleri ultrasonda polikistik olarak saptanan kadınlar da PKOS kapsamında ele alınmaktaydı [59;60]. 1990 yılında Birleşmiş Milletler Uluslararası Sağlık Örgütü'nün(US National Institutes of Health, NIH) PKOS tanısı için belirlediği kriterler önem sırasına göre:

- (a) Hiperandrojenizm ve/veya hiperandrojenemi
- (b) Kronik anovulasyon
- (c) Bunlarla ilişkili hiperprolaktinemi, tiroid hastalıkları ve konjenital adrenal hiperplazi gibi diğer durumların dışlanması, olarak sıralanmaktadır [6 1] .

Bu tanıma göre hastada polikistik over görünümü olabilir fakat bu diagnostik bir kriter değildir.

NIH kriterlerine göre üç fenotipten bahsedilir:

- (a) Hirsutizm, hiperandrojenizm ve oligo-ovulasyon,
- (b) Hiperandrojenizm ve oligo-ovulasyon
- (c) Hirsutizm ve oligo-ovulasyon.

NIH tanımlamasında ultrasonun yeri yoktu; çünkü o yıllarda ultrasonografi Kuzey Amerika'da yaygın olarak kullanılmıyordu [62]. NIH tanımlamasında her bir kriterin

tanımı yeterince açık olarak yapılmamıştı fakat yine de NIH kriterlerini daha sonra temel alan büyük çalışmalar sayesinde hastalığın yüksek prevalansı [63;64], insülin direnci [63;65;66] ile ilişkisi ve bu kadınlarda yaşamlarının ileriki dönemlerinde TipII DM [67;68] gelişme riski gibi değerli bilgiler elde edilmiştir.

2.5.2 2003 Rotterdam ASRM/ESHRE Kriterleri

1990 yılındaki NIH kriterleri, PKOS'un tanısı ve önemi konusunda atılmış ilk ve büyük bir adım olup, bu tarihten sonra yapılan çok merkezli çalışmalar için mihenk taşıını oluşturmuştur. Bu tarihten sonra yapılan uluslararası kongrelerde PKOS'un daha geniş bir spektrumda yer alan klinik görünümle ortaya çıkabileceği görüşü hakim olmaya başlamıştır [22;30;34]. Bu nedenle 2003 yılında Rotterdam'da PKOS çalışma grubu sponsorluğunda The American Society for Reproductive Medicine ve European Society of Human Reproduction and Embryology (ASRM/ESHRE) PCOS tanımını yeniden düzenlemiş ve genişletmiştir. Bu uzlaşmaya göre PKOS primer olarak overin disfonksiyonu olup hiperandrojenizm ve polikistik over morfolojisi bu sendromun kardinal özelliklerini oluşturmaktadır. Bu toplantıda PKOS primer olarak overin disfonksiyonu nedeniyle oluşan, prolaktinoma, konjenital adrenal hiperplazi veya androjen salgılayan tümör gibi durumların dışlanması koşulu ile birlikte aşağıdaki kriterlerden en az ikisini içeren bir sendrom olarak tanımlanmıştır.

Bu kriterler oligoovulasyon ve/veya anovulasyon, hiperandrojenizmin klinik ve/veya biyokimyasal işaretleri ve ultrasonografide en azından bir overde polikistik over görünümü olması olarak belirtilmektedir [69;70]. PKOS'un tek bir belirtisinin olmaması ve tanısı için tek bir testin yeterli olmaması nedeniyle, PKOS bir sendrom olarak kabul edilmiştir. İnsülin direnci ve yüksek LH seviyeleri bu sendromun belirgin özelliklerini oluşturduğu ve PKOS'un TipI I DM, kardiyovasküler hastalık ve metabolik sendrom ile önemli derecede ilişkili olduğu ayrıca belirtilmiştir [69]

2003 yılında PKOS tanımının genişletilmesi ile;

- (a) Ovulatuvar bozukluk olmadan, polikistik overler ile birlikte klinik ve/veya biyokimyasal androjen fazlalığı
- (b) Klinik ve/veya biyokimyasal androjen fazlalığı olmadan, polikistik overler ile birlikte ovulatuvar bozukluk gibi yeni PKOS fenotipleri ortaya çıkmıştır.

Klinik spektrumun genişlemesi beraberinde, yapılan çalışmalar (değerlendirilen popülasyonun heterojenitesinin artması), klinik pratik (bütün bu hastalara ultrasonografi yapılması), uzun dönem hasta takibi (bu hastalarda metabolik sendrom gelişme olasılığı nedeniyle uzun dönem monitorizasyonunun ekonomik giderleri) açısından bazı dezavantajlar getirmiştir.

2.5.3 2006 Androgen Excess Society (AES) Kriterleri

2003 Rotterdam kriterlerinin doğurduğu dezavantajlar nedeniyle PKOS tanısının daha doğru ve daha sıkı olarak yapılmasının gerektiği düşünülmüş ve 2006 yılında AES kriterleri yayınlanmıştır [71]. AES, literatürdeki PKOS konusunda uzman olan klinisyenlerin yayınlanmış bütün çalışmalarını derleyerek PKOS'un epidemiyolojisi ve fenotipik etkilerini araştırmıştır. (Tablo 2)

Tablo 2. PKOS tanı kriterlerine göre olası fenotipler:

Klinik Görünümler	Olası Fenotipler															
Hiperandrojenemi	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-
Hirsutizm	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Oligoanovulasyon	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Polikistik overler	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
NIH 1990	■	■	■	■	■	■										
ASRM/ESHRE 2003	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■						
AES 2006	■	■	■	■	■	■	■	■	■							

Bu çalışmanın sonucunda PKOS'un birincil olarak androjen fazlalığı nedeniyle meydana geldiği kararına varılmıştır. Bu kriterlere göre 1990 yılı NIH fenotiplerine ek olarak bir fenotip (ovulatuvar disfonksiyon olmaksızın, polikistik overler ile birlikte hiperandrojenizm) daha eklenmiş olup, bu hafif PKOS olarak adlandırılmıştır.

Çünkü bu olgularda, tam PKOS karakterli olgulara göre uzun dönem reproduktif ve metabolik etkilerinin olmayabileceği vurgulanmıştır. Fakat bu olguları içeren uzun dönemli çalışmaların olmadığı da ayrıca belirtilmektedir. Bunun yanında hiperandrojenizm olmadan polikistik overler ile ovulatuvar disfonksiyonu olan kadınların metabolik açıdan morbidite riski olup olmadığı da açık değildir. Çünkü polikistik over görünümü PKOS'lu hastalarda insülin direncini predikte etmemektedir [72].

Tablo 3 PKOS tanı kriterleri

1990 Yılı Birleşmiş Milletler Uluslararası Sağlık Örgütü (NIH) Kriterleri [61]
Aşağıdaki kriterlerden hepsinini içerir
1-Hiperandrojenizmin klinik ve/veya biyokimyasal belirtileri
2-Kronik anovülasyon
3-Diğer ilişkili hastalıkların dışlanması
2003 ASRM/ESHRE Kriterleri [69;70]
Diğer ilişkili hastalıkların dışlanması ile birlikte aşağıdaki 3 kriterden en az 2' sinin olması
1-Oligo-veya anovulasyon
2-Hiperandrojenizmin klinik ve/veya biyokimyasal belirtileri
3-Polikistik overler
2006 Androgen Excess Society (AES) Kriterleri [71]
Aşağıdaki kriterlerden hepsinini içerir
1-Hiperandrojenizm [hirsutizm ve/veya hiperandrojenemi]
2-Overyan disfonksiyon [oligo-anovulasyon ve/veya polikistik overler]
3-Diğer ilişkili hastalıkların dışlanması

ASRM/ESHRE: The American Society for Reproductive Medicine ve European Society of Human Reproduction an Embryology

2.5.4 Polikistik Overlerin Ultrasonografik Tanı Kriterleri

Overlerde periferik yerleşimli küçük kistlerin inci kolyesi benzeri dizilimleri polikistik over görünümünü oluşturmaktadır. Bu kistler aslında gerçek birer kist olmayıp, immatür veya atrofik foliküllerdir. Bu foliküllerin çevrelediği stroma ise kalın ve ekojen görünümündedir. Bu bahsedilen ultrasonografik görünümler temelinde

polikistik over (PKO) tanısı için objektif tanı kriterleri getirilmiştir. Bu kriterler her bir overde periferik yerleşimli 2 ila 9 mm boyutlarında 12 veya daha fazla folikül bulunması ve/veya artmış overyan volüm (>10 ml.) olarak tanımlanmıştır. Overyan volüm aynı zamanda overyan stroma kalınlığını da yansıtacağından subjektif bir tanımlama olan overyan stromanın kalın ve/veya hiperekojen görünümü bu kriterler içersine alınmamıştır. Aynı zamanda overlerden birinin bu kriterleri sağlaması PKO demek için yeterlidir. Eğer ultrasonografik inceleme sırasında dominant folikül (>10 mm.) veya korpus luteum saptanırsa inceleme bir sonraki sıklusa bırakılmalıdır [69;70].

ASRM/ESHRE desteğinde Rotterdam PKOS çalışma grubu bu kriterleri yayınladığında bir takım öneriler de sunmuşlardır. Bunlar; Ultrasonografinin deneyimli kişiler tarafından yapılması, obez olgularda transvaginal ultrasonun seçilmesi, regüler mens gören kadınlarda siklusun 3.-5 günlerinde, oligo-ameneroik kadınlarda rastgele veya progestinle indüklenmiş çekilme kanamasının 3.-5. gününde ultrasonun yapılması, over volümünün ($0.5 \times \text{uzunluk} \times \text{genişlik} \times \text{kalınlık}$) formülüyle hesaplanması, folikül sayısının overin hem uzunlamasına hem de ön-arka kesitlerinde hesaplanması, 10 mm' den küçük folikül denildiğinde her iki kesitten alınan ölçümün ortalamasının 10 mm' den küçük olmasıdır[69;70]. Ultrasonografinin bu olguların endometrial hiperplazi açısından değerlendirilmesine fırsat vermesi diğer bir avantajını oluşturmaktadır [73].

Histopatolojik incelemelerde saptanan polikistik overlerde artmış sayıda folikül, iç teka hücre katmanında artmış hipertrofi ve lüteinizasyon, kalınlaşmış overyan tunika gibi bulguların ultrasonografik kriterlerle iyi bir şekilde korele olduğu da kanıtlanmıştır [74].

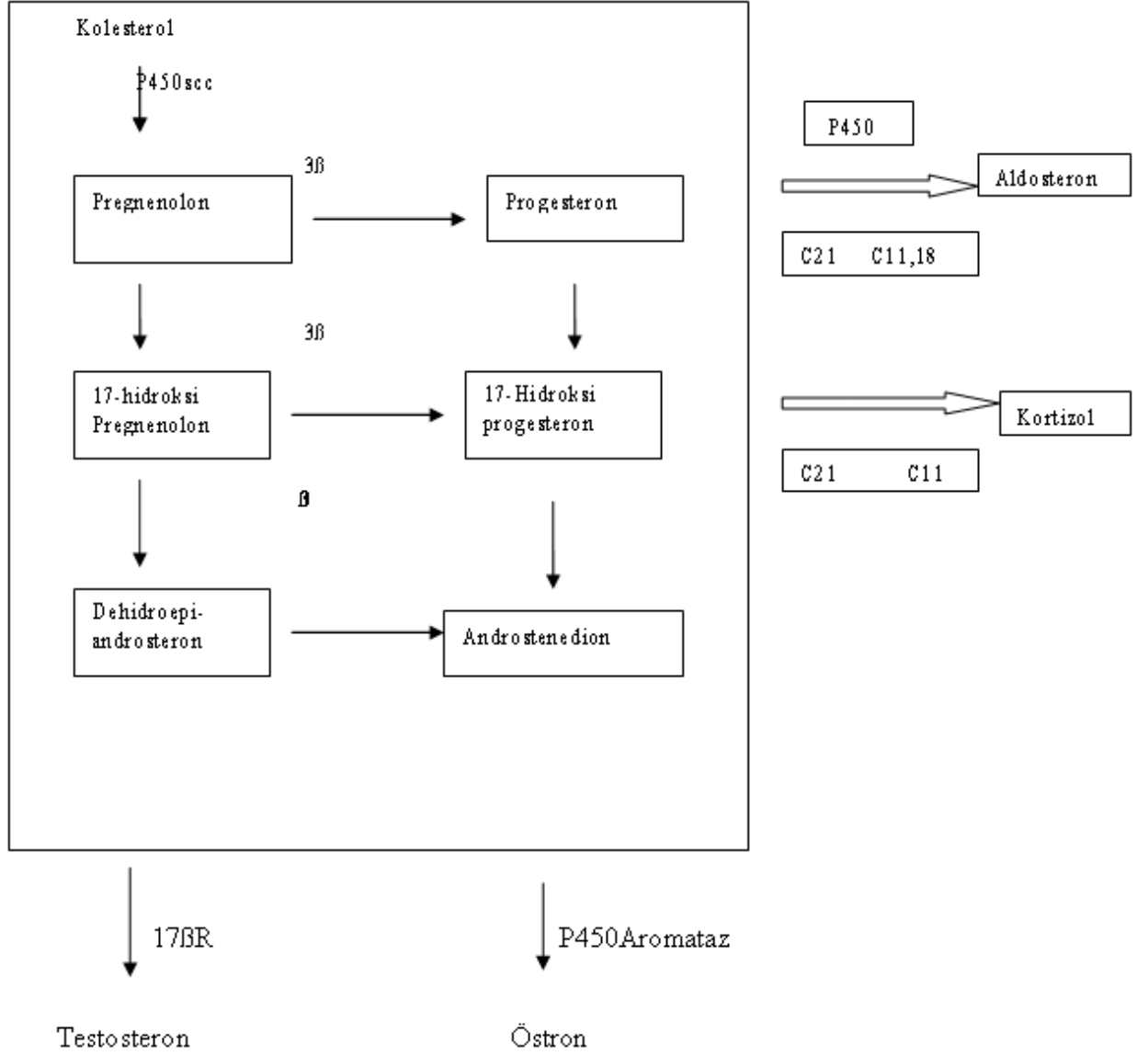
Ultrasonografik olarak polikistik overlerin multikistik overlerle ayırımı önemlidir. Bir overde normal ekojeniteye sahip stroma ile birlikte 4-10 mm arası 6 veya daha fazla folikül bulunması multikistik over olarak tanımlanmaktadır. Multikistik over yerine multifoliküler over demenin daha doğru olduğu belirtilmekle birlikte bu tanımın histopatolojik olarak incelendiği çalışma bulunmamaktadır. Multifoliküler overler karakteristik olarak puberte çağındaki veya hipotalamik amenorenin düzelme safhasındaki kadınlarda görülmektedir [74].

2.6 ANDROJENLERİN, BİYOSENTEZİ ve METEBOLİZMASI

Kadınlarda dolaşımdaki androjenlerin yaklaşık yarısı over ve adrenal bezden doğrudan salgı ile geri kalan yarısı ise salgılanan proandrojenlerin karaciğer, deri, yağ dokusu gibi periferik dokularda aktif androjenlere çevrilmesi sonucu sağlanır. Yağ dokusu periferik dönüşümde önemli yere sahiptir [75]. Overden androjen salgısı luteinizan hormon(LH), adrenalden ise adrenokortikotrofik hormon(ACTH) uyarısı ile olur.

Androjenler erkekte primer ve sekonder seks karakterlerinin, kadınlarda ise bazı sekonder seks karakterlerinin gelişiminden sorumludur. Kadınlarda adrenal androjenler kolesterolden kortizol sentezi sırasında yan ürün olarak ortaya çıkar. Overdeki androjenler ise östrojenin öncü maddeleridir [76;77]. Kolesterol, steroid biyosentezinde prekürsör bir üründür [78]. Biyolojik olarak en önemli androjen testosteron ve metaboliti olan dihidrotestosterondur [79;80]. Dihidrotestosteron kıl büyümesinde en kuvvetli androjendir. Testosteron dolaşımında bağlı ve serbest olmak üzere iki formda bulunur. Testosteronun serbest formu biyolojik olarak aktiftir. Yaklaşık olarak % 98-99'u seks hormon bağlayıcı globulin(SHBG), kortizol bağlayan globulin veya non spesifik albumin ve diğer proteinlere bağlı olarak bulunur ve biyolojik olarak inaktiftir [80]. SHBG üretimi insülin ve vücut kitle indeksinde(VKİ) artış ile azalır, böylece dolaşan biyolojik aktif androjen seviyesi artar. Bu da hiperinsülinemi, insülin direnci ve obezitenin hirsutizm şiddeti ve gelişimi üzerindeki etkisini açıklar. Östrojen zıt etkiye sahiptir; SHBG üretimini artırır, serbest testosteron düzeylerini azaltır [80].

Testosteronun ovaryan sekresyonu LH etkisi ile teka hücrelerinden olmaktadır, adrenal androjen sekresyonu ise ACTH tarafından uyarılır [80]. Androstenedion; overler ve adrenal bez tarafından sekrete edilen androjendir. SHBG'ye bağlanmadığı için ölçümü tahmini total bağlı olmayan androjen sekresyonunu verir [81].



Şekil 2 Steroid hormon biyosentezi [82]

Kare içindeki alan over, adrenal ve testis için ortak yoldur. P450scc; P450 side chain cleavage enzyme, P450c17α; 17α hidroksilaz, 3β; 3β hidroksi steroid dehidrogenaz, C21; 21 α hidroksilaz, C11; 11 β hidroksilaz, C18; 18 oksidaz, 17 βR; 17β redüktaz

2.7 PKOS'TA KLİNİK BULGULAR

2.7.1 Hirsutizmus (Kıllanma)

Hirsutizm kadınlarda vücudun androjenlere hassas bölgelerinde aşırı terminal kıl büyümesi olarak tanımlanabilir. Hirsutizm; androjen fazlalığı veya normal androjen düzeylerinde kıl follikülünün androjenlere hassasiyetinin artması sonucu gelişir [76]. Pilosebase ünitede androjenlerin etkileri nedeniyle olur ve sıklıkla akne ve yağlı cilt ile birlikte [83]. Bir hastalık olmaktan ziyade hiperandrojeneminin cilt bulgusu olarak değerlendirilmelidir [79]. Hirsutizm kadınları fiziksel ve psikolojik yönden etkileyen önemli bir sorundur [76;84]. Hirsutizm doğurganlık çağındaki kadın popülasyonun %5-8'ini etkiler [79] En yaygın sebebi kronik anovulasyonun eşlik ettiği polikistik over sendromu ve idopatik hirsutizm olmakla birlikte daha az sıklıkla Chushing sendromu, konjenital adrenal hiperplazi(KAH), adrenal ve over tümörleride nedenler arasındadır [81].

Pratikte çok defa hirsutizm ile hipertrikozis eş anlamlı olarak kullanılırsa da; hipertrikozis farklı bir durumu yansıtır, androjenlere bağlı bir olay değildir ve hirsutizmden ayrılması gerekir [75]. Anoreksia nervosa ve hipertiroidizm gibi metabolik nedenler veya bazı ilaçlara bağlı olarak gelişebilir [75;76]. Ayrıca kollar ve bacaklar gibi amboseksüel alanlarda sınırlı kıllanma artışının familyal veya etnik temeli olabileceği ve tedaviye zayıf cevap verebileceğide unutulmamalıdır [76].

Hirsutizm genellikle benign sebeplere bağlıdır ve virilizasyondan da ayırt edilmelidir [80]. Virilizizm; dolaşımdaki artmış androjen düzeylerinin kadında kıllanma artışı yanında bazı somatik değişikliklere neden olmasıdır. Bu değişiklikler; alın saç çizgisinde gerileme, sesin kalınlaşması, meme atrofisi, klitoris hipertrofisi, artmış kas kitlesi ve normal kadın vücut hatlarının kaybıdır [85]. Virilizasyon genellikle malign androjen sekrete eden tümör veya androjenik ilaç kullanımı gibi durumlarda olduğu gibi dolaşan androjen seviyesinde ani artış ile birlikte [80].

2.7.2 Kıl Gelişimi

Vücudu kaplayan yaklaşık elli milyon kıl folikülü vardır. Bunlardan 100–150 bini saçlı deride geri kalanı yüz ve diğer vücut bölgelerindedir [79;86]. Kıl folliküllerinin sayısı doğumdan önce sabittir, doğumdan sonra oluşan çok az yeni kıl folikülü vardır ve 40 yaşından sonra kıl folikül sayısı giderek azalmaktadır [76;79;87;88].

Yapısal olarak 3 tip kıl vardır;

2.7.2.1 Lunago; fetus cildini kaplayan yumuşak kıllardır ve postpartum 1.-4. aylarda dökülür [79;87;89].

2.7.2.2 Vellus tipi kıllar; ince, yumuşak kıllardır, fakat lunago kıllardan daha uzundur. Genellikle non pigmente, boyları 2mm'den az ve vücudun kılsız bölgelerini kaplar [79;87;88].

2.7.2.3 Terminal kıllar; Uzun pigmentedir. Bu kıllar her iki cinste kaş, kirpik, saç, pubik bölge aksilla ve erkeklerde yüz ve vücudun büyük kısmında bulunur [79;87].

Kıl büyüme döngüsü üç fazdan oluşmaktadır. Birinci faz anagen faz; aktif fazdır ve kıl büyümesi bu süre boyunca devam eder. İkinci faz; kısa süreli geçiş fazı olan katagen faz ve son olarak üçüncü faz dinlenme fazı telogen fazdır. En uzun faz büyüme fazıdır. Anagen faz süresi vücudun değişik bölgelerinde değişiklik gösterir ve hormonal ve çevresel faktörlerden etkilenir. Normal fizyolojik durumda saçlı derideki kılların %85'i anagen fazdadır [81]. İnsanlarda kıl büyümesinin sürekli gibi görünmesinin sebebi; farklı kıl folliküllerinde büyüme fazının senkron olmamasından kaynaklanır.

2.7.3 Kıl Büyümesini Etkileyen Faktörler

Seks steroidleri ve birçok sistemik ve lokal faktörler doğrudan veya dolaylı olarak dermal papilla üzerinde etki ederek kıl gelişimini düzenlerler.

2.7.3.1 Lokal ve sistemik faktörler

Kıl büyümesini etkileyen çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler tanımlanmıştır. Bu faktörlerin dermal papillaya etki ederek büyümeyi hızlandıran, matrix metalloproteinazı olan stromalizin sentezini arttırmak suretiyle kıl büyümesini düzenledikleri tahmin edilmektedir. Son zamanlarda bulunan basic fibroblast büyüme faktörü ve platelet derive büyüme faktörü dermal papilla hücreleri, kıl matriks hücrelerinin proliferasyonunu etkileyen çok çeşitli sitokinler üretirler. Bunların bir kısmı stimülatör bir kısmı ise inhibitördür. Tiroid ve büyüme hormonu gibi diğer hormonlarda kıl gelişimini etkileyebilir. Genelde bu hormonların eksikliği(hastalık veya ilaç ilişkili durumlar) saçlı deri ve vücut kıllarında anagen/telogen oranını değiştirir [79;89;90].

2.7.3.2 Deri 5 alfa redüktaz enzim aktivitesi

Vücut kılları arasında kişisel ve farklı cilt bölgelerinde belirgin farklılık olması 5 alfa redüktaz enzim içeriği ve androjen metabolizma etme yeteneklerine bağlıdır. Literatürde invitro testosteron, androstenedion, dihidroepiandrostenedionsülfatın(D HEAS) dihidrotestosterona dönüşümü gösterilmiştir. Hirsutizmlı kadınlarda enzim aktivitesi; normal kadınlara göre daha yüksek bulunmuştur [79]

2.7.3.3 Seks Steroidleri

İnsan vücudundaki kılların dağılımı ve tipinin belirlenmesinde androjenler çok önemlidir. Androjen etkisi altında kıl follikülleri vellus tipi kıllardan terminal kıl oluşturmak üzere stimüle olurlar. Androjenler vücut kıl tipi oluşumunu etkilemekle kalmaz; anagen fazı uzatarak kılların boyunun uzamasına, ciltte ve saçlı deride yağ oluşumunun artmasına neden olurlar. Serbest Seks steroidlerinin kıl folikülü üzerindeki etkilerinin dolaşımdaki seviyelerine bağımlı olduğu unutulmamalıdır [79;89]. Östrojenler kıl gelişimi oranını azaltır, daha ince ve daha az pigmente kıl gelişimine sebep olur. Progesteranlar ise androjenik potenslerine bağlı olarak değişik etkilere sahiptir [80]

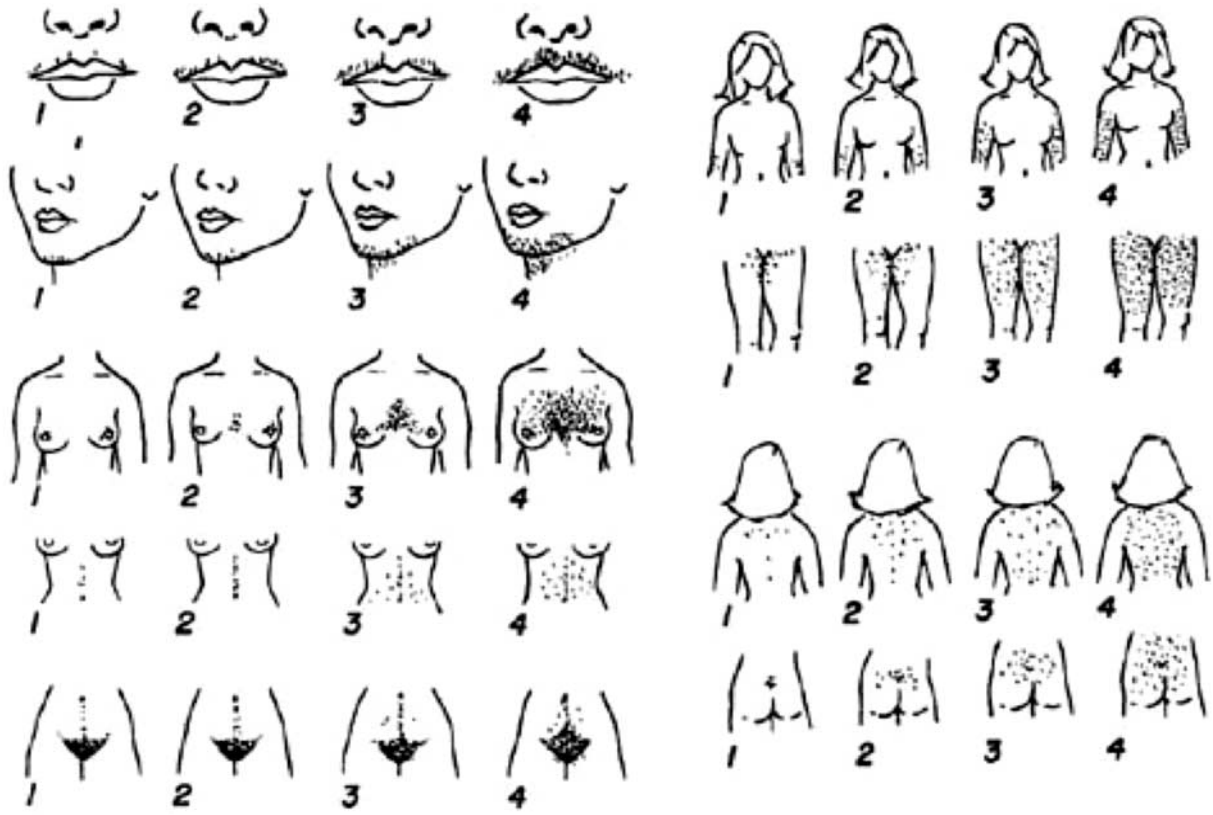
2.7.4 Hirsutizmin Klinik Olarak Değerlendirilmesi ve Tanısı

Hirsutizmlı bir hastanın değerlendirilmesinde ilk basamak ayrıntılı bir hikaye alınmasıdır [76;87]. Hirsutizmlı bir hastada en önemli faktör etyolojide over veya adrenal tümörün ayırıcı tanısıdır. Hirsutizmin başlangıç ve ilerlemesine ait hikaye gözden geçirilmelidir. Pubertede ve yavaş gelişim sıklıkla PKOS veya geç başlangıçlı konjenital hiperplaziyi, hızlı gelişim ile birlikte virilizasyon bulgularının olması öncelikle adrenal veya over kaynaklı bir tümörü düşündürür [77-82]. Ayrıca öyküde kılınma yapabilecek ilaç kullanıp kullanmadığıda belirlenmelidir. Bu arada unutulmaması gereken bir durum kişinin genetik ve etnik özellikleridir. Hirsutizm derecesi hiperandrojenemiye bağlı olduğu gibi etnik ve genetik faktörlerde bağlıdır. Bölgesel cilt ünitesi başına düşen kıl folikülü sayısı etnik gruplar arasında farklılık gösterir. Ek olarak birçok adrenal enzim eksikliği otozomal resesif geçiş gösterir ve bazı etnik gruplarda artmış sıklıkta bulunur. Bu nedenle iyi bir aile hikayesi edinilmelidir. Hikayede androjen fazlalığının diğer semptomları akne, yağlı cilt veya virilizasyonun belirtileri(klitoromegali, temporal kellik, ses değişikliği, vücut görünümünde değişiklik) sorgulanmalıdır [81]. Hirsutizm düşünülen hastalarda

değerlendirmede ilk tanımlanması gereken artmış kılların terminal mi? Vellus tipi mi? Olduğuna karar verilmesi ve erkek tipi patern gösterdiğinin belirlenmesidir [75;76]. Vellus tipi kıllar terminal kıllardan kolaylıkla ayırt edilebilmelerine rağmen çoğu hiperandrojenik hastalar her iki kıl tipinde bir arada bulundurur [91]. Ayrıca hirsutizmi, vücutta yaygın olarak vellus tipi kıl artışı olarak bilinen hipertrikozdan ayırt etmek gerekmektedir [77;82].

Klinik olarak hirsutizm teşhisi subjektiftir, kıl tipi ve büyüklüğü görsel değerlendirmeye dayanır. Numerik değerlendirme en çok kullanılan değerlendirmedir. Hirsutizm tanısı için Ferriman ve Gallwey Skor sistemi yaygın olarak kullanılan bir metoddur. İlk kez 1961 yılında Ferriman ve Gallwey tarafından 11 vücut bölgesinde(üst dudak, çene, göğüs, üst sırt, alt sırt, alt-üst karın, kol, önkol, uyluk ve alt bacak) terminal kılın yoğunluğuna göre 0'dan 4'e kadar puan verilerek hazırlanmış bir puan sistemidir. 1971'de ise Ferriman ve Lorenzo tarafından önkol ve alt bacak bölgesinin androjene duyarlılığının az olması üzerine skorlamadan çıkarılarak modifiye edilmiştir. Buna göre skoru 8 veya üstü hirsutizm olarak değerlendirilmektedir [77].

Sekil-3 Modifiye Ferriman-Gallwey skorlama sistem



Hirsutizmlı bir hastada fizik muayenede en önemli nokta hirsutizmin tek başına varlığı veya altında yatan bir endokrinolojik anormallikle ilişkili olup olmadığının belirlenmesidir. Hirsutizmlı bir kadının değerlendirilmesinde tiroid disfonksiyonu, hiperprolaktinemi, NKAH, HAİR-AN(hiperandrojenemi, insülin direnci, ve akantozis nigrikans) sendromu, androjen üreten neoplazmlar gibi pek çok hastalık dışlanmalıdır. Hastaların menstrüel siklusun folliküler fazında incelenmesi daha uygundur. NKAH tanısı menstrüel siklusun foliküler fazında bazal 17 hidroksiprogesteron(17-OHP) düzeyinin ölçümüyle konur. Eğer 17-OHP düzeyi 2ng/ml'nin üzerinde ise 21-hidroksilaz eksikliğine bağlı NKAH tanısını doğrulamak için ACTH stimülasyon testi yapılmalıdır. İntravenöz 0,25 mg ACTH uygulamasından sonraki 30-60. dakikalarda ölçülen 17-OHP düzeyi 30 nmol/l,daha sıklıkla da 45nmol/l üzerinde ise 21 – hidroksilaz eksikliğine bağlı NKAH tanısı konur [87].

DHEAS, adrenal bezler tarafından sentezlenir. Yüksek serum testosteron

konsantrasyonu varlığında normal değerde olması testosteronun ovaryan kaynaklı olduğunu düşündürür. PKOS'lu kadınların yaklaşık %15'inde serum prolaktin (PRL) konsantrasyonu artmıştır. Konsantrasyon 150 mU/l'yi aştığında prolaktin salgılayan hipofiz adenomu olabileceği düşünülmelidir ve hipofizer görüntüleme gerekmektedir [81].

Androjen salgılayan tümörler genellikle hikaye, fizik muayene ve görüntüleme yöntemleriyle tanınabilir. Nadiren Cushing sendromu bulguları olan bir hastada 24 saatlik idrarda serbest kortizol ve deksametazon supresyon testi uygulanarak Cushing hastalığı ayırıcı tanısı yapılabilir. Son olarak total testosteron, serbest testosteron ve DHEAS'da içeren androjen düzeyleri ölçülmelidir [87]. 200 ng/dl'nin üzerindeki testosteron düzeylerinde over tümörleri akla gelmelidir [77;87;92].

2.7.5 Menstruel Düzensizlikler

PKOS'da menstruel bozukluk düzensiz, seyrek veya menstruel kanamanın olmaması şeklindedir. Kanamanın zamanı önceden bilinemez. Kadınların yaklaşık %20'sinde amenore vardır, hastaların %5-10'u ise düzenli ovulatuvar fonksiyon gösterir.

Sürekli Anovulasyonun Klinik Sonuçları:

1. Infertilite
2. Amenoreden disfonksiyonel kanamaya kadar değişen menstruel kanama problemleri
3. Hirsutizm ve akne
4. Endometrium ve meme kanserinde artmış risk
5. Kardiovasküler sistem hastalıklarında artmış risk
6. TipII DM'de artmış risk

2.7.6 İnfertilite

PKOS'da infertilitenin primer sebebi anovulasyondur. Anovulasyona neden olan LH hipersekresyonu ile infertilite arasındaki ilişki sanıldığından daha karışıktır. LH ayrıca bilinmeyen bir mekanizma ile erken gebelik kayıpları ile de ilişkili olabilir [93]. Metforminle tedavi edilen kadınlarda ilk trimester gebelik kayıplarında önemli bir azalma gösteren çalışmalarda PKOS'da insülin direnci ile tekrarlayan gebelik kayıpları arasında muhtemel ilişki ileri sürülmüştür [94].

2.7.7 Akantozis Nigrikans

Epidermal hiperkeratozis ve dermal fibroblast proliferasyonu ile oluşan; en sık

olarak ense, deri kıvrımları, dirsek ve vulvada görülebilen koyu, kadife plaklar şeklindedir [95;96]. Belirgin artmış pigmentasyona rağmen melanosit sayısında artma veya melanosit depolanması yoktur. Hiperinsülineminin varlığı ve şiddeti ile ilişkilidir [97;98]. PKOS'da hiperinsülineminin azaltılması koyu deri bölgelerinde iyileşmeyi sağlar.

2.7.8 Obesite

Klasik PKOS'un en önemli bileşenlerinden birisidir ve PKOS'lu olgularda % 38-88 sıklıkla görülmektedir [99]. Karın bölgesinde cilt altında, karın içi organların çevresinde yağlanma artışı dikkati çeker. Bu nedenle bel kalça oranındaki artış belirgindir. Gövdesel yağ birikimindeki artışta hiperandrojeneminin etkili olduğu ve abdominal obezitenin insülin direnci ile korelasyon gösterdiği belirtilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar bu tür bir yağ dağılımının vücut ağırlığından bağımsız olarak insülin direnci, hiperlipidemi, tipII DM ve kardiovasküler hastalık açısından risk oluşturduğunu ortaya koymuştur [99;100].

2.8 UZUN DÖNEM SAĞLIK RİSKLERİ

Kronik anovulatuvar infertilitenin en sık sebebi olan PKOS; metabolik bir sendrom olarak TipII DM, dislipidemi, kardiovasküler hastalıklar ve endometrium kanseri gibi uzun dönem sağlık riskleri taşıması nedeniyle günümüzde toplumun önemli bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.8.1 İnsülin Direnci, Glikoz İntoleransı ve Tip II DM

PKOS'da görülen uzun dönem problemlerin çoğu insülin direnci ile ilgili görülmektedir [101]. İnsülin direnci hem zayıf hem de obez PKOS'lu kadınlarda görülebilir [102;103]. İnsülin direncini belirlemede genellikle kullanılan açlık glikoz/açlık insülin oranıdır [65]. Ancak glikoz intoleransını göstermek için bu yeterli olmayıp oral glikoz tolerans testi (OGTT) yapılmalıdır [23]. PKOS TipII DM gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmekte ve tüm PKOS hastalarında diabet yönünden tarama yapılması önerilmektedir. Bunun için en iyi yöntem OGTT' dir [104].

Son yıllarda yapılan bir çalışmada obez, PKOS'lu kadınların %31'inde bozulmuş glikoz toleransı (IGT), %7,5'inde aşikar diabet bulunmuştur. Obez olmayan PKOS'lu kadınların %10,3'ünde IGT, %1.5'i diabetli olup bu sonuçlar, toplum genelinin 3 katına denk gelmektedir [25].

Yapılan çalışmalardan anlaşılıyor ki PKOS'lu kadınlar diabet için yüksek risk altındalar ve bu risk farklı etnik gruplarda da birbirine benzerdir [25]. Ayrıca genel popülasyona göre hastalığa yakalanma riski daha erken yaşlarda olmaktadır [105].

2.8.2 Lipid Profili ve Kardiovasküler Hastalık

Kalp hastalığına yatkınlık oluşturan birkaç risk faktörünün varlığına dayanarak PKOS'lu hastaların kardiovasküler hastalık için genellikle artmış risk altında olduklarına inanılır. Bu risk faktörleri; bozuk glikoz toleransı, android obezite, hiperandrojenizm, dislipidemi ve hipertansiyondur. Yapılan bir çalışmada; PKOS grubu, kontrol grubundan, anlamlı derecede daha yüksek total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit seviyelerine sahip olduğu görülmüş. Ayrıca HDL kolesterol ve ApoAI düzeyleri düşük seviyelerdedir. Lipid düzeyi değişikliklerinde en önemli rol oynayan faktörün hiperinsülinemi olduğu söylenmektedir [106]. PKOS'lu kadınlarda hepatik lipaz aktivitesinin artmasından dolayı büyük lipoprotein partiküllerinin daha küçük partiküllere dönüşümü artmaktadır. Bunlar da daha aterosjenik özelliktedirler. Bu da bize HDL'de azalma ve LDL'de artmayı açıklamaktadır [107].

PKOS'lu kadınlarda ayrıca fibrinolizisin güçlü bir inhibitörü olan plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI) konsantrasyonu da artmıştır. Buda tromboz eğilimini arttırıp miyokard infarktüsü gelişimi için kolaylaştırıcı bir faktördür [108;109]. Yapılan retrospektif çalışmalarda kardiovasküler hastalık riskinin arttığını gösteren bulgular elde edilmiştir. 20–30 yıl önce ovaryan wedge rezeksiyonu ile tedavi edilmiş PKOS' lu hastaların 4 kat daha fazla hipertansiyon tedavisi gördüğü, 7 kat daha fazla diabet tanısı aldığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir [110]. Sonuçta, PKOS kardiovasküler hastalık açısından bir risk faktörü olarak değerlendirilmelidir.

2.8.3 Kanser

PKOS' lu hastalarda kronik karşılanmamış östrojen etkisi endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom riskini arttırabilecek özelliktedir. Ancak PKOS hastalarında endometriyal kanser sıklığının ya da endometriyal kansere bağlı mortalitenin artmış olduğu kesin olarak gösterilememiştir [111]. PKOS ile meme ve over kanseri arasındaki ilişki olduğu gündeme gelmişse de uzun dönem retrospektif takip çalışmalarında PKOS hastalarında bu kanserlerin gelişme riskinde veya neden oldukları mortalitede artış bulunamamıştır [112]. Meme kanseri ile PKOS'un ilişkisini araştıran çalışmaların çoğu kesin bir pozitif ilişki göstermek için yetersizdir.

2.9 POLİKİSTİK OVER SENDROMU VE GENETİK

PKOS, reproduktif dönemdeki kadınlarda yaygın bir endokrin ve metabolik bozukluk olup güçlü bir genetik temeli vardır [113]. İlk genetik çalışma Cooper ve arkadaşlarının yaptığı 18 hastalık çalışmadır. Ardından Givens ve arkadaşları 1970'lerde PKOS'un X'e bağlı kalıtım gösterdiğini belirtmişlerdir [114;115]. Bu çalışmalarda PKOS'un tanı kriteri olarak, hirsutizm ile birlikte polikistik ve bilateral genişlemiş overleri almışlardır. Daha sonraki yıllarda İngiltere'de yapılan çalışmalarla PKOS'un otozomal dominant(OD) kalıtımına dair yeni bilgiler literatüre eklenmiştir. Carey ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, %50 oranında OD geçiş gösterilmiştir [116;117]. Heterojen bir bozukluk olan PKOS'da, klinik bilgilerin çoğu OD geçişten bahsetmesine rağmen, son yapılan çalışmalarda birden fazla genin etyolojide sorumlu olabileceği bildirilmektedir [57].

PKOS'da heterojen biyokimyasal anormallikler olsa da, genlerin etkisi sonucu ortaya çıkan ve çok iyi bilinen birkaç ortak biyokimyasal değişiklik bulunur. En önemli biyokimyasal değişiklik, hiperandrojenizmdir [61]. Birçok araştırmada ek olarak adrenal anormallik olduğu ifade edilse de, hiperandrojenizmin asıl nedeni overden aşırı üretilen LH supresyonu ile androjen konsantrasyonunda belirgin düşüş sağlanması ve PKOS'lu kadınların over hücre kültürlerinde, teka hücrelerinde normal overli kadınlara göre 20 kat daha fazla androstenedion salgılanmasının saptanması bu over kaynaklı aşırı üretimin kanıtlarıdır [118]. Ayrıca polikistik over teka hücrelerinde steroidogenez yolunun bütün basamaklarında artış vardır. PKOS'da teka hücrelerindeki bu artmış steroidogenez, genetik anormalliğin bir sonucu olabilir. Over kökenli hiperandrojenizm LH sekresyonunun artmasına bağlıdır [60;119]. Androjen üretimi ve metabolizmasını kodlayan genler LH, LH reseptör ve P450 steroidojenik enzimler (P450scc, P450c17α gibi) dir. Aynı zamanda granüloza hücrelerinde androjenin östrojene dönüşümünde rol oynayan P450 aromatazı kodlayan CYP19 da önemlidir [7]. Aile çalışmalarında genetik olarak geçen en önemli bulgunun hiperandrojenizm olduğu saptanmıştır.

Klasik PCOS'da insülin rezistansı bulunmaktadır [91]. PKOS'lu kadınlarda yüksek serum glukozu ve insülini ile beraber insülin duyarlılığında bir düşüş mevcuttur. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, klinik ve laboratuvar bazlı çalışmalarda insülin reseptörüne bağlanma, postreseptör sinyal ve insülin sekresyonundaki primer

anormallikler gibi genetik kökenli olabilecek defektlerden bahsedilmektedir

Holte ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada PKOS'lu obez bayanlar zayıflatıldıklarında insülin sensitivitesinde düzelme olduğunu saptamışlar; fakat intravenöz glukoz uygulamasına birinci faz insülin sekresyonu cevabında düzelme olmadığını görmüşlerdir [120]. Bu bulgu PKOS etyolojisinde genetik temel kadar çevresel ve beslenme faktörlerinin de önemli rolü olduğunu göstermektedir.

Polikistik over morfolojisinin oluşmasında önemli genler rol oynar. Polikistik overde sadece antral foliküller değil, preantral foliküllerin sayısında da artış vardır [121;122]. Erken foliküler gelişim gonadotropinlerden bağımsızdır. Polikistik overin oluşumunda overe bağlı lokal faktörler de rol oynar. Erken folikülogenezde bir çok genin rolü (TGF- β ailesi, IGF-I ve II ve TGF- α gibi) vardır.

Ailelerde yapılan bağlantı çalışmalarında genler ile hastalık riski arasındaki ilişki araştırılmaya çalışılmıştır. Birçok çalışmada PKOS'da genetik geçiş gösterilmiştir [123].

PKOS'un genetik temeline yönelik yapılan çalışmalarda 30 dan fazla gen üzerinde çalışılmasına rağmen genetik alt yapısı tam olarak belirlenememiştir [4;7]. Üzerinde en çok çalışılan genler:

2.9.1 LH ve LH Reseptör Geni

Yapılan çok merkezli bir çalışmada, LH beta geninde popülasyonlar arasında belirgin farklılıklar olduğu saptanmış fakat PKOS ile net bir ilişki görülmemiştir [124]. Franks ve arkadaşları LH reseptör genindeki bir mutasyonun PKOS'daki hiperandrojenizmden sorumlu olabileceği yolunda bir teori ortaya koymuşlardır [7].

2.9.2 Androjen Reseptör Geni

Urbanek ve arkadaşları X'e bağlı androjen reseptör geninde, tekrarlayan CAG polimorfizmi ile PKOS ilişkisini göstermek çalışmışlardır [4]. Bununla birlikte Mifsud ve arkadaşları tekrarlayan kısa CAG polimorfizmi ile androjen düzeyleri arasında ters bir ilişki olduğunu bulmuşlardır [125]. PKOS'lu kadınlarda yapılan bir diğer çalışmada ise, bu hastalarda normal kadınlara göre uzun CAG allellerinin sıklığının anlamlı derecede fazla olduğu saptanmıştır [126].

2.9.3 İnsülin Sekresyon ve Etkisi ile İlişkili Genler (INS-VNTR)

PKOS'daki en önemli sorumlu lokus INS-VNTR'dir [127]. INS-VNTR, 5' regülatuar bölgede bulunur ve insülin gen ekspresyonu ile tipII DM etyolojisinde

önemli rol oynar. Franks ve arkadaşları VNTR'deki sınıf III allellerin anovulatuvar PKOS'dan sorumlu olduğunu bulmuşlardır [7].

2.9.4 Follistatin Geni:

Folikülogenezde rol oynayan genlerdendir. Urbanek ve arkadaşları kromozom 5 üzerindeki follistatin lokusunu incelemişler ve beklenmedik bir biçimde PKOS ile arasında güçlü bir bağlantı olduğuna dair kanıtlar elde etmişlerdir [4]. Mevcut bilgilere daha geniş çalışmalardan elde edilen bilgiler eklendiğinde, bulguların anlamlı olmadığını belirtmektedir [128].

2.9.5.SHBG Geni:

Hogenveen ve arkadaşları 482 PKOS'lu kadının 4'ünde SHBG'yi kodlayan gende P156L mutasyonu saptamışlardır [129]. Xita ve arkadaşları da SHBG'deki (TAAAA)n polimorfizmi ile PKOS arasında ilişki olduğunu görmüşler ve PKOS'lu kadınlarda, normal kadınlara göre önemli derecede daha sık uzun (TAAAA)n allelleri bulunduğunu saptamışlardır [130].

2.9.6 CYP21 (P450c21 α) Gen:

21-hidroksilaz enzimini (P450c21 α) kodlayan gen olan CYP21, konjenital adrenal hiperplaziden (KAH) sorumlu tutulmaktadır. Ancak son yapılan çalışmalarda, ACTH uyarısına normal 17-OHP yanıtı PKOS'lu kadınlarda, artmış sıklıkta CYP21 gen mutasyonlarına rastlanmıştır. Bu durum PKOS ve KAH arasındaki ayırıcı tanıda soruna yol açmıştır [131;132].

2.9.7 Calpain-10 Geni (CAPN10):

Tip 2 DM ile ilişkisi gösterilmiş olan bir serin proteazdır [133]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, 112/121-haplotipi, Afrika kökenli Amerikalı kadınlarda yüksek insülin düzeyi ile ilişkili bulunmuş ve bunun Afrika kökenli Amerikalı ve beyaz kadınlarda, PKOS gelişiminde, bir risk artışına yol açtığı saptanmıştır [134]. Gonzalez ve arkadaşları da İspanyol halkında yaptıkları çalışmalarında CAPN10 UCSNP-44 alleli ile PKOS arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir [135]. Fakat bununla birlikte, Haddad ve arkadaşları ise, CAPN10 genindeki değişiklikler ve PKOS arasında ilişki bulmamışlardır [136].

2.9.8 Adiponektin Geni:

Adiponektin geni 17 kb'lık 3 ekson ve 2 introndan oluşur ve 3q27 kromozomunda lokalizedir. İki yüz kırk dört aminoasitten oluşan bu proteinin N

terminal bölge, kısa bir değişken bölge, kollajen bölge ve karboksi terminali olan globüler bölge olmak üzere dört bölümden oluştuğu düşünölmektedir. Adiponektin tip VIII ve tip X kollajenlerle ve özellikle kompleman komponenti C1q ile yapısal olarak büyük bir benzerlik göstermektedir. C terminal bölümünün üç boyutlu yapısı da TNF- α ile büyük bir benzerlik göstermektedir [9;10]

Adipoz doku yakın zamanda aktif bir endokrin organ olarak kabul edildi. Enerji metabolizmasını adipo(sito)kinler adı verilen bir dizi madde salgılayarak düzenlemektedir [137]. Bu peptidler periferik insölin rezistansını etkileyerek, metabolik sendrom patogeneğinde önemli bir rol oynarlar [138]. Bu moleköllerden iyi tanımlanmış birisi olan adiponektin, ilk kez 1995’de Scherer tarafından bildirilmiştir [9]. Adiponektin oldukça önemli metabolik etkileri olan ve yağ dokusundan salınan bir adipositokindir. Kan dolaşımındaki konsantrasyonu 2-30 mg/l arasında olup, diğer majör adipositokinlerden olan leptinden 103 ve inflamatuvar sitokinlerden de (TNF- α gibi) 106 kat fazla miktarda bulunmaktadır [139].

Adiponektin 1995 ve 1997 yıllarında dört bağımsız grup araştırmacı tarafından tanımlanmış ve bu nedenle de değişik isimlerle anılmıştır. Adiponektin ilk kez fare 3T3-L1 adipositlerinde gösterilmiştir [9]. Aynı dönemde Hu ve arkadaşları bu maddeyi klonlayarak “adipoQ” adını vermişlerdir [140]. Adiponektinin insan homoloğu, yağ dokusu DNA’sının “random sekans” klonlanması sırasında bulunmuş ve APM1 (adipose most abundant gene transcript) adı verilmiştir [141]. Yine bu dönemde insan plazmasında saflaştırılan ve jelatin selöloz resine yüksek afinitesi olan bir protein bulunmuş ve GBP28 (gelatin binding protein of 28 kDa) adı verilmiştir [142]. Adiponektinin etki mekanizması yapılan pek çok çalışmaya karşılık hala yeterince bilinmemektedir. Farelere adiponektin verildiğinde iskelet kasındaki insölin reseptörlerinde, insöline bağımlı tirozin fosforilasyonunu arttırdığı ve bu yolla insölin duyarlılığında artmaya yol açtığı gösterilmiş, bu görüş daha sonra insanlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada da doğrulanmıştır [143;144] Adipoz dokudaki TNF- α ekspresyonu üzerine adiponektinin etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte, bu hormonun vasköler endotel hücrelerinde ve makrofajlarda TNF- α sekresyonunu azalttığı bilinmektedir, eğer aynı durum yağ dokusu için de geçerli kabul edilirse, azalmış TNF- α düzeylerinin de insölin duyarlılığını arttırıcı etkisi olabilir [145].

TipII DM’de insölin direnci gelişimine paralel olarak adiponektin düzeylerinde

azalma olmaktadır. Bu durum genetik olarak insülin direnci gelişimine yatkın olan rhesus tipi maymunlarda gösterilmiştir [146]. Bu çalışmada adiponektin düzeyleri, vücut ağırlığı ve açlık insülin düzeyleri ile negatif korelasyon göstermekte iken; insülin duyarlılığının bir belirteci olan insülinle uyarılmış glukoz uptake düzeyi ile pozitif ilişki göstermekte idi. Adiponektin düzeylerinin düşmesi ile belirgin hiperglisemi oluşan bu maymunlarda, hiperinsülineminin gelişimi adiponektin seviyelerinde düşmeyi açıklayabilir gibi görünse de, tipII DM'nin ilerleyen evrelerinde, insülin düzeylerinin giderek düşmesine rağmen adiponektin seviyeleri yükselmekte idi. Bu yüzden adiponektin seviyelerinin, doğrudan kandaki mutlak insülin düzeyinden değil, adiposit-insülin ilişkisi veya sinyal düzenlenmesinden etkilendiği sonucuna varılmıştır. Bunu destekleyen bir başka araştırmada da, 3T3-L1 adipositlerinin adiponektin salgılayabilmesi için, insülin sinyal aktivitesinde çok önemli bir yeri olan fosfotidil inozitol 3- kinaza ihtiyacı olduğu gösterilmiştir [46].

Adiponektin düzeyleri kişinin etnik yapısı ile de ilgilidir. Beyaz ırktan olan ve benzer VKI'ye sahip kişilerle yapılan bir karşılaştırmada, Pima yerlilerinde adiponektin düzeyleri daha düşük bulunmuştur; ki Pima yerlilerinde obezite, tipII DM ve insülin direnci oranı oldukça yüksektir [147]. Diabetik olmayan kadınlarda yapılan bir çalışmada gösterildiği gibi adiponektin, kan lipidleri ile de oldukça yakın bir ilişki gösterir. Artmış adiponektin düzeyleri yüksek HDL kolesterol ve Apo A-1 ile birliktelik gösterirken; azalmış adiponektin düzeyleri artmış trigliserid konsantrasyonları ve artmış Apo B ve E düzeyleri ile birliktedir [148]. Bu bulgular dislipidemide görülen düşük adiponektin düzeylerinin metabolik sendromdaki aterosklerotik değişiklikleri arttırabileceğini düşündürmektedir [149].

Koroner arter hastalığı olan kişilerde, kardiyovasküler risk değerlendirmesinde sık kullanılan belirteçlerden olan C-reaktif proteinin(CRP) adiponektin düzeyleri ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir [150]. Bu sonuçlar adiponektinin, aterosklerozun erken dönemlerinde bir belirteç olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir [139].

Adiponektinin insülin direnci, obezite, DM ve ateroskleroz gibi durumlarda düşük bulunması, adiponektinin yerine konulmasının bu hastalıkların tedavisinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Adiponektin,antidiyabetik ve hipolipidemik etkisinin yanında potansiyel antiinflamatuvar özellikleri ile ateroskleroz gelişimini önlerken, bu etkilerini kilo alımında artmaya yol açmadan oluşturacağı düşünülmektedir

[149].

Son dönemde yapılan çalışmalarda adiponektinin C terminal globüler bölgesinin ateroskleroz gelişiminden koruyucu olabileceği üzerinde durulmuştur. Bu etkiyi TNF- α 'nın etkisini göstermesini önleyerek yaptığı öne sürülmüştür [151]. Adiponektinin salınımından sonra proteolitik olarak ayrıldığı düşünülmektedir. Bu sonuca hem fare hem de insan kanında bulunan 27 kDa ağırlığındaki ve C terminalini içeren bölgenin bulunduğu daha küçük molekülün saptanması ile varılmıştır. Bu ayrılma sonucunda oluşan ürünün biyoaktif özelliğinin daha üstün olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte, yapılan başka çalışmalarda bu doğrulanmamıştır [149]. Adiponektinin yıkımı hakkında çok fazla bilgi bulunmamakla birlikte ilerlemiş böbrek yetmezliği bulunan hastalarda adiponektin düzeyinin artışı, böbreklerin bu yıkımda rol oynayabileceği düşüncesini ortaya çıkarmaktadır [152].

Diabetik olmayan popülasyonda adiponektin geninde bir tanesi sık, 2 tanesi nadir gözükken genetik polimorfizm tanımlanmıştır. İnsan adiponektin geninin ekson2'sinde T/G sessiz polimorfizmi (T45G \square Gly15Gly), bir şekilde plazma adiponektin seviyelerin etkileyebilmektedir [11;153;154].

Adiponektin gen polimorfizmi ve insülin rezistansı arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılmasına rağmen, şimdiye kadar adiponektin gen polimorfizmini PKOS'da inceleyen az sayıda çalışma vardır

Bu çalışmanın amacı sağlıklı bireyler ile PCOS teşhisi konulmuş bireylerde adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri çalışılarak toplumumuzdaki sıklığın araştırılması ve PCOS'la genetik ilişkilerinin gösterilerek genetik yatkınlığın belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.MATERYAL VE METOD

Çalışmamıza Ocak 2008– Haziran 2009 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvuran 51 PKOS' lu hasta, ve 49 sağlıklı birey olmak üzere toplam 100 olgu çalışmaya dahil edildi. Çalışma prospektif kontrollü ve tek merkezli olarak planlandı. Üniversitemiz etik komitesi tarafından çalışmaya onay verildi.

3.1 Hasta Seçimi

Hasta grubunu oluşturan PKOS'lu olguların yaş aralığı 18 – 35 olarak belirlendi PCOS'lu olguların bilinen başka hiçbir sistemik hastalık öyküsü olmayıp, olgulara PKOS tanısı 2003 Rotterdam kriterleri [26;27] esas alınarak konuldu. Hasta grubunu oluşturan olguların hiçbirinde seks hormon ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen ilaç kullanımı yoktu. Ek olarak önceden PKOS tanısı almış ve oral kontraseptif (OK) ilaç kullanan olguların çalışmaya dahil olmadan 3 ay önce medikasyonları kesildi. PKOS'lu olgularda oligomenore, yılda 8'den az veya 35 günden uzun aralıklarla adet görme olarak kabul edildi. PKOS'lu olgularda NKAH, androjen sekrete eden tümörler, hiperprolaktinemi uygun yöntemlerle ekarte edildi [73]. PKOS düşünülen fakat ultrasonografik inceleme sırasında dominant folikül (>10mm.) veya korpus luteum saptanan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Kontrol grubu 28 ± 7 günlük intervallerle adet gören, Modifiye Ferriman Gallwey skoru < 8 [65] olan ve pelvik ultrasonografide unilateral veya bilateral polikistik over görünümü olmayan olgulardan oluştu.

3.2 Çalışma Protokolü

Çalışmaya alınan tüm olguların yaş tespiti yapıldı. Obstetrik ve jinekolojik özgeçmişleri, menstruel düzen, hirsutizm, reproduktif geçmiş, hipertansiyon, diyabet, oral kontraseptif ve diğer ilaç kullanım öyküleri kaydedildi. Fizik muayenelerinde arteriyel kan basıncı, bel kalça çevresi, boy ve ağırlıkları ölçüldü ve rutin pelvik muayeneleri yapıldı. Hasta ve kontrol grubundaki olguların boy ve kilo ölçümlerini takiben vücut-kitle indeksleri "ağırlık / boy²" formülüyle (kilogram bölü metre kare, kg/m²) hesaplandı. Sekonder seks karakter gelişimi değerlendirildi.

Bütün olguların modifiye Ferrimann-Gallwey skoru tek bir çalışmacı tarafından belirlendi.

Çalışma ve kontrol grubunda menstrüel siklusun foliküler fazında bir gecelik açılığa takiben testleri yapıldı. DHEAS, total testosteron ve glukoz/insulin seviyeleri ölçüldü.

3.3 Kan örnekleri

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında PKOS' lu hasta ve kontrol grubundan 2'şer ml EDTA'lı tam kan alındı ve kanlar DNA izolasyonuna kadar -20°C'de stoklandı.

3.4 DNA İzolasyonu

DNA, EDTA'lı kandan tuzla çöktürme (salting out) tekniğine göre izole edildi. Öncelikle 200 µl'lik kan eritrosit hücre taponuna eklenerek 5–6 defa alt-üst edilerek karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.

Hemoliz işleminden sonra 13.000Xg'de 40 saniye süre santrifuj edildi.

Eritrosit hücrelerinin tamamının parçalanması ve hemogloblin artıklarının uzaklaştırılması için aynı işlem üç defa tekrar edildi.

Sonunda elde edilen lökosit hücrelerinden oluşan çökeltiye %1 SDS (sodyum dodesil sülfat) ve 100µg/ml Proteinaz K içeren 300 µl Lökosit parçalayıcı tampon eklenerek karışım sağlandı.

Tam parçalanma için karışım 55°C'lik sıcaklıkta 30 dakika inkübe edildi.

Hemen ardından final olarak 1.3 M NaCl olacak şekilde tuz eklendi ve kısa bir inkübasyondan sonra 6 dakika süre ile santrifüj edildi ve üst faz alındı.

Üst fazdaki DNA'nın saflaştırılması için kloroform ile muamele edildi. Presipitasyon işlemi için saf alkol, yıkama için de %70'lik alkol kullanıldı.

En sonunda DNA 100 µl deiyonize su ile çözülerek, DNA konsantrasyonu 20ng/µl olacak şekilde konsantrasyonu ayarlandı ve PCR'a kadar -20°C'ye kaldırıldı.

3.4.1 Primerler

ADIPOQ (adiponectin, C1Q and collagen domain containing) geni üzerinde bulunan; 4522C>T (Intron 1'in 5'kesim yerinde; dbSNP rs822393), 10211T>G (Intron 1; dbSNP rs17846866) ve 45T>G (Exon 2; dbSNP rs2241766) polimorfik noktalarının genotip ve allel bölgelerini belirlemek üzere 6 adet primer kullanıldı (Tablo 4).

Tablo 4: *Adiponektin* geni üzerinde seçilen primer dizileri

Primerler	Primer dizileri	PCR ürünün uzunluğu
4522C>T	5'-GTTCTGACTTCCAAATCGGTG-3' 5'-CATTAGAGTCAAAGCAGGGC-3'	226 bç
10211T>G	5'-GCTAAGTATTACAGATTTTCAGGGCAG-3 5'-CAGCAACAGCATCCTGAGC-3'	223 bç
45T>G	5'-TGTGTGTGTGGGGTCTGTCT-3' 5'-TTCTCACCTTCTCACCAGG-3'	264 bç

3.5 PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu)

Gen üzerinde seçilen 4522C>T, 10211T>C ve 45T>G polimorfizmlerinin durumlarını belirlemek üzere DNA, seçilen primerler varlığında PCR metodu ile amplifikasyondan hemen sonra RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism) metodu ile analiz edilecektir.

Her üç polimorfik alan için DNA ayrı ayrı;

1xPCR tamponu,

1.5 mM MgCl₂,

0.2 µM primerler (polimorfik yere göre seçilen forward, diğeri reverse primer),

200 µM dNTPs,

30 ng genomik DNA,

0.5 U Taq DNA polimeraz içeren 10µl'lik reaksiyon karışımında amplifiye edildi. Uygulanan PCR programı 4522C>T ve 10211 polimorfik noktalar için primer yapışma sıcaklığı dışında tamamen aynı olurken 45T>G polimorfik nokta için farklı bir yöntem uygulandı.

4522C>T polimorfik nokta için PCR programı;

94°C'de 3 dakika süre ilk denaturasyonun ardından 30 siklus 94°C'de 30 sn, 66°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn boyunca ve final tamamlama için 72°C'de 5 dakika boyunca uygulandı.

10211T>G polimorfik noktası için uygulanan PCR programı 4522C>T polimorfik nokta için uygulanan programla aynı, ancak primer yapışma sıcaklığı 64°C olarak tatbik edildi.

Son polimorfik nokta olan 45T>G için Touchdown PCR metodu uygulandı. Bunun için; ilk denatürasyon 94°C'de 3 dakika ve daha sonra 9 siklus boyunca her siklуста bir derece santigrat düşürülecek şekilde 94°C'de 30sn, 70°C'de 30 sn süre ve 72°C'de 30 sn, daha sonra 21 siklus boyunca 94°C'de 30sn, 62°C'de 30 sn ve 72°C'de 30sn'lik bir programın sonunda final tamamlama için 72°C'de 5 dakikalık bir amplifikasyon uygulandı.

3.6 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Analizi

4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfik noktaları için elde edilen 10µl'lik PCR ürünleri 30µl restriksiyon endonükleaz karışımı içinde ilgili restriksiyon endonükleazlar tarafından kesime tabii tutuldu.

Bunun için 4522C>T ve 10211T>G polimorfik yerlere ait PCR ürünleri *Hinf*I ve 45T>G polimorfik yerlere ait PCR ürünü ise *Bsp*HI enzimleriyle ayrı ayrı 37°C ve 2 saatlik süre ile kesime tabii tutuldu.

3.7 Elektroforez

Kesilen PCR ürünleri; 10mM Lithium Borat (pH 8.2) tamponunda hazırlanan ve içinde 0.5 µg/ml EtBr (Etidyum Bromid) bulunan %2.5'luk agaroz jelinde DNA Marker'i varlığında yürütüldü.

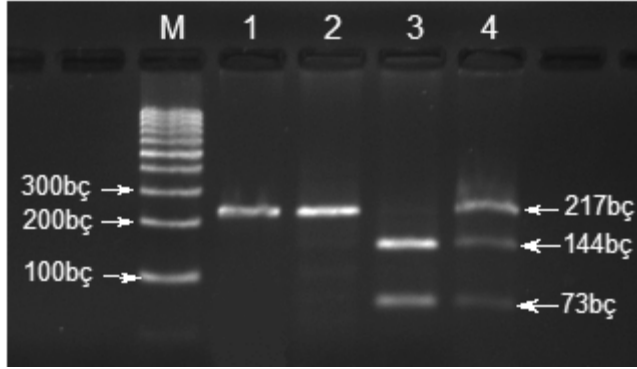
3.8 Değerlendirme

Elektroforez sonrası, tüm jellerde bulunan DNA bandları, DNA markerleri varlığında Jel dökümentasyon ve analiz sistemi ile analiz edilerek fotoğrafları çekildi. Buna göre PCR-RFLP analizinin yapıldığı 4522C>T polimorfik alanı için DNA band büyüklükleri:

CC genotipi (homozigot, normal) için 144, 73 ve 9bp;

CT genotipi (heterozigot, taşıyıcı) için 217, 144, 73 ve 9 bp, ve

TT genotipi (homozigot, polimorfik) için 217 ve 9 bp büyüklükler dikkate alındı (Şekil 4).



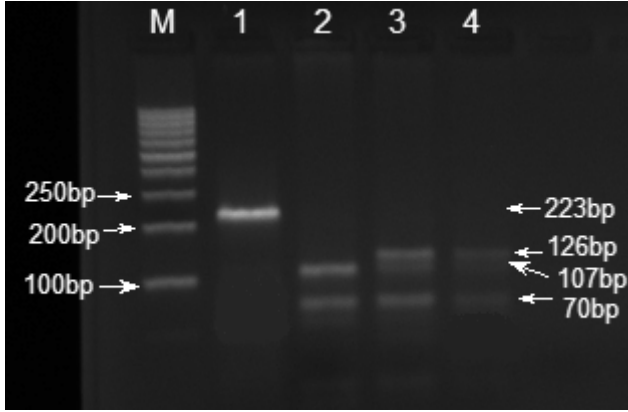
Şekil 4: *Adiponektin* geni 4522C>T polimorfik noktasının *HinfI* kesim profili. M: Marker (50-1000bp); 1: Kesilmemiş PCR ürünü; 2: TT genotip (homozigot, polimorfik); 3: CC (homozigot, normal); 4: CT (heterozigot, taşıyıcı) (Not: 9 bç agaroz jelinde görüntülenememektedir).

RFLP analizi sonucu 10211T>G polimorfik alanın genotiplemesinde;

TT genotipi (homozigot, normal) 107, 70, 27 ve 19 bp;

TG genotipi (heterozigot, taşıyıcı) 126, 107, 70, 27 ve 19 bp,ve

GG genotipi (homozigot, polimorfik) 126, 70 ve 27 bp olarak kabul edilildi (Şekil 5).



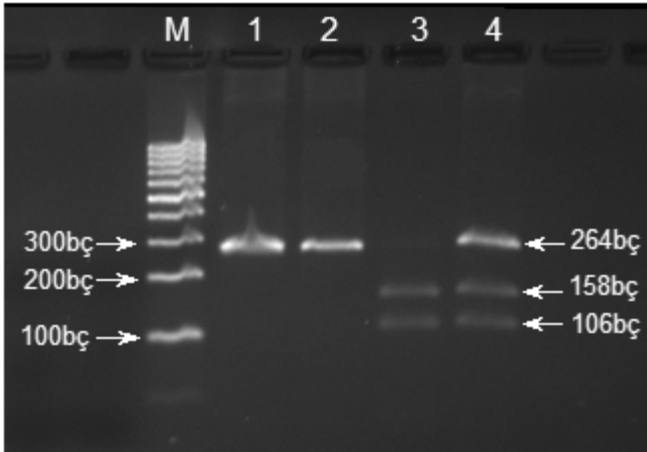
Şekil 5: *Adiponektin* geni 10211T>G noktasına ait *HinfI* kesim profili. M: Marker (50-1000bp); 1: kesilmemiş PCR ürünü; 2: TT genotip (normal); 3: TG (heterozigot); 4: GG (homozigot, polimorfik) (Not: 27 ve 19bp agarozda görülememektedir).

45T>G polimorfik noktasının genotiplemesinde

TT genotipi (homozigot, normal) 158 ve 106 bp,

TG genotipi (heterozigot, taşıyıcı) 264, 158 ve 106 bp, ve

GG genotipi (homozigot, polimorfik) 264 bp olarak değerlendirildi (Şekil 6).



Şekil 6: *Adiponektin* geni 45T>G polimorfik noktasının *BspHI* kesim profili. M: Marker (50-1000bp); 1: kesilmemiş PCR ürünü; 2: GG genotip (homozigot, polimorfik); 3: TT (homozigot, normal); 4: GT (heterozigot, taşıyıcı).

3.9 İstatistik

Hasta verileri SPSS 11.5 for Windows programına aktarılarak istatistikleri hesaplandı. Verilerin minimum ve maksimum değerleri ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak yüzde cinsinden ifade edildi. Hasta ve kontrol gruplarından elde edilen veriler öncelikle Hardy-Weinberg prensibine uyumları belirlendikten sonra Fisher's exact testi ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 51 PKOS'lu hasta (18-35 yaş arası, ortalama yaş 26.49 ± 4.187) ve 49 sağlıklı birey (18-35 yaş arası ortalama yaş 26.24 ± 4.54) kontrol grubu olarak alındı. PKOS ve kontrol grubu arasında yaş değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$). İki grup arasında BMI, DHEAS, total testosteron ve glukoz /insulin oranı ise istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklıydı ($p < 0.05$). PKOS olguları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek BMI, DHEAS ve total testosteron düzeylerine sahiptir ($p < 0.05$). Glukoz /insulin oranı değerlendirildiğinde hasta grubunda kontrol grubuna oranla daha düşük olarak bulunmuştur ($p < 0.05$). Tablo 5 'de PKOS ve kontrol olgularının klinik ve laboratuvar özellikleri gösterilmektedir.

Tablo-5 PKOS ve kontrol grubunda klinik ve laboratuvar özellikleri

	PKOS n=51	Kontrol n=49	p
Yaş(yıl)	26.49±4.187	26.24±4.54	0.780
BMI(kg/m²)	29.98±4.19	25.37±3.54	0.000
DHEAS	174.60±62.48	141.78±61.41	0.009
Total testosteron	62.34±21.74	48.02±19.35	0.001
Glukoz/İnsulin	10.06±8.18	14.84±9.30	0.008

Çalışmaya alınan 51 PKOS'lu hasta ve 49 sağlıklı bireyde:

4522C>T adiponektin gen polimorfizmi 13 kişide (%25.5) heterozigot polimorfik 6 kişide (%11.8) homozigot polimorfik ($p > 0.05$), aynı bölge için kontrol grubunda ise 18 kişide (%36.7) heterozigot polimorfik, 3 kişide homozigot polimorfik olarak saptandı ($p > 0.05$).

10211T>G adiponektin gen polimorfizmi 6 kişide (%11.8) heterozigot polimorfik 2 kişide (%3.9) homozigot polimorfik ($p > 0.05$), aynı bölge için kontrol

grubunda ise 7 kişide (%14.3) heterozigot polimorfik, 1 kişide homozigot polimorfik olarak saptandı (p>0.05).

45T>G adiponektin gen polimorfizmi ise 28 kişide(%54.9) heterozigot polimorfik 1 kişide (%2.0) homozigot polimorfik(p>0.05) aynı bölge için kontrol grubunda ise 30 kişide (%61.2) heterozigot polimorfik, 2 kişide(%4.1) homozigot polimorfik olarak saptandı(p>0.05).

Adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri açısından PKOS'lu hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p>0.05). Sonuçlar ve istatistiksel ilişkileri tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo-6 PKOS ve kontrol grubunda *Adiponektin* geni polimorfizmlerinin dağılımı

SNP Genotip/Allel	Polikistik yumurtalık Sendromlu hastalar (n=51)	Sağlıklı kontrol (n=49)	X ²	OR (95% CI)	p-değeri
+4522C>T					
CC	32 (62.7%)	28 (57.1%)	0.327	1.263 (0.567-2.815)	reference
CT	13 (25.5%)	18 (36.7%)	1.477	0.589 (0.250-1.388)	0.281
TT	6 (11.8%)	3 (6.1%)	0.971	2.044 (0.482-8.677)	0.488
C	77 (75.5%)	74 (75.5%)	0.000	0.999 (0.524-1.903)	reference
T	25 (24.5%)	24 (24.5%)	0.000	1.001 (0.525-1.907)	1.000
+10211T>G					
TT	43 (84.3%)	41 (83.7%)	0.008	1.049 (0.360-3.055)	reference
TG	6 (11.8%)	7 (14.3%)	0.140	0.800 (0.249-2.574)	0.772
GG	2 (3.9%)	1 (2.0%)	0.304	1.959 (0.172-22.326)	1.000
T	92(90.2%)	89 (90.8%)	0.022	0.930 (0.361-2.397)	reference
G	10 (9.8%)	9 (9.2%)	0.022	1.075 (0.417-2.770)	1.000
c.45T>G					
TT	22 (43.1%)	17 (34.7%)	0.749	1.428 (0.636-3.204)	Reference
TG	28 (54.9%)	30 (61.2%)	0.410	0.771 (0.348-1.710)	0.549
GG	1 (2.0%)	2 (4.1%)	0.386	0.470 (0.041-5.356)	0.614
T	72 (70.6%)	64 (65.3%)	0.641	1.275 (0.703-2.312)	Reference
G	30 (29.4%)	34 (34.7%)	0.641	0.784 (0.432-1.422)	0.451

Kısaltmalar: X² = Ki kare, OR = olasılık oranı (Odds ratio), CI = Güven aralığı (Confidence interval), SNP = Tek nükleotid değişimi (Single Nucleotide Polymorphism).

5. TARTIŞMA

PKOS tüm kadınların %5-10'nu etkileyen ve kadın infertilitesinin en sık görülen nedenlerinden biridir [155,156]. PKOS' un etyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Bu endokrin hastalığın genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle meydana geldiği öne sürülmektedir [113.157]. PKOS, pituiter glandın aşırı uyarılması ile karakterlidir [158]. Bu aşırı uyarı overde anovulasyon, multipl kistler ve androjen salınımında artış ile sonuçlanır. İnsülin bağımlı PKOS'da primer problem insülin rezistansı yani glukozun hücre içine girişinin zorlaşmasıdır [159]. Bu durum kan glukozunda artışa ve hiperinsülinemiye neden olur. İnsülin ve LH overlerden androjen yapımını artırır ve SHBG miktarını azaltır. Bu durum da dolaşımda daha fazla serbest testosteron bulunmasına neden olarak semptomların alevlenmesine yol açar.

PKOS, kronik anovulasyon ve hiperandrojenizmin bulunduğu tipteki infertilitenin en sık sebebidir [37]. Kompensatuvar hiperinsülinemi ile giden insülin direnci, sendromun en belirgin özelliğidir ve muhtemelen genetik olarak belirlenmiş bir durumdur [160,161]. PKOS etyopatogenezinde insülin direncinin temel rol oynadığının belirlenmesinden sonra insülin direnci ile ilişkili olabilecek genetik araştırmalar önem kazanmıştır.

Günümüzde PKOS sadece reproduktif sistemi ilgilendiren bir sorun olmaktan çıkmış ve kadın hayatını pek çok yönden etkileyen bir bozukluk olduğu anlaşılmıştır. PKOS' lu kadınların BGT ve Tip 2 DM gelişimine yatkınlıkları çok iyi bilinmektedir [25,162] Obezite, insülin direnci ve bozulmuş pankreatik beta hücre fonksiyonu bu yatkınlıkla ilişkilidir [163,164]. PKOS'lu kadınlarda sıklıkla insülin direnci ve sonucunda kompensatuvar hiperinsülinemi vardır ve hayatlarının 3.-4.dekadında glukoz intoleransı veya Tip 2 DM gelişimi açısından artmış riske sahiptirler [39,165-167]. Legro ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PKOS'lu kadınlarda %31.1 oranında BGT ve %7.5 oranında Tip 2 DM tespit edilmiştir. Obez olmayan PKOS'lularda %10.3 oranında BGT ve %1.5 oranında Tip 2 DM bulunmuştur [25]. Ehrmann ve arkadaşlarının PKOS'lu 122 kadında yaptığı bir çalışmada; %45'inde anormal glukoz toleransı bulunmuş; %35'inde BGT ve %10'unda Tip 2 DM tespit edilmiştir [162]. Bu prevalans aynı yaştaki kadınlardan daha yüksektir [168].

Adipoz doku yakın zamanda aktif bir endokrin organ olarak kabul edildi. Enerji metabolizmasını adipo(sito)kin adı verilen bir dizi madde salgılayarak düzenlemektedir [137]. Bu peptidler periferik insülin direncini etkileyerek, metabolik sendrom patogenezinde önemli bir rol oynarlar [138]. Bu moleküllerden iyi tanımlanmış olanlarından birisi de adiponektindir [9]. Adipositokinlerden sadece adiponektin obez kişilerde azalmıştır [169]. Adiponektinin antiaterojenik etkilerinin olduğu ve insülin duyarlılaştırıcı bir ajan olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir [170-172].

PKOS çeşitli endokrinolojik ve reproduktif bozukluklara yol açan ailesel bir hastalıktır, ancak hastalığın genetik alt yapısı tam olarak belirlenememiştir. PKOS'un genetik temeline yönelik yapılan çalışmalarda 30'dan fazla gen incelenmiştir. Bu genlerden birisi de adiponektin genidir. Adiponektin geni 17 kb'lık 3 ekson ve 2 introndan oluşur ve 3q27 kromozomunda lokalizedir [9-11]. Bir tanesi sık, 2 tanesi nadir görülen genetik polimorfizmi tanımlanmıştır [11,173]. Polimorfizm sekansları insanlarda belirlenmiş ve insülin rezistansı ile sirkülatuar adiponektin konsantrasyonları ile ilişkisi araştırılmıştır [174-176]. Ekson 2'de 45 T>G sessiz polimorfizmi bir şekilde plazma adiponektin seviyelerini etkileyebilmektedir [11;153;154]. Bu sık görülen polimorfizmlerin obezite riski, insülin rezistansı, tip 2 DM ve yüksek LDL-kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğu son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [153,154,177]. Buna karşın bazı çalışmalarda ise obezite ve tip 2 DM ile arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır [11,173,178]. Ancak hem PKOS hem de metabolik sendromda oluşan fenotipten bu genetik değişkenliğin sorumlu olduğu düşünülmüştür [179].

Yaptığımız literatür taramasında PKOS ve araştırma kapsamına alınan gen polimorfizmleri için yapılan diğer çalışmalarda farklı sonuçlar görülmektedir. Hem çalışmamızda hem de diğer toplumlardaki farklılıklar seçilen gen polimorfizmleri etnik gruplara göre farklı ifadenmesi, klinik heterojenite ve çevresel faktörlerle etkileşimin her toplum için farklı olması ile açıklanabilir. Adiponektin gen polimorfizmi ve insülin rezistansı arasındaki ilişki bir çok çalışmada araştırılmasına rağmen, adiponektin gen polimorfizmini PKOS'da inceleyen çalışma sayısı çok azdır [180-182].

PKOS'lu hastalarda adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmlerini araştırmayı amaçladığımız bu çalışmada Panadis ve arkadaşlarının çalışmasına benzer olarak DHEAS ve total testosteron PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu(p<0.05).

Araştırmamızda 4522C>T adiponektin gen polimorfizmi 19 kişide (% 37.3) saptanmış (p>0.05) aynı bölge için kontrol grubunda ise 21 kişide (%42.8) saptanmış(p>0.05). 10211T>G adiponektin gen polimorfizmi 8 kişide (%15.7) saptanmış (p>0.05) aynı bölge için kontrol grubunda 8 kişide(%16.3) saptanmış (p>0.005) .45T>G adiponektin gen polimorfizmi ise 29 kişide(%56.9) saptanmış(p>0.05) aynı bölge için kontrol grubunda ise 32 kişide (% 65.3) saptanmış (p>0.05).Adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri açısından PKOS'lu hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı(p>0.05)

Yapılan bir Fin çalışmasında PKOS ve kontrol grupları arasında, adiponektin geninde ekson 2 +45 pozisyonundaki tek nükleotid polimorfizmine (SNP 45) ait genotip ve allel sıklıklarının dağılımı tamamen benzer olarak bulunmuştur [180]. Çalışmamızda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Yunanlı kadınlarda yapılan bir çalışmada da, PKOS ve kontrol gruplarında adiponektin genindeki 45T>G ve 276G>T polimorfizmlerinin frekansları arasında anlamlı farklılık saptanmamış ve +45 ve +276 pozisyonlarındaki bu polimorfizmler PKOS gelişmesi riski ile ilişkilendirilememiştir. Yine bu çalışmada, normal kilolu PKOS'lu kadınlara göre obez PKOS'lu kadınlarda +45 pozisyonunda TT genotipi ve T alleli daha az sıklıkla saptanırken, TG genotipi ve G alleli daha sık saptanmış; fakat bunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır [182]. Benzer olarak Panidis ve arkadaşları da X²-testi uygulandığında üç genotipin ayrı ayrı dağılımında istatistiksel fark bulunamamış ve adiponektin genindeki T45G polimorfizmi ile PKOS arasında bir ilişki gösterememişlerdir. Son dönemlerde San Millan ve arkadaşları tip 2 DM, obezite ve insülin rezistansında 45T>G ve 276G>T adiponektin gen polimorfizmlerinin PKOS ile potansiyel ilişkisini gözden geçirmişler ve sonuçta, her iki polimorfizm için PKOS oluşturma riski açısından çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak fark saptamamışlardır [183].

Demirci ve arkadaşlarının ekson 2'deki T45G adiponektin gen polimorfizmi ile ilgili yaptığı bir çalışmada, hem PKOS hem de kontrol grubunda her üç genotipe sahip hastaların BMI'leri, bel çevreleri ve bel/kalça oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamış (p>0.05). Yani, ekson 2'deki T45G adiponektin gen polimorfizmi PKOS'daki klinik bulgular ve antropometrik parametreler ile ilişkili gibi görünmemektedir [184]. Bu sonuç, yakın zamanlarda yapılan ve obezite ile T45G

polimorfizmi arasında ilişki bulamayan çalışmalarla da benzerdir [11;173]. Fakat bizim çalışmamızda Demirci ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak hasta ve kontrol grubu arasında BMI istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklıydı ($p < 0.05$) Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada Heinonen ve arkadaşları adiponektin geninin polikistik over sendromunda iki tek nükleotid polimorfizmleri arasındaki ilişkileri araştırmışlardır. Bu çalışmada adiponektini kodlayan gendeki genetik değişkenliğin polikistik over sendromu (PCOS) ile ilişkili olduğu bulunmuş. Toplam 143 Kafkas PCOS'lu kadın ve 245 sağlıklı kadın kontrol grubunda adiponektin geninde ekson 2 ve intron 2 de iki tek nükleotid polimorfizm (SNPs) için genotip edilmiş. PCOS ve kontrol grubunda iki nükleotide polimorfizmlerinin tahmini halotip frekansını incelemek için tek nokta analizi loci halotip analizine genişletilmiş. T alleli ile 2 SNP grup arasında farklı allel dağılımı önemli ölçüde kontrol grubunda (% 32.7) ($p = 0.047$), PCOS grubunda (% 25.9) azaltılmış olduğu görülmüş (% 95 güven aralığı 0.52-0.99). SNP allel ve genotip dağılımları gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı belirlenmiş. Tek nükleotide polimorfizmleri allele ve genotip dağılımları farklı gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış. Tahmini halotip analizinde PCOS grubunda % 25.9 daha az bir T-T halotip frekansı belirlenmiş. Kontrol grubunda bu oran % 32.9 olduğu izlenmiş. PKOS'lu ve bu genotipler açısından farklı kadınlarda ağırlık (BMİ) dağılımı benzer bulunmuştur Adiponektin geninin polimorfizmlerinin PCOS'la bireysel duyarlılık içinde ilişkilendirilebileceğini sonucuna varılmış [179]. Yapılan bir Japon çalışmasında hem 45T>G hem de 276G>T polimorfizmleri tip 2 DM ile ilişkili bulunmuştur [177]. Yapılan bir Alman çalışmasında ise, 45G>T polimorfizminin obezite ve insülin rezistansı ile olan ilişkisi gösterilmiştir [185].

Escobar-Morreale ve arkadaşları polikistik over sendromu (PCOS) patogeneğinde adiponektin ve resistinin olası katılımını değerlendirmek için çapraz-kesitsel bir vaka-kontrol çalışması yapmışlardır. Serum adiponektin konsantrasyonları PCOS hastalarında kontrol ile kıyaslandığında düşük bulunmuştur. Burada obezite derecesine bakılmamıştır. Fakat serum resistin seviyeleri obezlerde artmış olarak bulunmuştur. Adiponektin ve resistin polimorfizmleri PCOS ile ilişkili olmadığı ve adiponektin, resistin ve diğer klinik ve hormonal değişkenlerin serum seviyesinin etkilenmediği bulunmuştur. Çoklu regresyon modelinde, insülin direnci hariç bel kalça oranı, serbest testosteron düzeyleri, yaş ve

hipoadiponektinin en önemli belirleyicileri olduğu bulunmuş. Abdominal obesite ve hiperandrojenizm ile ilgili PCOS hastalarında hipoadiponektinemi bulunmuştur. Hiperandrojenizm ve abdominal obezite adiponektin seviyelerini azaltarak PCOS un insülin direncine katkıda bulunabildiği söylenmiştir [186].

Zhang ve arkadaşları Çinli PCOS' lu hastalarda Adiponektin geninde C45G15G (T / G) ve C276 (G / T) polimorfizmlerinin ilişkisini araştırmışlardır. Her iki tek nükleotid polimorfizmi PCOS ile ilişkili bulunmuştur. Tek nükleotid polimorfizminde C276 (G / T), G alleli açlık insülin düzeylerindeki artış ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur, homeostasis model değerlendirme, IR indeksi değerlendirmek ve alan eğri glikoz düzeyleri bunların altında bulunmuş fakat PCOS hastalarında glikoz ve insülin oranı düşük bulunmuş. Bu çalışmadaki kanıtlar SNPs C45G15G (T / G) ve C276 (G / T) Adiponektin geni Han Çinli kadınlarda PCOS ile ilişkili olduğu gösterilmiş. SNPC276 (G / T) insülin düzeyleri PCOS için duyarlılık gösteren bir etkisinin olduğu izlenmiş [187].

Çalışmamızın sonucunda ise, adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri PKOS'lu olgular ile kontrol grubu arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır($p>0.05$). Bu polimorfizm alanları için çalışmamızda PKOS için genetik risk faktörü olarak belirlenemeyeceği düşünülebilir.

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri çalışılarak PKOS' la ilişkisi değerlendirilmiştir.

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar, adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri bakımından hasta bireyler ve kontrol grubu arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir bağlantı kurulamadığını göstermektedir. Dolayısıyla, daha önceki farklı çalışmalarda aday gen olabilecekleri öne sürülen bu gen polimorfizmlerinin bizim çalışmamızda PKOS'a yatkınlıkta rolünün olmadığı düşünülmektedir.

PKOS ve adiponektin geni 4522C>T, 10211T>G ve 45T>G polimorfizmleri hakkında genetik yatkınlık açısından daha kesin ve kapsamlı bir sonuç elde edebilmek için daha büyük populasyonlarda araştırma yapılması daha net bilgilere ulaşılmasına olanak sağlayacaktır. Ayrıca, her toplumun etnik kökeni ve etkileşim içinde olduğu farklı çevresel faktörler değerlendirilerek farklı polimorfik bölgelerin analizi ve daha büyük gen bölgelerinin çalışılması bu hastalığın genetik temelini aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

7.KAYNAKLAR

- 1- Stein I, Leventhall M: Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935;29:181-191.
- 2 - Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the Southeastern United States: A prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*1998; 83: 3078-3082
- 3- Franks S. Polycystic over syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333: 853-61.
- 4- Urbanek M, Legro RS, Driscoll DA, Azziz R, Ehrmann DA, Norman RJ, Strauss JF, III, Spielman RS, Dunaif A: Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:8573-8578
- 5- Haap M, Machicao F, Stefan N, Thamer C, Tschritter O, Schnuck F, Wallwiener D, Stumvoll M, Haring HU, Fritsche A. Genetic determinants of insulin action in polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2005 May;113(5):275-81.
- 6- Escobar-Morreale HF, Luque-Ramirez M, San Millan JL. The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev*. 2005 Apr;26(2):251-82.
- 7- Franks S, McCarthy M: Genetics of ovarian disorders: polycystic ovary syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* 2004;5:69-76.
- 8- Franks S, Gharani N, McCarthy M. Candidate genes in polycystic ovary syndrome. *HumReprod Update*2001; 7: 405-410.
- 9- FScherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF: A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995;270:26746-26749.
- 10- Hu E, Liang P, Spiegelman BM: AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996;271:10697-10703.
- 11- Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Shimomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y: Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:861-868.
- 12- Achard C, Thiers J: Le virilisme pileaire et son association a l'insuffisance glycolytique. *Bull Acad Natl Med* 1921;86:51-83.
- 13- Koivunen R: Endocrine and metabolic changes in women with polycystic ovaries; Finland, University of Oulu, 2001.

- 14- Hashemipour M, Faghihimani S, Zolfaghary B, Hovsepian S, Ahmadi F, Haghighi S: Prevalence of polycystic ovary syndrome in girls aged 14-18 years in Isfahan, Iran. *Horm Res* 2004;62:278-282.
- 15- Clayton RN, Ogden V, Hodgkinson J, Worswick L, Rodin DA, Dyer S, Meade TW: How common are polycystic ovaries in normal women and what is their significance for the fertility of the population? *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;37:127-134.
- 16- Cresswell JL, Barker DJ, Osmond C, Egger P, Phillips DI, Fraser RB: Fetal growth, length of gestation, and polycystic ovaries in adult life. *Lancet* 1997;350:1131-1135.
- 17- Farquhar CM, Birdsall M, Manning P, Mitchell JM, France JT: The prevalence of polycystic ovaries on ultrasound scanning in a population of randomly selected women. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1994;34:67-72.
- 18- Goodarzi MO, Azziz R: Diagnosis, epidemiology, and genetics of the polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20:193-205.
- 19- Homburg R: What is polycystic ovarian syndrome? A proposal for a consensus on the definition and diagnosis of polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2002;17:2495-2499.
- 20- Goldzieher JW, Axelrod LR: Clinical And Biochemical Features Of Polycystic Ovarian Disease. *Fertil Steril* 1963;14:631-653.
- 21- Pang S: Hirsutism, polycystic ovary syndrome and menstrual disorders; in Liftshits F, (ed): *Pediatric Endocrinology*. New York, 2003, pp 277-309.
- 22- Baumann E: Polycystic ovary syndrome in adolescence; 2002, pp 333-348.
- 23- Lobo R, Carmina E: Polycystic ovary syndrome; in Mishell D, (ed): *Contraception and Reproductive Endocrinology*. Boston, 1997, pp 363-383.
- 24- Dunaif A, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z: Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1995;96:801-810.
- 25- Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC, Dunaif A: Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:165-169.
- 26- Abdel GA, Khatim MS, Mowafi RS, Alnaser HM, Muharib NS, Shaw RW: Implications of ultrasonically diagnosed polycystic ovaries. I. Correlations with basal hormonal profiles. *Hum Reprod* 1992;7:453-457.

- 27- Polson DW, Adams J, Wadsworth J, Franks S: Polycystic ovaries--a common finding in normal women. *Lancet* 1988;1:870-872.
- 28- Hull MG: Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynecol Endocrinol* 1987;1:235-245.
- 29- Hamburg R: Management of polycystic ovary syndrome in adolescence; *Reviews in Gynecological Practice*. 2004, pp 148-155.
- 30- Chang R, Katz S: Diagnosis of PCOS. *Endocrinol Metab North Am* 1999;28:397-408.
- 31- Ibanez I, Hall J, Potau N, Carrascosa A, Prat n, Taylor A: Ovarian 17-hydroxyprogesterone hyperresponsiveness to gonadotropin-releasing hormone agonist challenge in women with polycystic ovary syndrome is not mediated by luteinizing hormone hypersecretion; *J Clin endocrinol metab.* 1996, pp 4103-4109.
- 32- Barnes RB, Rosenfield RL, Burstein S, Ehrmann DA: Pituitary-ovarian responses to nafarelin testing in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1989;320:559-565.
- 33- Rosenfield RL, Ghai K, Ehrmann DA, Barnes RB: Diagnosis of the polycystic ovary syndrome in adolescence: comparison of adolescent and adult hyperandrogenism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13 Suppl 5:1285-1289.
- 34- Pang S: Hirsutism, polycystic ovary syndrome and menstrual disorders; 2003, pp 277-309.
- 35- Barbieri RL, Smith S, Ryan KJ: The role of hyperinsulinemia in the pathogenesis of ovarian hyperandrogenism. *Fertil Steril* 1988;50:197-212.
- 36- Arlt W, Auchus RJ, Miller WL: Thiazolidinediones but not metformin directly inhibit the steroidogenic enzymes P450c17 and 3beta -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Biol Chem* 2001;276:16767-16771.
- 37- Lobo RA: What are the key features of importance in polycystic ovary syndrome? *Fertil Steril* 2003;80:259-261.
- 38- Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A: Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989;38:1165-1174.
- 39- Azziz R, Ehrmann DA, Legro RS, Whitcomb R, Hanley R, Fereshetian A, O'Keefe M, Ghazzi M: Troglitazone improves ovulation and hirsutizm in the polycystic ovary syndrome : a multicenter ,double blind,placebo-controlled trial ; *J Clin Endocrinol Metab.* 2001, vol 86, pp 1626-1631.
- 40- Beamer BA, Yen CJ, Andersen RE, Muller D, Elahi D, Cheskin LJ, Andres R, Roth J, Shuldiner AR: Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome

proliferator-activated receptor-gamma2 gene with obesity in two Caucasian populations. *Diabetes* 1998;47:1806-1808.

41- Crave JC, Fimbel S, Lejeune H, Cugnardey N, Dechaud H, Pugeat M: Effects of diet and metformin administration on sex hormone-binding globulin, androgens, and insulin in hirsute and obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2057-2062.

42- De L, V, La MA, Petraglia F: Insulin-lowering agents in the management of polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev* 2003;24:633-667.

43- Nestler JE, Clore JN, Strauss JF, III, Blackard WG: The effects of hyperinsulinemia on serum testosterone, progesterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and cortisol levels in normal women and in a woman with hyperandrogenism, insulin resistance, and acanthosis nigricans. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:180-184.

44- Legro RS: Polycystic ovary syndrome and cardiovascular disease: a premature association? *Endocr Rev* 2003;24:302-312.

45- Poretsky L, Grigorescu F, Seibel M, Moses AC, Flier JS: Distribution and characterization of insulin and insulin-like growth factor I receptors in normal human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;61:728-734.

46- Bogan JS, Lodish HF: Two compartments for insulin-stimulated exocytosis in 3T3-L1 adipocytes defined by endogenous ACRP30 and GLUT4. *J Cell Biol* 1999;146:609-620.

47- Garzo V, Dorrington H: Aromatase activity in human granulosa cells during development and the modulation by follicle stimulating hormone and insulin. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:657-662.

48- Talbott E, Clerici A, Berga SL, Kuller L, Guzick D, Detre K, Daniels T, Engberg RA: Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic ovary syndrome: results of a case-control study. *J Clin Epidemiol* 1998;51:415-422.

49- Azziz R: Androgen excess is the key element in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;80:252-254.

50- Kristiansen SB, Endoh A, Casson PR, Buster JE, Hornsby PJ: Induction of steroidogenic enzyme genes by insulin and IGF-I in cultured adult human adrenocortical cells. *Steroids* 1997;62:258-265.

51- Homburg R: What is polycystic ovarian syndrome? A proposal for a consensus on the definition and diagnosis of polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2002;17:2495-2499.

52- Morales AJ, Laughlin GA, Butzow T, Maheshwari H, Baumann G, Yen SS: Insulin, somatotrophic, and luteinizing hormone axes in lean and obese women with

polycystic ovary syndrome: common and distinct features. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:2854-2864.

53- Zhen S, Zakaria M, Wolfe A, Radovick S: Regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene expression by insulin-like growth factor I in a cultured GnRH-expressing neuronal cell line. *Mol Endocrinol* 1997;11:1145-1155.

54- Longo KM, Sun Y, Gore AC: Insulin-like growth factor-I effects on gonadotropin-releasing hormone biosynthesis in GT1-7 cells. *Endocrinology* 1998;139:1125-1132.

55- Kocak M, Caliskan E, Simsir C, Haberal A: Metformin therapy improves ovulatory rates, cervical scores, and pregnancy rates in clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77:101-106.

56- Luque-Ramirez M, San Millan JL, Escobar-Morreale HF: Genomic variants in polycystic ovary syndrome. *Clin Chim Acta* 2006;366:14-26.

57- Franks S, Gharani N, Waterworth D, Batty S, White D, Williamson R, McCarthy M: Genetics of polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 1998;145:123-128.

58- Gilling-Smith C, Story H, Rogers V, Franks S: Evidence for a primary abnormality of thecal cell steroidogenesis in the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;47:93-99.

59- Adams J, Polson DW, Franks S: Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;293:355-359.

60- Franks S: Polycystic ovary syndrome: a changing perspective. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989;31:87-120.

61- Zawadzki J, Dunaif A: Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. Blackwell Scientific Publications 1992;377-384.

62- Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE: Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007;370:685-697.

63- Chang WY, Knochenhauer ES, Bartolucci AA, Azziz R: Phenotypic spectrum of polycystic ovary syndrome: clinical and biochemical characterization of the three major clinical subgroups. *Fertil Steril* 2005;83:1717-1723.

64- Asuncion M, Calvo RM, San Millan JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF: A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2434-2438.

65- Legro RS, Finegood D, Dunaif A: A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2694-2698.

- 66- DeUgarte CM, Bartolucci AA, Azziz R: Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril* 2005;83:1454-1460.
- 67- Legro RS, Kunesman AR, Dodson WC, Dunaif A: Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:165-169.
- 68- Ehrmann DA, Kasza K, Azziz R, Legro RS, Ghazzi MN: Effects of race and family history of type 2 diabetes on metabolic status of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:66-71.
- 69- The rotterdam ESHRE/ ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome: *Fertil Steril* 2004;81:19-25.
- 70- The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome(PCOS): *Hum Reprod* 2009;19:41-47.
- 71- Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF: Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4237-4245.
- 72- Legro RS, Chiu P, Kunesman AR, Bentley CM, Dodson WC, Dunaif A: Polycystic ovaries are common in women with hyperandrogenic chronic anovulation but do not predict metabolic or reproductive phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2571-2579.
- 73- Fraser s, Kovacs G: Current recommendations for the diagnostic evaluation and followup of patients presenting with symptomatic polycystic ovary syndrome ; *Best Pract.Res. Clin.Obstet. Gynaecol.* 2004, pp 813-823.
- 74- Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D: Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 2003;9:505-514.
- 75- Greenspan F: *Basic and clinical endocrinology*; Lange Medical Publications. 1991, pp 351-353.
- 76- Conn JJ, Jacobs HS: The clinical management of hirsutism. *Eur J Endocrinol* 1997;136:339-348.

- 77- Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D: Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140:815-830.
- 78- Barnes RB: Adrenal dysfunction and hirsutism. *Clin Obstet Gynecol* 1991;34:827-834.
- 79- Azziz R, Carmina E, Sawaya ME: Idiopathic hirsutism. *Endocr Rev* 2000;21:347-362.
- 80- Nikolaou D, Gilling-Smith C: Hirsutism; *Current Obstet Gynecol*. 2005, pp 174-182.
- 81- Olah K: The modern management of hirsutism; *Rev In Gynecol Practice* . 2004, pp 211-220.
- 82- Rittmaster RS, Loriaux DL: Hirsutism. *Ann Intern Med* 1987;106:95-107.
- 83- Claman P: Hirsutism: evaluation and treatment; *Sogc Clinical Practice Guidelines*. 2002, pp 1-6.
- 84- Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D: Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140:815-830.
- 85- Kologlu S: *Temel ve Klinik Endokrinoloji*. Ankara, 1996, pp 647-651.
- 86- Rosenfield RL, Deplewski D: Role of androgens in the developmental biology of the pilosebaceous unit. *Am J Med* 1995;98:80S-88S.
- 87- Azziz R: The evaluation and management of hirsutism. *Obstet Gynecol* 2003;101:995-1007.
- 88- Rittmaster RS: Hirsutism. *Lancet* 1997;349:191-195.
- 89- McCarthy JA, Seibel MM: Physiologic hair growth. *Clin Obstet Gynecol* 1991;34:799-804.
- 90- Rosenfield RL, Deplewski D: Role of androgens in the developmental biology of the pilosebaceous unit. *Am J Med* 1995;98:80S-88S.
- 91- Zargar AH, Wani AI, Masoodi SR, Laway BA, Bashir MI, Salahuddin M: Epidemiologic and etiologic aspects of hirsutism in Kashmiri women in the Indian subcontinent. *Fertil Steril* 2002;77:674-678.
- 92- Kessel B, Liu J: Clinical and laboratory evaluation of hirsutism. *Clin Obstet Gynecol* 1991;34:805-816.
- 93- Balen AH, Tan SL, Jacobs HS: Hypersecretion of luteinising hormone: a significant cause of infertility and miscarriage. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:1082-1089.

- 94- Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L, Wang P: Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. *Fertil Steril* 2001;75:46-52.
- 95- Grasinger CC, Wild RA, Parker IJ: Vulvar acanthosis nigricans: a marker for insulin resistance in hirsute women. *Fertil Steril* 1993;59:583-586.
- 96- Hud JA, Jr., Cohen JB, Wagner JM, Cruz PD, Jr.: Prevalence and significance of acanthosis nigricans in an adult obese population. *Arch Dermatol* 1992;128:941-944.
- 97- Flier JS, Eastman RC, Minaker KL, Matteson D, Rowe JW: Acanthosis nigricans in obese women with hyperandrogenism. Characterization of an insulin-resistant state distinct from the type A and B syndromes. *Diabetes* 1985;34:101-107.
- 98- Stuart CA, Peters EJ, Prince MJ, Richards G, Cavallo A, Meyer WJ, III: Insulin resistance with acanthosis nigricans: the roles of obesity and androgen excess. *Metabolism* 1986;35:197-205.
- 99- Barber TM, McCarthy MI, Wass JA, Franks S: Obesity and polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65:137-145.
- 100- Freedman DS, Jacobsen SJ, Barboriak JJ, Sobocinski KA, Anderson AJ, Kissebah AH, Sasse EA, Gruchow HW: Body fat distribution and male/female differences in lipids and lipoproteins. *Circulation* 1990;81:1498-1506.
- 101- Dunaif A: Insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2006;86 Suppl 1:S13-S14.
- 102- Carmina E, Koyama T, Chang L, Stanczyk FZ, Lobo RA: Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1807-1812.
- 103- Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA: Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57:356-359.
- 104- Yildiz BO, Gedik O: Assessment of glucose intolerance and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2004;8:649-656.
- 105- Dunaif A: Hyperandrogenic anovulation (PCOS): a unique disorder of insulin action associated with an increased risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 1995;98:33S-39S.
- 106- Robinson S, Henderson AD, Gelding SV, Kiddy D, Niththyananthan R, Bush A, Richmond W, Johnston DG, Franks S: Dyslipidaemia is associated with insulin resistance in women with polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996;44:277-284.
- 107- Pirwany IR, Fleming R, Greer IA, Packard CJ, Sattar N: Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;54:447-453.

- 108- Velazquez EM, Mendoza SG, Wang P, Glueck CJ: Metformin therapy is associated with a decrease in plasma plasminogen activator inhibitor-1, lipoprotein(a), and immunoreactive insulin levels in patients with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1997;46:454-457.
- 109- Ehrmann DA, Schneider DJ, Sobel BE, Cavaghan MK, Imperial J, Rosenfield RL, Polonsky KS: Troglitazone improves defects in insulin action, insulin secretion, ovarian steroidogenesis, and fibrinolysis in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2108-2116.
- 110- Dahlgren E, Johansson S, Lindstedt G, Knutsson F, Oden A, Janson PO, Mattson LA, Crona N, Lundberg PA: Women with polycystic ovary syndrome wedge resected in 1956 to 1965: a long-term follow-up focusing on natural history and circulating hormones. *Fertil Steril* 1992;57:505-513.
- 111- Navaratnarajah R, Pillay OC, Hardiman P: Polycystic ovary syndrome and endometrial cancer. *Semin Reprod Med* 2008;26:62-71.
- 112- Pierpoint T, McKeigue PM, Isaacs AJ, Wild SH, Jacobs HS: Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up. *J Clin Epidemiol* 1998;51:581-586.
- 113- Legro RS: The genetics of polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 1995;98:9S-16S.
- 114- Cooper HE, Spellacy WN, Prem KA, Cohen WD: Hereditary factors in the Stein-Leventhal syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1968;100:371-387.
- 115- Givens JR: Ovarian hyperthecosis. *N Engl J Med* 1971;285:691.
- 116- Carey AH, Chan KL, Short F, White D, Williamson R, Franks S: Evidence for a single gene effect causing polycystic ovaries and male pattern baldness. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;38:653-658.
- 117- Hague WM, Adams J, Reeders ST, Peto TE, Jacobs HS: Familial polycystic ovaries: a genetic disease? *Clin Endocrinol (Oxf)* 1988;29:593-605.
- 118- Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S: Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1158-1165.
- 119- Nelson VL, Legro RS, Strauss JF, III, McAllister JM: Augmented androgen production is a stable steroidogenic phenotype of propagated theca cells from polycystic ovaries. *Mol Endocrinol* 1999;13:946-957.
- 120- Holte J, Bergh T, Berne C, Wide L, Lithell H: Restored insulin sensitivity but persistently increased early insulin secretion after weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2586-2593.

- 121- Hughesden P: Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called hyperthecosis ; *Obstet Gynecol Survey*. 1982, pp 59-77.
- 122- Webber LJ, Stubbs S, Stark J, Trew GH, Margara R, Hardy K, Franks S: Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *Lancet* 2003;362:1017-1021.
- 123- Haddad L, Evans JC, Gharani N, Robertson C, Rush K, Wiltshire S, Frayling TM, Wilkin TJ, Demaine A, Millward A, Hattersley AT, Conway G, Cox NJ, Bell GI, Franks S, McCarthy MI: Variation within the type 2 diabetes susceptibility gene calpain-10 and polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2606-2610.
- 124- Tapanainen JS, Koivunen R, Fauser BC, Taylor AE, Clayton RN, Rajkova M, White D, Franks S, Anttila L, Pettersson KS, Huhtaniemi IT: A new contributing factor to polycystic ovary syndrome: the genetic variant of luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1711-1715.
- 125- Mifsud A, Ramirez S, Yong EL: Androgen receptor gene CAG trinucleotide repeats in anovulatory infertility and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3484-3488.
- 126- Hickey T, Chandy A, Norman RJ: The androgen receptor CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in Australian Caucasian women with infertility related to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:161-165.
- 127- Waterworth DM, Bennett ST, Gharani N, McCarthy MI, Hague S, Batty S, Conway GS, White D, Todd JA, Franks S, Williamson R: Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Lancet* 1997;349:986-990.
- 128- Urbanek M: Proceedings of 'Polycystic Ovary Syndrome; Basic Biology and Clinical Yntervention'National Ynstitute of Environmental of Health Sciences(NIH). 2000.
- 129- Hogenveen K, Cousin P, Pugeat M: Human sex hormone-binding globulin variants associated with hyperandrogenism and ovarian dysfunction; *Clin Inves*. 2002, pp 973-981.
- 130- Xita N, Tsatsoulis A, Chatzikyriakidou A, Georgiou I: Association of the (TAAAA)_n repeat polymorphism in the sex hormone-binding globulin (SHBG) gene with polycystic ovary syndrome and relation to SHBG serum levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5976-5980.
- 131- Escobar-Morreale HF, San Millan JL, Smith RR, Sancho J, Witchel SF: The presence of the 21-hydroxylase deficiency carrier status in hirsute women: phenotype-genotype correlations. *Fertil Steril* 1999;72:629-638.

- 132- Witchel SF, Aston CE: The role of heterozygosity for CYP21 in the polycystic ovary syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13 Suppl 5:1315-1317.
- 133- Amato P, Simpson JL: The genetics of polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18:707-718.
- 134- Ehrmann DA, Schwarz PE, Hara M, Tang X, Horikawa Y, Imperial J, Bell GI, Cox NJ: Relationship of calpain-10 genotype to phenotypic features of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1669-1673.
- 135- Gonzalez A, Abril E, Roca A: Specific CAPN10 gene haplotypes influence the clinical profile of polycystic ovary patients; *J Clin Endocrinol Metab*. 2003, pp 5529-5536.
- 136- Haddad L, Evans JC, Gharani N, Robertson C, Rush K, Wiltshire S, Frayling TM, Wilkin TJ, Demaine A, Millward A, Hattersley AT, Conway G, Cox NJ, Bell GI, Franks S, McCarthy MI: Variation within the type 2 diabetes susceptibility gene calpain-10 and polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2606-2610.
- 137- Ahima RS, Flier JS: Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:327-332.
- 138- Matuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T: Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines, adipocyte-derived bioactive substances. *Ann N Y Acad Sci* 1999;892:146-154.
- 139- Shimada K, Miyazaki T, Daida H: Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta* 2004;344:1-12.
- 140- Hu E, Liang P, Spiegelman B: AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1995;271:1697-1703.
- 141- Maeda K, Obuko K, Shimomura I: cDNA Cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apm1. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;221:286-289.
- 142- Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M: Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem* 1996;120:803-812.
- 143- Stefan N, Vazorova B, Funahashi T, Matsuzawa Y: Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle receptor tyrosine phosphorylation and low plasma concentration precedes a decrease in whole body insulin sensitivity in humans; *Diabetes*. 2002, pp 1884-1888.
- 144- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y: The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with lipodystrophy and obesity; *Biochem Biophys Res*. 2001, pp 941-946.

- 145- Beltoeski J: Adiponectin and resistin-new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Monit* 2003;9:55-61.
- 146- Hotta K, Bodkin N, rtmeyer H, rita Y: Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parellel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys ; *Diabetes*. 2001, pp 1126-1133.
- 147- Lillioja S, Nyomba BL, Saad MF, Ferraro R, Castillo C, Bennett PH, Bogardus C: Exaggerated early insulin release and insulin resistance in a diabetes-prone population: a metabolic comparison of Pima Indians and Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:866-876.
- 148- Matsubara M, Maruoka S, Katayose S: Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2764-2769.
- 149- Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF: Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:2005-2010.
- 150- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, Okamoto Y, Ohashi K, Nagaretani H, Kishida K, Nishizawa H, Maeda N, Kobayashi H, Hiraoka H, Matsuzawa Y: Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003;107:671-674.
- 151- Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozawa N, Hioki K, Uchida S, Ito Y, Takakuwa K, Matsui J, Takata M, Eto K, Terauchi Y, Komeda K, Tsunoda M, Murakami K, Ohnishi Y, Naitoh T, Yamamura K, Ueyama Y, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T: Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem* 2003;278:2461-2468.
- 152- Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Cutrupi S, Parlongo S, Malatino LS, Bonanno G, Seminara G, Rapisarda F, Fatuzzo P, Buemi M, Nicocia G, Tanaka S, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y: Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:134-141.
- 153- Yang WS, Hsiung CA, Ho LT, Chen YT, He CT, Curb JD, Grove J, Quertermous T, Chen YD, Kuo SS, Chuang LM: Genetic epistasis of adiponectin and PPARgamma2 genotypes in modulation of insulin sensitivity: a family-based association study. *Diabetologia* 2003;46:977-983.
- 154- Yang WS, Tsou PL, Lee WJ, Tseng DL, Chen CL, Peng CC, Lee KC, Chen MJ, Huang CJ, Tai TY, Chuang LM: Allele-specific differential expression of a common adiponectin gene polymorphism related to obesity. *J Mol Med* 2003;81:428-434.

- 155- Asuncion M, Calvo RM, San Millan JL, Sancho J, Avilla S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2434-2438.
- 156- Knochenhauer ES, Key TI, Kasher-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the Southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3078-3082.
- 157- Franks S, Gharani N, Waterworth D, Batty S, White D, Williamson R, et al. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1997;12:2641-2648.
- 158- McKittrick M. Diet and polycystic ovary syndrome. *Nutrition Today* 2002;37 (2): 63-69.
- 159- Kelley LS. Polycystic ovarian syndrome a challenge for occupational health nursing. *American Association of Occupational Health Nurses Journal* 2003;51 (1): 23-27.
- 160- Goodarzi MO, Korenman SG. The importance of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003;80: 255-258.
- 161- Lord MJ, Flight IK, Norman RJ. Metformin in polycystic syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2003;327: 951-956
- 162- Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL et al. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999;22:141-146
- 163- Dunaif A. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997;18:774-800
- 164- Dunaif A, Fincgood DT. B cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:942-947.
- 165- Harborn L, Fleming R, Lyall H et al. Descriptive review of the evidence for the use of metformin in polycystic ovary syndrome *Lancet* 2003;361:1894-1901.
- 166- Hill JVM, Cibula SD, Vondra K et al. The effects of long term metformin treatment on adrenal and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2001;144:619-628.
- 167- Ünlühızcı K, Keleştimur F, Şahin Y et al. The treatment of insulin resistance does not improve adrenal cytochrome p450c17 alfa enzyme dysregulation in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 1999;140:56-61.
- 168- Kandarakis DE, Baıllargeon JP, Iourno MJ et al. A modern medical quandry: polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and oral contraceptive pills. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:1927-1932

- 169- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K. Paradoxical decrease of an adipose specific protein, adiponectin in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*1999; 257: 79-83.
- 170- Daimon M, Oizumi T, Saitoh T, Kameda W, Hirata A, Yamaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Tominaga M, Kato T. Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese population: the Funagata study. *Diabetes Care* 2003;26: 2015-2020.
- 171- Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima indian population. *Lancet* 2002;360: 57-58.
- 172- Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muragushi M, Ouchi N, Takahashi M, Igura T, Inui Y, Kihara S, Nakamura T. An adipocyte- derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res*2000; 32: 47-50.
- 173- Schaffler A, Barth N, Palitzsch KD, Drobnik W, Scholmerich J, Schmitz G. Mutationanalysis of the human adipocyte-specific apM-1 gene. *Eur J Clin Invest*2000; 30: 879-887.
- 174- Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyted-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 2607-14.
- 175- Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y, Kumada M, Takahashi M, Matsuda M. Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes. A candidate gene for insulin resistance syndrome. *Diabetes*2002; 51: 2325-8.
- 176- Hu FB, Doria A, Li T, Meigs JB, Liu S, Memisoglu A. Genetic variation at the adiponectin locus and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes* 2004 53: 209-13.
- 177- Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*2002; 51: 536-540.
- 178- Zietz B, Barth N, Scholmerich J, Schmitz G, Schaffler A. Gly15Gly polymorphism within the human adipocyte specific apM-1 gene but not Tyr11His polymorphism is associated with higher levels of cholesterol and LDL-cholesterol in caucasian patients with type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109: 320-325.
- 179- Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97: 14478-83.

- 180- Heinonen S, Korhonen S, Helisalmi S, Koivunen R, Tapanainen J, Hippelainen M, Laakso M. Associations between two single nucleotide polymorphisms in the adiponectin gene and polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2005; 21: 165-9.
- 181- Panidis D, Kourtis A, Kukuvtis A, Farmakiotis D, Xita N, Georgiou I. Association of the T45G polymorphism in exon 2 of the adiponectin gene with polycystic ovary syndrome:role of D4-androstenedione. *Hum Reprod* 2004;19: 1728-33.
- 182- Xita N, Georgiou I, Chatzikiyiakidou A, Vounatsou M, Papassotiriou GP, Papassotiriou I, Tsatsoulis A. Effect of adiponectin gene polymorphism on circulating adiponectin and insulin resistance indexes in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Chem*2005; 51: 416-423.
- 183- San Millan JL, Corton M, Villuendas G, Sancho J, Peral B, Escobar-Morreale HF. Association of the polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus and obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89: 2640-6.
- 184- Demirci H, Ayvaz G. Polikistik Over Sendromunda Adiponektin Gen polimorfizmi Sıklığı ve Bunun Serum Adiponektin, Androjen Düzeyleri, İnsülin Direnci ve Klinik Parametreler ile İlişkisi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi. Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Yan Dal Tezi, Ankara, 2007
- 185- Stumvoll M, Tschritter O, Fritsche A, Staiger A, Renn W, Weisser M, Machicao F, Haaring H. Association of the T-G polymorphism in adiponectin gene (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:37-41.
- 186- Escobar-morreale H.F, Villuedas G, Botella-Carretero J.I, Alvarez-Blasko F,Sanchoni R, Luque-ramirezi M, and San Millan J.L. Adiponectin and resistin in PCOS: a clinical, biochemical and molecular genetic study *Human Reproduction* 2006; Vol.21, No.9 pp. 2257–2265.
- 187- Zhang N, Shi Y.H,Hao C:F,Gu F.H, Li Y,ZhaoY:R; Wang L.C and Chen Z.J Association of C45G15G(T/G) and C276(G/T) polymorphisms in the ADIPOQ gene with polycystic ovary syndrome among Han Chinese women *European Journal of Endocrinology* 2008 ;158 :255–26