

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ ENZİMİNİ KODLAYAN E-
NOS GENİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN POLİKİSTİK OVER
SENDROMUNA YATKINLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALEV UYGUN AKALTUN

BOLU, 2014

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ ENZİMİNİ KODLAYAN E-
NOS GENİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN POLİKİSTİK OVER
SENDROMUNA YATKINLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALEV UYGUN AKALTUN

TEZ DANIŞMANI

DOÇ.DR. MEHMET ATA TOPÇUOĞLU

BOLU, 2014

TEŞEKKÜR

Tüm uzmanlık eğitimim boyunca bana çok değerli katkılarda bulunan hocalarım Prof. Dr. Bülent DURAN, Prof. Dr. Melahat Emine Dönmez, Doç. Dr. Mehmet Ata TOPÇUOĞLU, Yard. Doç. Dr. Tülay ÖZLÜ, Yard. Doç. Dr. Ahmet KARATAŞ'a ,

Tezimin ortaya çıkmasında bana yardımcı olan Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Selma DÜZENLİ ve Uzman Ali Osman ARSLAN'a

Tüm asistan, hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Bugüne kadar ki zorlu eğitim süresince bana destek olan değerli anne ve babama, hep yanımda olan eşime, kardeşime ve varlığıyla bizi mutlu kılan en değerli varlığım kızıma en içten dileklerle teşekkür ederim...

Dr. Alev UYGUN AKALTUN

Bolu 2014

ÖZET

Dr. Alev UYGUN AKATUN. Endotelial Nitrik Oksit Sentaz Enzimini Kodlayan Enos Genindeki Değişikliklerin Polikistik Over Sendromu'na Yatkınlığının Araştırılması. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bolu, 2014

Polikistik over sendromu (PKOS) kadınlarda üreme çağında görülen en sık endokrinopati olup tüm kadınların yaklaşık %6-8 kadarını etkilemektedir. Hiperandrojenizm, kronik anovulasyon, infertilite, hirsutizm, artmış insülin rezistansı, Tip 2 DM, kardiyovasküler hastalık, endometrium ve over kanseri ile ilişkilidir. Biz bu çalışmamızda endotelial nitrik oksit sentaz genindeki değişikliklerin polikistik over sendromuna etkisini araştırmayı amaçladık. Prospektif vaka kontrol çalışması ile premenapozal 108 polikistik over sendromlu Türk kadını ve 93 sağlıklı kontrol grubunda e-NOS genindeki -786 T/C polimorfizmini araştırdık. Alınan kan örneklerinden DNA izole edildi ve genotipler RT-PCR yöntemi ile tanımlandı. Çalışmamızda e-NOS geninde genotip ve allel yönünden kontrol grubu ile PKOS grubu arasında anlamlı fark saptanmadı. PKOS grubunda CC genotipi (homozigot mutant) 8 hastada, CT genotipi (heterozigot mutant) 45 hastada, TT genotipi (homozigot yabancıl) 55 hastada izlenmiş olup sıklıkları sırasıyla %7.4, %41.6, %50.94'tür. Kontrol grubunda CC genotipi 14 hastada, CT genotipi 39 hastada, TT genotipi 40 hastada izlenmiş olup sıklıkları sırasıyla %15.05, %41.94, %43.01'dir. Allel sıklıkları PKOS grubunda C ve T allelleri için 61(%28.25) ve 155(%71.75) ; kontrol grubu için ise 67(%36.02%) ve 119(%63.98)'dur.

PKOS ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı açısından CC genotipi CT+TT genotipi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (OR:0.45 0.16-1.22; CI95% p:0.8340). Allel sıklıkları karşılaştırılarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (OR: 1.43 0.92-2.23; CI 95% p:0.0949).

Anahtar kelimeler : polikistik over sendromu, polimorfizm, nitrik oksit, e-NOS

ABSTRACT

PCOS is the most common endocrinopathy, affecting 6-8% women in reproductive age. Hyperandrogenism is associated with chronic anovulation, infertility, hirsutism, increased insulin resistance, type 2 DM, cardiovascular diseases, endometrium and over cancer. To investigate the association of common genetic polymorphism, -786 T/C, of the gene encoding for endothelial nitric oxide synthase (e-NOS), the enzyme catalyzing the production of nitric oxide (NO), with occurrence of the polycystic ovary syndrome (PCOS). In a prospective case-control study, we analyzed polymorphism of the e-NOS gene in a series of 108 premenopausal Turkish women with PCOS and 93 healthy controls. DNA was isolated from the blood sample and genotypes was defined with RT-PCR assay. The overall genotype distribution of -786 T/C polymorphism in PCOS group 8 (7.4%) patients for CC genotype (homozygotes mutation), 45 (41.6%) patients for CT genotype (heterozygotes mutation), 55 (50.94%) patients for TT genotype (homozygous wild type); in control group 14 (15.05%) patients for CC genotype, 39 (41.94%) patients for CT genotype, 40 (43.01%) patients for TT genotype. Allele frequencies for T and C alleles were 61(28.25%) ve 155(71.75%) in PCOS group; 67(36.02%) ve 119(63.98%) in control group.

When we compared the frequency of the at least one T allele carriers (TT+TC) and CC homozygous, no significant association were found (OR:0.45 0.16-1.22; CI95% p:0.8340). The allele frequencies were not significantly different too (OR: 1.43 0.92-2.23; CI 95% p:0.0949).

Keywords:Polycystic ovary syndrome,Polymorphism,Nitric oxide synthase,e-NOS

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER	viii
TABLolar	ix
GRAFİKLER	x
SEMBOLLER	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Polikistik over sendromu	3
2.1.1.Tanım ve Tarihçe	3
2.1.2.Tanı kriterleri	3
2.1.3.Prevelans	7
2.1.4.PKOS'un Patofizyolojisi	8
2.1.5.PKOS Patolojisi	15
2.1.6.Klinik Bulgular	16
2.1.7.PKOS'da Hormonal ve Spesifik Testler	18
2.1.8.PKOS'da Ultrasonografi	25
2.1.9.PKOS'da Ayırıcı Tanı	25
2.1.10.Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Uzun Dönem Sağlık Riskleri	28
2.1.11.PKOS'da Tedavi	32
2.2. Endotel ve NO	35
2.2.1. Endotel	35
2.2.2. NO	39
2.3. NO ve PKOS	43
3.GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1 Kontrol ve Çalışma grubu	44
3.2. Polimorfizm Analizi Aşamaları ve Kullanılan Kimyasallar	45
3.3. DNA izolasyonu ve e-NOS gen polimorfizmi RT-PCR Çalışma Protokolü	46

3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi	48
3.5. İstatiksel Analiz	49
4.BULGULAR	50
4.1. Laboratuvar Bulguları ve Demografik Özellikler	50
4.2 e-NOS -786 T/C polimorfizmi Genotip ve Allel Dağılımı	56
5.TARTIŞMA	59
6.SONUÇLAR	68
KAYNAKLAR	69

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1 İnsülin rezistansı ve hiperinsülineminin PKOS'taki rolü	12
Şekil 2.2 Ferriman-Gallwey skarlama sistemi	17
Şekil 2.3 Endotel kaynaklı gevşetici (EDRF) ve endotel kaynaklı konstriktör (EDCF) maddeler arasındaki denge	38
Şekil 2.4 Nitrik Oksit etki mekanizması	41
Şekil 2.5 e-NOS Geninin Yerleşimi	42

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 2.1 Polikistik Over Sendromu Tanı Kriterleri	6
Tablo 2.2 AES Tanı kriterleri	6
Tablo 2.3 ACOG 2009 PKOS klinik rehberi değerlendirme önerileri	24
Tablo 2.4 PKOS ile ayırıcı tanısı yapılması gereken klinik durumlar	27
Tablo 2.5 Endotel bağımlı vazodilatasyonda bozulmaya yol açan durumlar	39
Tablo 4.1 Hastaların Gruplara Göre Ve Toplamda Demografik Ve Klinik Özelliklerinin Dağılımı	51
Tablo 4.2 Hastaların Gruplara Göre Demografik ve Klinik Özelliklerinin Dağılımı	52
Tablo4.3 Hastaların Gruplara Göre AKŞ, İnsülin ve AKŞ/İnsülin Oranı Dağılımı	53
Tablo 4.4 Gruplara Göre Laboratuvar Parametrelerinin Dağılımı	55
Tablo 4.5 Çalışma Gruplarına Ait -786 T/C Genotip ve Allel Dağılımı	56
Tablo 4.6 Gruplar Arasında AKŞ/insülin, TG, Bel/Kalça oranı, BMI' e göre genotip dağılımları	58

GRAFİKLER

	Sayfa
Grafik 3.1 -786 CC genotipi (homozigot mutant)	48
Grafik 3.2 -786 CT genotipi (heterozigot mutant)	48
Grafik 3.3 -786 TT genotipi (homozigot yabanıl)	49
Grafik 4.1 e-NOS -786 T/C polimorfizmi için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri	57
Grafik 4.2 e-NOS -786 T/C polimorfizmi için PKOS ve kontrol gruplarında allel frekansları	57

SEMBOL LİSTESİ

AKŞ	: Açlık Kan şekeri
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
A	: Androstenodion
AT III	: Antitrombin III
BMI	: Body Mass Index - Vücut kütle indeksi
DHEA	: Dehidroepiandrosteron
DHEAS	: Dehidroepiandrosteron Sulfat
E2	: Östradiol
E1	: Östron
F/G	: Ferimann Galloway skoru
FSH	: Follikül Stimulan Hormon
GnRH	: Gonadotropin releasing hormon
HDL	: High Density Lipoprotein - Yüksek dansiteli lipoprotein
HLA	: Human Lökosit Antijen
IGF-1	: İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IGFBP-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-1
KAH	: Konjenital Adrenal Hiperplazi
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
LDL	: Low Density Lipoprotein - Düşük dansiteli lipoprotein
LH	: Luteinleştirici Hormon
OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
PAI-1	: Plazminojen Aktivator İnhibitör-1
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PKO	: Polikistik Over
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
SHBG	: Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
T	: Testosteron
TG	: Trigliserid
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
USG	: Ultrasonografi
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein - Çok düşük dansiteli lipoprotein
WHR	: Waist-hip ratio - Bel/ kalça oranı
PRL	: Prolaktin
DHT	: Dihidrotestosteron
DM	: Diabetes Mellitus
HT	: Hipertansiyon
IR	: İnsülin Rezistansı
GH	: Büyüme hormonu
MI	: Myokard infarktüsü
CRP	: C reaktif protein
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz

TA	: Tansiyon arterial
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleozid trifosfat
cAMP	: Döngüsel adenzin monofosfat
cGMP	: Döngüsel guanozin monofosfat

1.GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS); tanı kriterleri ve populasyonlardaki sıklıkları değişiklik göstermesine rağmen, üreme çağındaki kadınlarda görülen en sık endokrinolojik bozukluk olup kronik anovulasyon, hiperandrojenizm ile karakterize kompleks metabolik bir hastalıktır. Farklı tanı kriterlerine göre prevalansı değişmekle birlikte, genel olarak % 6-8 civarında görülmektedir (1). PKOS'un, primer ovaryan fonksiyonel bozukluk olduğu kabul edilmiş ve bu hastalık tablosunu oluşturan neden veya nedenler konusunda, birçok mekanizma ve teori öne sürülmüştür. Bu teoriler: hipotalamus – hipofiz – over aksının normal ilişki ve işleyişinin bozulması, over içi büyüme faktörlerinde değişiklik ve bozukluklar ve insülin direnci şeklinde sıralanabilir. Aynı aile bireylerinde PKOS prevelansının yüksek olması genetik nedenleri de düşündürmektedir; ama sayılan bu nedenlerin PKOS oluşumuna nasıl yol açtığı henüz net olarak bilinmemektedir.

PKOS; santral obezite, yüksek kan basıncı, serum trigliserid (TG) düzeylerinde yükselme, bozulmuş glukoz toleransı ve sonraki dönemde tip 2 diabetes mellitus (DM) gelişme riski gibi metabolik sendrom komponentleri ile de ilişkilidir (2).

Son zamanlarda endotel hasarı ve endotel disfonksiyonunun, PKOS'un uzun dönem riskleri arasında sayılan hipertansiyon (HT) (3) , ateroskleroz (3), iskemik kalp hastalığı (4) , insülin direnci ve tip 2 DM'un gelişmesinde (4) erken bir aşama olduğu kabul edilmektedir. Bunun da nitrik oksit (NO) düzeylerindeki bozukluktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Endotelden salınan ve yarı ömrü çok kısa olan NO, tüm vasodilatörlerin aktif komponenti olması nedeni ile kalp-damar fizyolojisinin düzenlenmesinde önemli rol oynar. NO, L-Arjininden nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi tarafından sentezlenir. NOS enziminin nöronal nitrik oksid sentaz (nNOS), indüklenebilir nitrik oksid sentaz (iNOS), endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS) olmak üzere üç izoformu vardır. eNOS hem in vivo hem de in vitro şartlarda sürekli sentez edilen tek NOS izoformudur (5).

NO'in vasküler düz kaslarda relaksasyonun yanı sıra (6), yapılan hayvan deneyleri ve insanlardaki çalışmaların ön verilerine göre pubertal maturasyon,

ovulatuvar kapasite, erken embriyolojik gelişim, gebeliğin devam ettirilmesi ve menapoz zamanlamasında ciddi rol alabileceğine işaret etmektedir (7-11).

NOS 26 ekson içeren eNOS geni tarafından kodlanır ve 21 kilobazlık genomik DNA' dan oluşur. e-NOS genine ait -786 T/C polimorfizmi e-NOS geninin promoter bölgesindeki 786. pozisyonundaki T-C nükleotid değişimi sonucunda oluşur. Yaptığımız literatür taramasında e- NOS –786 T/C polimorfizminin koroner arter spazmı (12), MI (13), esansiyel HT (14,15), anjiyografik olarak tanımlanmış koroner arter hastalığı (16,17,18,19), koroner arter hastalığı olanlarda insülin duyarlılığı (20), akut koroner sendrom (21,22,23), obez çocuklarda ve adölesanlarda metabolik sendrom (24), obez çocuk ve adölesanlarda HT (25) ile ilişkisi araştırılmış; Jinekoloji ve obstetride ise rekürren gebelik kaybı (26,27), menarş ve menapoz yaşına etkisi (7,28) ve preeklampsi (29,30,31) ile ilişkisi ortaya konmaya çalışılmıştır.

NO 'in reproduktif olaylardaki mediatör rolü ve PKOS ile ilişkili metabolik durumlarla özellikle de kardiyovasküler hastalıklarla olan ilişkisi nedeniyle e-NOS - 786 T/C polimorfizminin PKOS ile ilişkili olabileceğini düşündük.

Yaptığımız literatür taramasında e-NOS genindeki -786 T/C polimorfizmi ile PKOS arasındaki ilişkiyi inceleyen hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Glu298Asp polimorfizmi ile PKOS arasındaki ilişkiyi inceleyen tek bir çalışmaya (32) ulaşılmış olup, Avusturya'da yapılan bu çalışmada 210 premenapozal PKOS 'lu hasta grubu ile 171 sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmıştır ancak sonuçta istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Yaptığımız çalışmada Türk toplumunda e-NOS 'ın PKOS ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik Over Sendromu:

2.1.1. Tanım ve Tarihçe:

Polikistik Over Sendromu , kronik anovulasyonun % 80 nedeni olup, ilk olarak 1935 yılında Irving F.Stein ve Michael L. Leventhal tarafından amenore, hirsutizm, anovulasyon ve büyük polikistik overlerle karakterize semptom kompleksi olarak tanımlanmıştır. O dönemde kama şeklinde over rezeksiyonu ile tedavi uygulanmış, semptomların gerilediğinin görülmesi üzerine sebebinin kalınlaşmış tunika tabakası olduğunu iddia etmişlerdi. İlk biyokimyasal bozukluk, Mc Arthur, Ingersoll, Worcester tarafından 1958’de, bu tanımlanan hasta grubunda üriner LH (Lüteinizan hormon) artışı olarak bildirilmiştir. Hemen arkasından 1970 ve 1980’lerde artmış androjen üretimi , sendromun kardinal bulgusu olarak bildirildi (34) ve yükselmiş LH ve Testosteron (T) seviyeleri tanıda kullanılmaya başlandı. Yen 1980’de, polikistik over görünümü olan hastalarda, gonadotropin ve androjen sekresyonlarında tipik anormallikler olduğunu söylemiş ve serum LH ve FSH (Folikül Stimulan Hormon) oranının, LH lehine bozulması, 1980’li yıllarda tanıda kullanılmaya başlanmıştır (33).

Daha sonraki yıllarda, polikistik over sendromunun, metabolik bir sendrom olduğu kabul edilmiştir (34). Periferik aromatzasyon nedeniyle, Östron (E1)/Östradiol (E2) oranının, E1 lehine artışına dikkat çekildi (33). Ultrasonografideki gelişmelerle over morfolojisindeki değişiklikler tanıda kullanılmaya başlanmıştır. Son olarak bu tanımlara insülin direnci ve hiperinsülinemi de ilave edildi (33). Bugün ise PKOS’un metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve insülin direnci ile birlikte bulunduğu ve bunların uzun dönem etkileri üzerinde durulmaktadır .

2.1.2. Tanı kriterleri:

Polikistik over sendromu geniş bir spektruma yayılmış hastalık olup tanısı koyulurken spesifik bazı kriter üzerinde ısrar edilmesi bu hastaların gerçekte üyesi oldukları geniş spektrumdan ayrılarak , bu spektrumun izole bir parçası halinde yorumlanmasına neden olmaktadır .

Hastalık yerine sendrom ifadesinin kullanılması, semptomlar ve bulgular topluluğunun varlığı ve tek bir tanı testi olmaması nedeniyle genel kabul görmüştür. Tanı kriterleri konusunda yoğun tartışmaların olmasının sebebi, semptomların ve tanı testlerinin geniş spektruma yayılmasıdır. Tanı kriterlerinin net tanımlanmış olması bilimsel çalışmalarda bilginin paylaşılabilmesi açısından önemli olduğu kadar klinikte de önemlidir. Kişiye PKOS tanısı koymak infertilite, disfonksiyonel uterin kanama, endometrium kanseri, obezite, Tip 2 DM, dislipidemi, hipertansiyon, ve muhtemelen kardiyovasküler hastalık riskinin arttığını söylemek anlamına gelir (35).

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsünün (NIH) 1990 yılındaki PKOS konferansında, PKOS tanısı için spesifik kriterler kabul edilmiştir. NIH'nın 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 (36). 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 yoktur; çünkü o yıllarda ultrasonografi Kuzey Amerika'da yaygın kullanım alanına sahip değildi (37). NIH kriterlerinde, her bir kriter, yeterince açık bir şekilde tanımlanmamıştır; ancak bu kriterleri temel alan büyük çalışmalar sayesinde hastalığın gerçek prevalansı (38), insülin direnci (39) ile ilişkisi ve bu kadınlarda sonraki dönemlerde Tip 2 DM (40) gelişme riski olduğu gibi bilgiler elde edilebilmiştir. 1990 yılındaki NIH kriterleri, bu tarihten sonra yapılan çok merkezli çalışmalar için bir başlangıç noktası oluşturmuştur. Bu tarihten sonra yapılan uluslararası kongrelerde, PKOS'un daha farklı klinik görünümle ortaya çıkabileceği düşünülmüş (34,41) ve bu nedenle 2003 yılında Rotterdam'da, The American Society for Reproductive Medicine ve European Society of Human Reproduction and Embryology (ASRM/ESHRE), PKOS tanımını yeniden düzenlemiş ve genişletmiştir. Rotterdam'da alınan kararlara göre; PKOS'un primer olarak, overin disfonksiyonu olduğu ve hiperandrojenizm ve polikistik over morfolojisinin bu sendromun kardinal özelliklerini oluşturduğu kabul edilmiştir. 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 (34,41,42). İnsülin direnci ve yüksek LH seviyelerinin bu sendromun belirgin özelliklerini oluşturduğu ve PKOS'un Tip 2 DM, kardiyovasküler hastalık ve metabolik sendrom ile önemli derecede ilişkili olduğu ayrıca belirtilmiştir (41). 2003 yılında PKOS tanımının genişletilmesi ile (a) ovulasyon bozukluğu olmadan, polikistik overler ile birlikte klinik ve/veya biyokimyasal androjen fazlalığı olan (b) ovulatuar bozukluğu olup, polikistik overler ile birlikte klinik ve/veya biyokimyasal androjen fazlalığı olmayan gibi yeni PKOS fenotipleri ortaya çıkmıştır. Klinik spektrumun genişlemesi sonucunda yapılan çalışmalar, klinik pratikte ve uzun dönem hasta takibinde farklı yaklaşımları da beraberinde getirmiştir ve bu durum bazı klinisyenler tarafından, özellikle hasta popülasyonundaki heterojenite nedeniyle dezavantajlı bulunmuştur.

2003 Rotterdam kriterlerinin doğurduğu dezavantajlar nedeniyle PKOS tanısının daha doğru bir şekilde yapılmasının gerektiği düşünülmüş ve 2006 yılında Androgen Excess Society (AES) kriterleri yayımlanmıştır (43). AES, literatürdeki PKOS konusunda uzman olan klinisyenlerin yayımlamış olduğu bütün çalışmaları derleyerek PKOS'un epidemiyolojisi ve fenotipik etkilerini araştırmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda, PKOS'un primer olarak androjen fazlalığı nedeniyle meydana geldiği kararına varılmış ve 1990 yılı NIH fenotiplerine ek olarak ovulasyon disfonksiyon olmaksızın, polikistik overler ile birlikte hiperandrojenizmi olan bir fenotip daha eklenmiştir. 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 dönem çalışmaların olmadığı da ayrıca belirtilmiştir. Bunun yanında hiperandrojenizm olmadan polikistik overler ile ovulatuar disfonksiyonu olan kadınların metabolik açıdan morbidite riski olup olmadığı da açık değildir. Çünkü polikistik over görünümü (PKO) PKOS'lu hastalarda insülin direncini predikte etmemektedir (34).

Tablo 2.1 Polikistik Over Sendromu Tanı Kriterleri (41)

1990 NIH kriterleri (tanı için iki kriter de gerekli) 1. Kronik anovülasyon 2. Klinik ve/veya biyokimyasal olarak hiperandrojenizm bulgularının varlığı ve diğer etyolojik faktörlerin ekarte edilmesi
Yeniden düzenlenmiş 2003 Rotterdam kriterleri (tanı için üç kriterden en az iki tanesi gerekli) 1. Oligo veya anovülasyon 2. Klinik ve/veya biyokimyasal olarak hiperandrojenizm bulgularının varlığı 3. Polikistik overlerin gösterilmesi (en az tek taraflı 2-9 mm’lik 12 adet follikül varlığı veya en az 10 cm ³ ‘lük over hacmi esas alınmıştır) ve diğer etyolojik faktörlerin ekarte edilmesi (konjenital adrenal hiperplazi, androjen salgılayan tümörler, Cushing sendromu)

Tablo 2.2 AES Tanı kriterleri (43)

PKOS 2006 AES tanı kriterleri 1. Hiperandrojenizm: Hirsutizm ve/veya hiperandrojenizm 2. Over disfonksiyonu: Oligo- anovulasyon ve /veya polikistik overler 3. Diğer androjen aşırılığı veya benzeri hastalıkların ekarte edilmesi* *21 hidroksilaz tipi non-klasik sürrenal hiperplazisi, androjen salgılayan tümörler, androjenik/anabolik ilaçların kullanımı veya suistmali, Cushing sendromu, ciddi insülin direnci sendromları, tiroid disfonksiyonu ve hiperprolaktinemi nedenleri ekarte edilmelidir.
--

Adolesanlar için ise ayrı tanı kriterleri yoktur. Adolesanlarda PKOS'un bulgu ve semptomları ile normal pubertal özelliklerin üst üste gelmesi nedeniyle özellikle tanısız problemler yaşarlar. Bunun için bazı uzmanlar tarafından adolesanda PKOS tanısı için değişik kriterler önerilmiştir. Sultan ve Paris tanı için şu beş kriterden dördünün adolesan kızlarda olması gerektiğini ileri sürmüştür: menarş sonrası 2 yıldan fazla oligo/amenore, klinik hiperandrojenizm, biyokimyasal hiperandrojenizm, insülin direnci/ hiperinsülinemi ve ultrasonda polikistik over görünümüdür (44) . Diğer bir grup ise (45) adolesanda PKOS tanısı koymak için Rotterdam kriterlerini uygulamayı ancak her üç kriterinde bulunmasını önermişlerdir. Bu yazarlar bu kriterlerden sadece ikisine sahip olan adolesanların yetişkinler gibi PKOS olarak tanı alabileceğini ve sonuç olarak bu semptomların takip edilmesi ve tekrar değerlendirilmesini önermektedirler. Yetişkinler için önerilene göre daha sıkı olan bu adolesan kriterleri, doğru olmayan erken tanıları engelleyebilir ancak günümüzde uzman panelleri veya bu alanda ilgili topluluklarda henüz fikir birliği oluşmamıştır.

2.1.3.Prevelans

Üreme dönemindeki kadınlar morfolojik ve hormonal kriterler ile değerlendirildiğinde PKOS prevalansı % 6-8 arasındadır (1). PKOS'un tahmini sıklığı çalışma yapılan popülasyon ve overlerin ultrasonografik görüntülenmesinin tanı kriterlerine dahil edilip edilmesine göre değişebilir.

En son yapılan en büyük toplum tabanlı çalışmada PKOS prevelansı %8,7 $\pm$ 2 ile diğer verilerden biraz daha yüksek olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada ilk kez Rotterdam ve AES kriterlerine göre prevelanslar çalışılmış ve sırasıyla %11,9 $\pm$ 2,4 ve % 10,2 $\pm$ 2,2 olarak belirlenmiştir (46). Bu veriler dikkate alındığında NIH kriterlerine göre PKOS prevelansı %6,5- % 8,7 arasında değişmektedir (46).

Klinik bulgular veya hiperandrojenizmin klinik yada biyokimyasal bulguları olmadan yalnızca ultrasonda (USG) PKO görünümünün olması teşhis için yeterli değildir. Bu şekilde tanı konulmaya çalışıldığında prevelans oldukça yüksek çıkacaktır. Çünkü üreme çağındaki kadınlarda ultrasonografik olarak PKO görünümünün sıklığı ile ilgili bazı çalışmalarda bu oran %17-23 oranında bildirilmiştir. USG'de PKO görünümü androjen üreten adrenal tümörler, geç başlayan konjenital adrenal hiperplazi, Cushing Sendromu, hiperprolaktinemi, tiroid

bozuklukları gibi nedenlerle de oluşabilmektedir. Anovulatuvar kadınlarda PKO görülme sıklığı %75'tir (38). Düzenli adet gören kadınların ise % 25'inde ultrasonografik olarak PKO saptanabilmektedir (37).

2.1.4.PKOS'un Patofizyolojisi:

PKOS'un patofizyolojisi, çok sayıda klinik, laboratuvar ve deneysel verilere rağmen halen yeterince bilinmemektedir. PKOS birkaç sistemin bozuk çalışmasının sinerjistik etkisi sonucu ortaya çıkan, multifaktöryel hastalık olarak düşünülebilir.

Bu sistemler;

- 1 - Hipotalamo-hipofizer disfonksiyon
- 2- Abartılmış adrenarj
- 3-İntraoveryan faktörler
- 4-İnsülin rezistansı ve hiperinsülinemi
- 5-Obezite
- 6- Genetik faktörler
- 7- Enzimatik defektler

2.1.4.1.Hipotalamo-hipofizer disfonksiyon:

PKOS olgularında, %35 oranında artmış LH seviyeleri ile kendini gösteren anormal serum gonadotropin seviyeleri mevcuttur. Bu artış Gonadotropin Releasing hormon (GnRH) pulse jenaratörünün maksimal hızda çalışmasına, dolayısıyla hipotalamik bir defekte bağlıdır. PKOS olgularında özellikle persistan ve hızlı LH pulse frekansı artışı, LH/FSH oranının artmasına neden olur. Hipofizer FSH sekresyonu, LH'nın aksine erken folliküler fazda belirgin olarak düşük tespit edilmektedir. Düşük FSH seviyesinin nedeni tam olarak anlaşılamamakla beraber kronik karşılanmamış östrojenin negatif feedback etkisi ile artmış GnRH pulsatilitesinin, LH- β gen ekspresyonunu FSH- β gen ekspresyonuna göre daha fazla artırması sonucu olduğu düşünülmektedir (46,47) .

Teka hücreleri çok miktarda androstenedion ve az miktarda testosteron sentezler. Aşırı LH artışı, teka hücrelerinde abartılı androjen sentezine neden olur. Bu androjenler FSH etkisi ile granüloza hücrelerinde aromatisasyonla E1 ve E2'ye dönüştürülürler . Anovulatuvar sikluslarda kronik olarak yükselmiş E2, hipofizdeki

GnRH reseptör sayısı ve hipofizin duyarlılığını artırarak LH' nin pulsatil salınımının artmasına neden olabilir. Pubertede gelişmeye başlayan hipotalamo-hipofizer aksda GnRH salınım frekansı ve amplitüdünün artması çoğu olguda semptomların peripubertal dönemde başlamasını açıklayabilir (33,48).

2.1.4.2.Abartılı Adrenarj:

Adrenarj; adrenal androjenlerin etkisi ile pubik ve aksiler kıllanmanın olduğu bir dönemdir.

Abartılmış adrenarj teorisine göre; PKOS gelişmesine aday adolesanlarda adrenarj abartılı olur ve PKOS ancak aşırı adrenarj ile fizyolojik insülin rezistansı birlikte olunca gelişir. PKOS'lu olgularda tüm androjenik hormonlar ve bunların prekürsörleri artmıştır.

PKOS olgularında semptomların peripubertal başlaması ve deksametazon supresyonu sonrası Adrenokortikotrop hormon (ACTH) stimülasyonu ile adrenal androjen salınımında aşırı artış olması, adrenal bezin erken ve aşırı aktivitesini gösterir. Bu abartılı adrenarjik aktiviteye bağlı, P450 c 17 geniyle kodlanan 17,20 liyaz ve 17 hidroksilaz aktiviteleri artarak androjenlerdeki artış oluşur. Periferik dokularda androjenler östrojene dönüşerek, kan östrojen düzeyini artırırlar. Kronik östrojen artışına bağlı olarak hipofizin GnRH'a duyarlılığı artarak, LH'nin pulsatil salınımı artar. FSH salınımı negatif feed-back ile azalır (49).

İnsülin tek başına veya LH ile sinerjistik etki göstererek overde androjen yapımını arttırabilir (50). Bu etki stAR ve CYP-17 genlerinin etkinliğinin artması ile gerçekleşmektedir (51). İnsülin diğer taraftan Seks Hormon Bağlayıcı Globulin (SHBG) ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Globulin-1 (IGFBP-1) gibi bağlayıcı proteinlerin yapımını azaltmakta, overde bulunan IGF-1 reseptörlerinin etkinliğini arttırmaktadır (52). Bu etkiler de dolaşımdaki serbest testosteron ve IGF-1 düzeylerini arttırmaktadır.

Polikistik over sendromunda ana paradoks, sistemik insülin direncine rağmen overlerin insülin etkisine duyarlı olması ve androjen yapımının artmasıdır (52) . Halbuki insülinin hedef organları, hatta overler de insülinin metabolik etkilerine karşı dirençlidir. Polikistik over sendromlu kadınlarda hedef organlarda ve overlerde insülin almaçlarında mutasyon ve yapısal bozukluk saptanmamıştır (53). Seçici

insülin direncinin oluşmasında postreseptör sinyal mekanizmalarındaki bozukluk rol oynuyor gibi görünmektedir. Ancak kesin mekanizmalar henüz belirlenmemiştir ve bu konuda daha fazla araştırmaya gereksinim vardır (52) .

2.1.4.3.İntraovaryan Faktörler :

Düşük kontranstrasyonlarda androjenler aromataz etkisi ile östrojene dönüştürülürken yüksek androjen seviyelerinde ise aromatisasyon yerine 5 alfa redüktaz yoluna kayarlar. Serbest E2 ve androstenedion'un (A) periferik dönüşümü sonucu oluşan E1'in negatif feed-back etkisi ile FSH düzeyi düşer. PKOS'lularda FSH'nin tam deprese olamaması nedeniyle yeni folikül gelişimi sürekli olarak uyarılır, fakat foliküller tam matürasyon ve ovulasyon safhasına ulaşamazlar. Foliküller 2-9 mm çapında küçük foliküler kistler şeklinde kalıp birkaç ay devamlılık gösterirler. Bir kısım foliküller atreziye giderken, başka bir folikül grubu aynı gelişim sürecine girer. Foliküler atrezi ovaryan stromal dokuyu artırır. Artmış stromal doku, LH uyarımı ile androstenedion ve testosteron sentezini artırır. Artmış androjen seviyesi nedeniyle testosteron ve androstenedionun, granüloza hücrelerinde aromataz aktivitesi ile östradiol ve östrona dönüştürülememesi, oositlerde yeterli matürasyonun olmasını engeller, prematür folikül atrezisi indüklenir (54). Overlere cerrahi wedge rezeksiyon veya laparoskopik koterizasyon yapılarak stromal dokunun azaltılması, normal ovulatuvar siklusları geri döndürebilmektedir (33).

2.1.4.4. İnsülin Rezistansı ve Hiperinsülinemi :

Panreatik β hücrelerinden salgılanan peptid yapıda bir hormon olan insülin, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmalarını düzenler. İnsülin reseptörü tüm vücutta bulunmasına rağmen kas, karaciğer ve yağ doku olmak üzere 3 ana hedef dokuda metabolik faaliyetini sürdürür. İnsülin, karaciğer başta olmak üzere glikoneogenezi ve glikojen yıkımını inhibe ederek hepatik glikoz üretimini baskımlarken, kas ve yağ dokusuna periferik glukozun alınmasını, protein sentezlenmesini, hücre büyüme ve farklılaşmasını uyarır. Yağ dokusunda lipolizi inhibe eder (46).

İnsülin direnci ise insüline normalde cevap veren yağ, karaciğer, iskelet kası, kalp kası gibi hedef organlarda insülinin sinyal yolunda yetersizlik olması ve

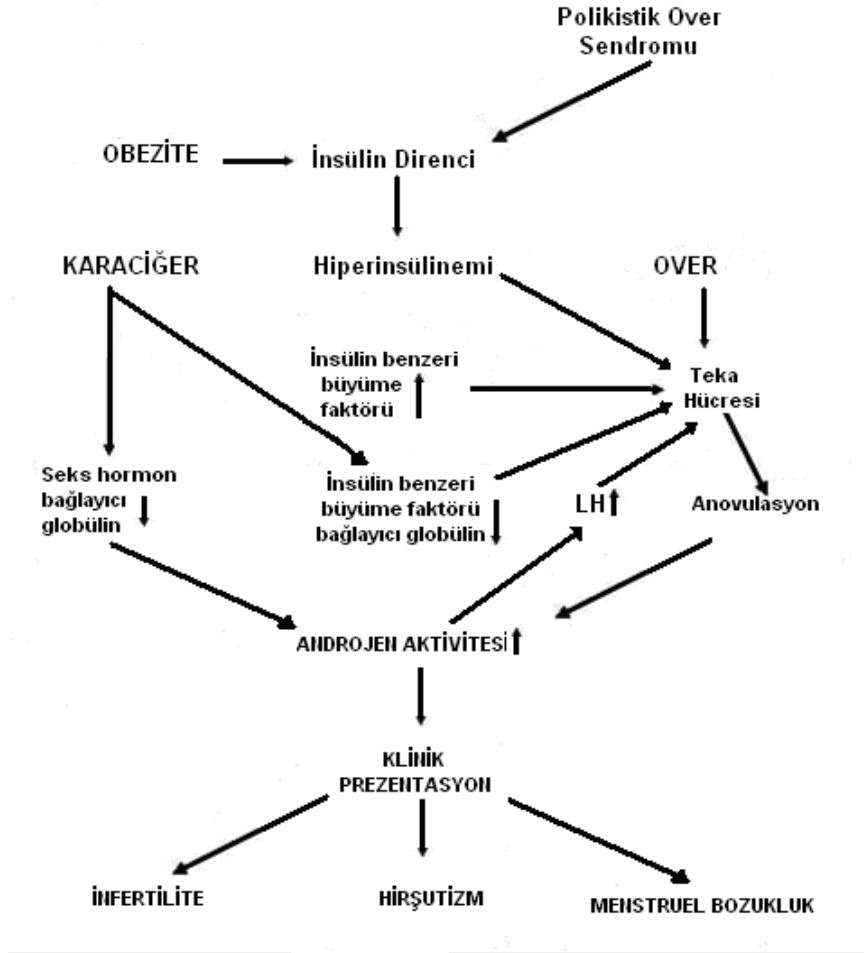
biyolojik yanıtın alınması için daha fazla insülin gereksinimi olma hali olarak tanımlanmıştır. Pankreasta bir bozukluk olmadığı sürece kompensatuar hiperinsülinemi ile normal karbonhidrat metabolizması sürdürülür. Beta hücresinde programlanmış bir defekt var ise, bir süre sonra beta hücresi kompensatuar hiperinsülinemiye sağlayamaz ve bozulmuş glukoz toleransı veya Tip 2 DM gelişir.

Burghen ve arkadaşları tarafından ilk kez 1980 yılında obez PKOS'li hastalarda hiperandrojenizm ve hiperinsülineminin ilişkili olduğunun bulunmasının ardından birçok çalışmada zayıf ve obez PKOS hastalarında insülin direnci gösterilmiştir. PKOS'daki insülin direncinin etyolojisi tam olarak açıklık kazanmamıştır. Ne obezite ne de tek başına androjen fazlalığı PKOS'de görülen insülin etki bozukluğunu açıklamamaktadır (55,56). Ayrıca, her PKOS hastasında insülin direnci olmadığı gibi, insülin direnci ölçümü PKOS tanı kriterleri arasında da yer almaz (57). Non-obez PKOS'lu kadınların %30'u, obez PKOS'u kadınların ise %75'inde hiperinsülinemi ve insülin direnci görülebilmektedir (58). İnsülin direnci, insülin reseptörlerinde azalma, postreseptör defekt, reseptöre karşı antikor veya insülin etkisine karşı inhibitörlere bağlı olabilir (33). İnsülin direncini inceleyen bazı çalışmalarda, insülinin reseptöre bağlanması normal iken, insülin-aracılı glukoz transportunun azalmış olduğu (artmış serin fosforilasyonuna bağlı postreseptör defekt) saptanmıştır (55).

Erken folliküler dönem gonadotropinlerden bağımsızdır ve bu dönemde lokal büyüme faktörleri gereklidir. Özellikle IGF-1'in bu dönemde etkili olduğuna dair pek çok çalışma vardır. IGF-1'in inaktivasyonu ile follikül gelişiminin preantral dönemde durduğu gösterilmiştir (59,60).

Overlerde hem insülin, hem de IGF-1 reseptörleri vardır (33). İnsülin, overlerdeki insülin reseptörlerini veya IGF-1 reseptörlerini stimüle ederek, steroidogenez, aromataz aktivitesi ve ovaryan gonadotropin reseptörlerini artırır. IGF-1 reseptörlerinin uyarılması ile IGF-1 sentezi artar. Artan IGF-1 LH reseptörlerinin sayısını arttırarak, LH'nın bağlanma kapasitesini artırır. LH'ya karşı androjen cevabı artar. Aynı zamanda IGFBP-1 de insülinle düzenlenir. IGFBP-1, IGF-1'i bağlayarak etkisini azaltır. Yüksek insülin düzeyleri IGFBP-1'i baskılayarak IGF-1'in LH ile birlikte teka hücrelerine sinerjistik etki göstermesine neden olur. Sinerjistik etki ile P450 c 17 alfa aktivitesi artarak, ovaryan androjen salınımı artar

(33). İnsülin karaciğerden SHBG ve IGFBP-1'in sentezini azaltarak biyolojik olarak aktif androjenlerin ve östrojenin serbest fraksiyonlarının artmasına neden olur.



Şekil 2.1 İnsülin rezistansı ve hiperinsülinemisinin PKOS'taki rolü

2.1.4.5. Obezite:

PKOS'lu hastaların yaklaşık % 40-60'ı obezdir. (61,62). Çoğu olguda menstrüel bozukluk başlamadan önce belirgin kilo artışı öyküsü bulunur. PKOS'daki obezite Bel/Kalça oranı (WHR) arttığı android tipte obezitedir. Bu tip obezitede karın duvarında, visseral mezenterik bölgelerde yağ doku birikimi olur. Bu yağ dokusu katekolaminlere karşı duyarlı olduğundan metabolik olarak aktiftir. Android tipte yağ dağılımı ile birlikte, hiperinsülinemi, glukoz intoleransı, DM ve androjen yapım hızında artış olur. Androjenlerdeki artış, SHBG düzeyini azaltarak serbest testosteron ve E2 düzeylerinde artışa neden olmaktadır (46,63). Ayrıca android tipte obezite varlığında kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinden olan HT, olumsuz

lipid profillerinin varlığında söz konusu olmaktadır. Zayıf PKOS'lularda serum Growth Hormon (GH) ve LH düzeyi, obez olgulara göre daha yüksektir. Over granüloza hücrelerinde GH reseptörü bulunmakta ve GH, FSH ile sinerjik etki göstererek IGF-1 sentezinin artmasına, dolayısı ile teka hücrelerinde LH etkisinin artmasına neden olur (33).

2.1.4.6.Genetik faktörler:

PKOS patogeneğinde, genetik faktörlerin önemli bir rol üstlenmiş oldukları konusunda kuşku olmamakla birlikte, kalıtımın yapısının tam olarak bilinmemesi ve ilgili çalışmalarda bir takım güçlüklerle karşılaşılması kesin sonuçlara ulaşılmasını engellemektedir. PKOS genetiğine ilişkin çalışmalarda ortaya çıkan sorunlar primer etiyolojinin yeterince açık olmaması, fenotip tanımlarının yetersizliği, çalışma gruplarının heterojen olması ve çok sayıda aday genin varlığı sayılabilir (64,65). PKOS, çok sayıda farklı gen ile çevresel faktörlerin etkileşiminin sonucu olan bir bozukluk gibi görünmektedir. Literatürde genellikle ailesel yığılım, erkek fenotip, ikiz çalışmaları ve çevresel faktörler üzerinde durulduğu görülmektedir (65,66).

PKOS'lu olguların aile bireylerinde tip 2 diyabet gelişme sıklığının toplum ortalamalarına göre yüksek olduğu bildirilmektedir (67). Yılmaz ve arkadaşları, PKOS'lu erişkin kadınların anne ve babalarında bozulmuş glikoz toleransı sıklığını sırasıyla % 40 ve % 52 olarak bildirmişlerdir (68). Bir başka araştırmada, PKOS'lu olguların ailelerinde tip 2 diabet sıklığı 1.2 kat yüksek bulunmuştur (69). PKOS'lu 18 beyaz kadın ve kontrol grubu arasında yapılan bir çalışmada ise, PKOS'lu hasta ve birinci derece yakınları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında PKO ve oligomenorenin insidansının arttığı gösterilmiştir. Yapılan anketlerde bu ailelerde erkek bireylerde erken yaşta kelliğe giden saç dökülmesi de bildirilmiştir. Ayrıca, çalışmada kalıtım şeklinin otozomal dominant olduğu da vurgulanmıştır (65).

Hasta bireylerin ailelerinde hiperandrojenemiye ek olarak, insülin direnci bildirilmiştir. Türk popülasyonunda, Yıldız ve arkadaşları, 52 PKOS hastası ve bu hastaların 102 akrabası üzerinde yaptıkları araştırmada, cinsiyet, yaş, pre veya postmenapozal durum gibi ölçütlere göre oluşturulmuş kontrol grupları ile PKOS'lu hastaların akrabalarını karşılaştırmışlar ve PKOS hastalarının anneleri, kız kardeşleri ve erkek kardeşlerinde insülin direncinin ve karbonhidrat metabolizma

bozukluklarının daha sık olduğunu, ayrıca PKOS'lu kadınların anne ve kızkardeşlerinde serum androjen hormon düzeylerinde artış bulunduğunu bildirmişlerdir (70). Bir çalışmada normal kadınların kızkardeşlerinin %22'sinde PKOS , %24'ünde hiperandrojenemi bulunmuştur. PKOS'lu kadınların analizinde ise kızkardeşlerin %66'sında, annelerin %52'sinde sendrom belirlendi ki, bu oranların kontrol ailesinde görülenden önemli oranda yüksek olduğu bildirilmiştir (71).

Bir başka çalışmada da, PKOS'lu bireylerin kızkardeşlerinde, hiperandrojenemi varlığı ve artmış LH değerleri bulunduğu gösterilmiştir. Bu şekilde biyokimyasal anomalilerin PKOS'lu olgu yakınlarında bulunması PKOS'un genetik temelinde ailesel yığılmanın varlığını önermiştir (72). PKO görünümü ve erkek tarzı erken saç dökülmesinin kalıtım şekli PKOS ailelerinde otozomal dominant kalıtım şekli ile uyumludur. Bu duruma aynı gen yol açıyor olabilir. PKOS olmayan kadınların ailelerinde bu tür bir genetik etki yoktur (71).

PKOS'un genetik orijini konusundaki çalışmalarda ilerleyişin yavaşlaması, .PKOS'lu olguların ailelerine ilişkin kesin olarak tanımlanmış erkek fenotipinin bulunmayışından kaynaklanmaktadır. İlk çalışmalarda, erkekte erken saç dökülmesi PKOS'un erkekteki karşılığı olarak önerilmişse de, bu evrensel olarak doğrulanamamıştır. Daha yakın zamanlarda, erkek PKOS akrabaları ve kontrol grubu arasında serum DHEA-S düzeyleri ve insülin direnci indeksleri bakımından ciddi miktarda örtüşme bulunması nedeniyle PKOS'un erkek fenotipi olarak, PKOS'lu hastaların erkek kardeşlerinde artmış serum Dehidroepiandrosteron Sulfat (DHEA-S) düzeyi ve PKOS'lu kadınların babalarında ve erkek kardeşlerinde insülin direnci önerilmiştir. Bu anomalinin PKOS'lu olguların erkek yakınlarındaki belirleyicisi olarak kabul edilebilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır (73,74).

PKOS'un kalıtsallığına ilişkin araştırmalarda, ikiz çalışmalarına da yer verilmiştir. Çift yumurta ikizleri, tıpkı normal kardeşler gibi, genlerin % 50'sini paylaşırlarken, tek yumurta ikizleri tüm genlerini paylaşırlar. Tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine kıyasla, daha sıklıkla PKOS görünüyor olması, genetik etkiye işaret etmektedir. İkiz çalışmalarının sonuçları, fenotipik değişkenlikte genetik etkileri ve çevresel etkileri birbirinden ayırt etmeye de yarar. Genetik etkiler, tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizleri ve normal kardeşlere kıyasla daha yoğun görülür. Çevresel etkiler de, bireylere özgü olabileceği gibi aile üyeleri tarafından

paylaşıyor da olabilir (75,76). İkiz kardeşlerde PKOS ile ilgili olarak oldukça az veri bulunmaktadır. Jahanfar ve ekibi 11'i USG yönünden PKO taşımayan 19 monozigotik ve 15 dizigotik olmak üzere 34 ikiz kardeş üzerinde çalışmışlardır. Çalışma sonucuna göre yüksek insülin düzeyleri, serum androstenoidol glukuronad ve Body Mass Index - Vücut kütle indeksi (BMI) genetik faktörlerden etkilenmiş olduğunu öne sürmüşlerdir. Daha ileri çalışmalarda, dolaşımda normal ile uyumsuz lipid profilleri de gösterilmiştir. Bu durumun sadece PKO ile uyumlu ikizlerde söz konusu olduğu bildirilmiştir. Bu veriler, PKOS'a eşlik eden metabolik anomaliler için genetik bileşenlerin varlığına işaret etmektedir. Fakat, içinde çevresel faktörlerin de ciddi rol oynadığı poligenik etiyoloji önerilmektedir (76).

PKOS'ta ailesel yığılım genetik orijine işaret etmekte, ancak aile içindeki bireylerde bu sendromun varlığının çevresel faktörlerle de geliştiği kabul edilmektedir (76). PKOS'un klinik varlığında ortaya çıkan etnik farklılıkların beslenme alışkanlığı, egzersiz sıklığı ve yaşam tarzı gibi çevresel faktörlerle bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür. Beslenme sırasında alınan doymamış yağ asidi zincirlerinin poli veya mono olması bile, sendromun metabolik ortaya çıkışını etkileyebildiği bildirilmiştir. Bu yüzden ile bu sendromun gelişimine katkıda bulunan genler, PKOS'un gelişimini etkileyen çevresel faktörlerdeki farklılıklar nedeni ile de çalışılan popülasyona bağlı olarak değişebilmektedir (65,77,78).

2.1.4.7.Enzimatik Defektler:

İnsan ovaryan teka hücrelerinde yapılan klinik ve in vitro çalışmalarda androjen sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan sitokrom P450 c17 alfa enzim sisteminde intrinsik bir anormalliğin olduğu saptanmıştır (33).

2.1.5.PKOS Patolojisi:

Polikistik over, makroskopik olarak beyaz bir kapsülle çevrili, normal over büyüklüğünün 2-5 katı kadardır. Aynı sayıda primordial follikül vardır, ancak gelişen ve atreziye giden follikül sayısı iki kat artmıştır. Mikroskopide yüzeyel korteks, fibrotik ve hiposellülerdir. Küçük atrofik foliküllere ilaveten, artmış sayıda luteinize teka interna içeren folliküller de vardır (79). En dıştaki tunica kalınlığı %50, kortikal stroma 1/3 kat, subkortikal stroma 5 kat artmıştır. Stromadaki artış, hem teka hücre

hiperplazisine hem de aşırı follikül atrezisine bağlıdır. Bu değişikliklerin primer mi yoksa sekonder mi olduğu tartışılmış ve oral kontraseptif kullanan kadınlarda olduğu gibi, belli bir süre ovulasyon olmayan kadınlarda da bu görüntü oluşması nedeniyle sekonder olduğu düşünülmüştür. Over hilus hücre toplulukları (hiperplazi) normalden 4 kat fazladır (33).

Hipertekozis terimi; over stromasında dağınık şekilde yerleşmiş, luteinize olmuş teka benzeri hücre grupları olduğunu kastetmektedir. Polikistik overlerin histolojik bulgularının aynısı ile karakterizedir. Hipertekozisin de sürekli anovulasyon olayının bir sonucu olduğu, ancak bu olayın hipertekozisde daha şiddetli seyrettiği söylenebilir. İnsüline karşı olan direnç hipertekozis derecesiyle ilişkilidir (80).

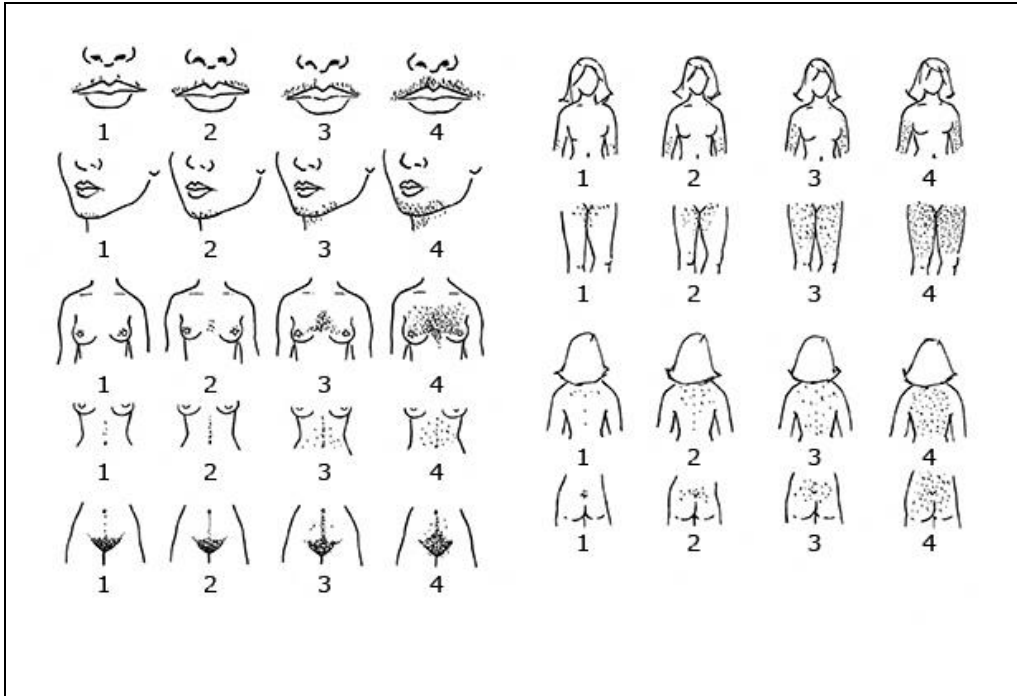
2.1.6.Klinik Bulgular:

Peripubertal dönemde başlayan menstrüel düzensizlikler hiperandrojenemik kadınların öykülerinde sıklıkla görülen bulgulardan biridir ve kliniğe oligo-amenore şeklinde yansır. Kronik oligo- amenore menseslerin arasında 45 günden fazla olması veya yılda altı veya daha az adet görme olarak tanımlanmıştır. %20 hastada düzenli adetler görülebilse de oligo-amenore görülme oranı %80'ler civarındadır. Sürekli anovulasyona bağlı östrojen miktarının artması ve östrojenin progesteron ile karşılanmaması nedeniyle vakaların %30'unda ise ciddi disfonksiyonel uterin kanama meydana gelebilmektedir. Yüksek ve sabit östrojen düzeyleri endometriumda aşırı proliferasyon ve damarlanma artışına neden olur, progesteron olmadığı için de endometrium stromal desteği sağlanamaz, kanamaya meyilli bir endometrium tabakası meydana gelir. Artmış endometrial hiperplazi ve endometrium kanser riski mevcuttur (46,58).

Hirsutizm, kadınlarda kıllanmanın normalde çok hafif olduğu veya hiç olmadığı dudak üstü, çene, yanaklar, kulaklar, karnın alt kısmı, sırt, göğüs ve ekstremitelerin proksimal kısımları, kalçanın alt kısımları ve intergluteal bölge gibi androjene bağımlı alanlarında tipik koyu ve kalın telli kılların fazlalığı olarak tanımlanır. PKOS'da hirsutizm %70 oranında görülür. Hirsutizm modifiye Ferriman-Gallwey (F/G) metodu ile değerlendirilir (81). Bu metot ile üst dudak, çene, göğüs bölgesi, sırtın alt ve üst kısımları, alt ve üst abdomen, kol ve bacakların üst kısımları

olmak üzere toplam dokuz alanda kıl dağılımı 0-4 arasında skorlandırılır ve toplam Ferriman-Gallwey skoru ≥ 8 hirsutizm olarak tanımlanır.

Akne, ciltte yağlanma ve androjenik alopesi de hiperandrojenizme bağlı olarak karşımıza çıkabilmektedir, ancak tanı için bu klinik bulguların olması şart değildir. Ayrıca, etnik özellikler ve bireysel farklılıklara bağlı olarak her hastada hirsutizm bulunmayabileceği de akılda tutulmalıdır (82). Hiperandrojenemi yanında genetik olarak kıl foliküllerinin artmış androjen duyarlılığı mevcuttur. Obez kadınlarda bu bulgular daha sık görülür.



Şekil 2.2 Ferriman-Gallwey skarlama sistemi

PKOS'lu hastaların %30' unda kistik akne, %10' unda alopesi görülmektedir. Virilizasyon PKOS' da nadir görülür, varlığında overyan veya adrenal neoplazmlar, hipertekozis, konjenital adrenal hiperplazi (KAH) veya eksojen androjen alımı da düşünülmelidir (33, 83).

PKOS'da %50 oranında obezite görülür. Toplumda genel obezite prevalansına bağlı olarak farklı ülkelerdeki PKOS hastalarında obezite prevalansı farklılık gösterebilir. Obezite özellikle bel /kalça oranının (Waist-hip ratio - WHR) arttığı android tipte obezitedir. Obez PKOS'lularda genelde insülin yüksekliği, LH,

SHBG, IGFBP-1 düşüklüğü tespit edilir (33,84). Normal vücut ağırlığına sahip PKOS hastalarında da ağırlık yönünden eşleştirilmiş sağlıklı kontrollere göre bel/kalça oranı artmıştır (85).

PKOS'lu olguların %40-70'inde infertilite problemi mevcuttur. Buradaki primer defekt anovülasyondur. Ayrıca artmış LH seviyelerinin oosit üzerine olumsuz etkilerinden dolayı, artmış spontan abortus oranı mevcuttur (86). Gestasyonel DM ve gebelikte hipertansif durumlara yatkınlıkta mevcuttur (87).

PKOS' da %10 oranında galaktore görülür. Hiperprolaktinemi ile beraber seyreden glukoz intoleransı ile hiperandrojenemi arasındaki ilişki ilk kez 1921'de Archard'ın sakallı, diabetik bir kadın sunması ile gösterilmiştir. Günümüzde PKO ile insülin rezistansı arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Bu hastalarda akantozis nigrikans da sık görülür. Akantozis nigrikans; hiperpigmente verrüköz cilt lezyonları olup en sık meme altı, boyun arkası, axilla ve vulvada görülürler. Hiperandrojenizm, insülin rezistansı ve akantozis nigrikans birlikteliğine HAİR-AN sendromu olarak adlandırılır. (88). İnsülin direnci daha çok obez PKOS' lularda tespit edilir. Bu hastalarda, 40'lı yaşlarında %20-40 oranında tip-I diabet gelişmektedir (33).

2.1.7.PKOS'da Hormonal ve Spesifik Testler:

Androjenik hormonlar, terminal kılların büyümesini stimüle eden, ses ve kas yapısında değişikliklere, klitoral büyümeye ve meme hacminde küçülmeye neden olurlar. En iyi bilinenleri testosteron ve androstenedion'dur. DHEA-S ise önemli bir androjen prekürsörüdür.

1. Testosteron: Kadınlarda adrenal bez ve overler tarafından üretilir. Bu iki yerdeki üretim dolaşımdaki testosteronun %50'sini oluşturur. Geriye kalan testosteron over ve adrenal bezden salgılanan androstenedionun periferde testosteroon dönüşümü ile oluşur (60).
2. Androstenedion: Adrenal bez ve overler tarafından üretilir. Testosterondan daha az potenttir. Ancak aşırı konsantrasyonlarda androjenlerin biyolojik etkinliğini gösterir.
3. Dehidroepiandrosteron (DHEA) : DHEA ve sülfat formunun hemen tamamı adrenal bez tarafından üretilir. DHEA hızla metabolize olur ve bu nedenle düzeyinin ölçülmesi tam olarak adrenal bez aktivitesini göstermez. DHEA-S

ise bunun tersine daha uzun yarılanma ömrüne sahiptir ve adrenal bez aktivitesini gösterir.

Polikistik overleri olan kadınlar klinik olarak heterojen bir görünümde ancak biyokimyasal kriterler, farklı semptom ve bulguları birleştirici rol oynar. Normal bir sıklusdaki hormonal dalgalanmaların aksine sürekli anovulasyon olan PKOS'lu olgularda, gonadotropinler ve seks steroidlerinde bir "sabit hal" olduğu belirlenmiştir. Bu hastalarda LH uyarısına bağlı olarak östrojen ve androjenlerin günlük ortalama sentez miktarları artmıştır (60). Dolaşımda testosteron, andostenodion, DHEA ve DHEA-S, 17 Hidroksiprogesteron (17-OHP) ve E2 düzeyleri yüksektir. PKOS'lu olguların %50'sinde DHEA-S yüksektir. DHEA-S yüksek olan bu olguların %50 kadarında, uzun süreli GnRH agonisti tedavisi ile DHEA-S düzeylerinde azalma sağlanmıştır (89). Bu da over kaynaklı sabit halin, sekonder olarak sürrenal salgısında da değişikliğe yol açtığını düşündürmektedir. PKOS'da hiperandrojenemide adrenal bez de etkili olmakla beraber esas kaynak overlerdir (46). Overdeki androjen biyosentezinde endokrin etkileşimlerin açıklanabilmesine karşın, biyokimyasal temeldeki bozukluklar tam olarak bilinmemektedir. Normal kadınlarla karşılaştırınca sürekli anovulasyonu olan PKOS'lu olgularda, LH konsantrasyonu daha yüksek, FSH konsantrasyonu ise düşük veya normalin alt sınırındadır. LH miktarında ki artışın yanı sıra, biyoaktif LH oranında da artış olması önemlidir. Obez PKOS'lu kadınlarda, normal kilolu PKOS hastalarıyla kıyaslandığında serum LH düzeylerinde ekstra bir artış izlenmez. Kısaca, LH yüksekliğinin izlendiği anovulatuvar durum vücut yağ içeriğinden bağımsızdır (90). LH pulslarının amplitüd ve frekansı (ve sonuçta LH miktarında artma), hipofizin GnRH uyarısına duyarlılığında ki artışa bağlanmıştır (91). Hipofiz ve hipotalamusdaki duyarlılık artışına, östrojen düzeylerinde yükselmenin neden olduğu düşünülmüş, ama sonra SHBG konsantrasyonunda azalmanın da bu konuda etkin bir faktör olduğu bildirilmiştir (80). LH düzeyinde yükselme de serbest E2 düzeyindeki yükselme ile pozitif bir bağlantı gösterir.

SHBG, üretimi T tarafından baskılanan, E2 ve tiroksin tarafından stimule edilen ve karaciğerde sentezlenen bir proteindir. Artmış testosteron ve bazı olgularda hiperinsülineminin karaciğer üzerine etkisi ile PKOS olgularının yaklaşık yarısında SHBG %50 civarında azalmış bulunmaktadır, bu da serbest E2 seviyelerini

artırmaktadır (92). PKOS'da periferik dokularda andostenodion E2'ye çevrilmesine bağlı olarak total östrojen artar. FSH düzeyi tam supresyona uğramadığından sürekli olarak yeni folliküller gelişir ancak tam olgunluğa erişemediğinden ovulasyon olmamaktadır. Böylece uzun süreler 2-9 mm çapında (bazen 15 mm'ye dek büyüyebilir) çok sayıda follikül kistleri oluşmaktadır. Atrezi sırasında granuloza tabakasında dejenerasyon oluşmamakta, overin stroma bölümüne katkıda bulunan teka hücreleri varlığını sürdürmektedir ve bu teka hücreleri androjen salgılamaya devam etmektedir. Artmış LH düzeyine cevap olarak androjen salgısı hızlanır. Daha sonra kısır döngü ile yükselmiş androjen düzeyleri ekstraglandüler olarak androjenden östrojene dönüşümü artırır, SHBG sentezini baskılar, sonuçta östrojen düzeyinde yükselmeye neden olur. SHBG'de azalma, serbest testosteronda iki kata yakın bir artışa neden olur (80). Lokal androjen bloğu sürekli anovulasyon halinin devam etmesinin en önemli nedenlerinden biridir. Overlerde cerrahi wedge rezeksiyon yapıldıktan sonra ovulatuvar siklusların geri dönmesi, over içindeki androjen etkisinin ovulasyonu engelleyen en önemli faktör olduğunun kanıtıdır (93).

PKOS'lu vakaların %10-30'unda prolaktin (PRL) yükselmiş olabilir.

Açlık kan şekeri değerlerinin PKOS için iyi bir tarama testi olmadığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (94). Açlık glikoz düzeyleri yerine 2 saatlik Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) hem açlık glikoz düzeyini hem bozulmuş glukoz toleransı ve diabet tanılarını sağladığı için tercih edilmesini öneren yayınlar mevcuttur (57). Aynı şekilde American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) PKOS hastalarının oral glukoz testi ile taranmasını önermektedir. OGTT beta hücre fonksiyonunda zaman içinde olabilecek değişikliklerden etkilenmediğinden PKOS için daha iyi bir tanı testi olarak görülmektedir.

PKOS'lu hastaların yaklaşık %70 'inde anormal serum lipid profiline rastlanmaktadır (95). Trigliserit (TG) yüksekliği ve Düşük dansiteli lipoprotein (Low Density Lipoprotein - LDL) kolesterol yüksekliği, Yüksek dansiteli lipoprotein (High Density Lipoprotein -HDL) kolesterol düzeylerindeki düşüklüğün diyabet hastalarının lipid profiline benzediği tespit edilmiştir. Hiperinsülinemi ve hiperandrojenemi adipositlerin katekolaminlerle indüklenmiş lipolizini artırır ve dolaşıma serbest yağ asidi salgılatır. Karaciğerde artan serbest yağ asitleri Çok düşük dansiteli lipoprotein (Very Low Density Lipoprotein-VLDL) sekresyonunu sitümüle

eder ve bu da hipertrigliseridemiye neden olur (95). Conway ve arkadaşları en karakteristik lipid değişiminin HDL2'deki düşüklük olarak rapor etmişlerdir (96).

Lipid düzeyi değişikliklerinde en önemli rol oynayan faktörün hiperinsülinemi olduğu söylenmektedir (97). PKOS'lu kadınlarda hepatik lipaz aktivitesinin artmasından dolayı büyük lipoprotein partiküllerinin daha aterojenik özellikteki daha küçük partiküllere dönüşümü artmaktadır. Bu da bize HDL'de azalma ve LDL'de artmayı açıklamaktadır (98). Ayrıca serbest yağ asitlerindeki artış, oksidatif stres artışı, okside LDL kolesterol artışı, HDL kolesterolde düşme ve proinflamatuvar adipokinlerde artışa yol açarak (Tümör nekroz faktörü (TNF), leptin gibi) endotel fonksiyonunu bozabilir. Ayrıca hiperinsülinemi direkt olarak veya IGF-1 aracılığıyla vasküler düz kas hipertrofi ve hiperplazisini uyarır ve ateroskleroza yol açar.

Ayrıca PKOS hastalarında yapılan çalışmalarda aterosklerotik olayların artmasına anormal koagülasyonun da katkıda bulunabileceği bulunmuştur. Yıldız ve arkadaşları tarafından diyabeti olmayan PKOS hastaları yaş ve BMI bakımından eşit olan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında global fibrinolitik aktivitenin düştüğü gözlemlenmiştir (99). PKOS'lu kadınlarda ayrıca fibrinolizin güçlü bir inhibitörü olan plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI) konsantrasyonu da artmıştır ve bu durumun hastalarda kardiyovasküler hastalıklar yönünden artmış riske katkıda bulunabileceğini vurgulanmaktadır (100,101). Serumda artmış PAI-1 düzeylerinin tromboza yatkınlık ve anovulatuvar infertilite ile yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (102,103). Plazma açlık insülin seviyelerindeki artış, PAI-1 düzeylerindeki artışla anlamlı korelasyon göstermektedir (104). PAI-1 düzeylerinin artışı tromboz eğilimini artırır (97,100) ve MI gelişimi için kolaylaştırıcı bir faktördür (105). Trombin ile aktive edilebilen fibrinoliz inhibitorü (TAFI), plazmin oluşumunu ve fibrinolizi inhibe eder. Oral ve arkadaşları tarafından PKOS hastalarında yapılan bir çalışmada plazma TAFI, PAI-1, D-dimer, Antitrombin III (AT III) ve trombomodulin seviyeleri yaş ve BMI bakımından eşit olan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek bulunmuştur (106). Fakat Erdoğan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada PKOS hastalarının plazma TAFI seviyeleri sağlıklı kontrollerinkine benzer bulunmuştur (107).

C reaktif protein (CRP); miyokard infarksiyonu, inme, ani kardiyak ölüm ve periferik vasküler hastalıkları içeren miyokardiyal olayların hızı ile bağlantılı bir inflamasyon belirtecidir. Aktive makrofajların ürettiği CRP'nin sadece ateroskleroz sürecinde bir inflamatuvar belirteç mi yoksa vasküler hastalıkların gelişiminde aktif rol alan bir belirteç mi olup olmadığı konusunda tartışmalar vardır (95). 116 PKOS hastasında Boulman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada CRP seviyesinin yükseldiği doğrulanmıştır (108).

Loverro ve arkadaşlarının çalışmasında PKOS'lu genç kadınlarda normal sınırlarda olmakla birlikte artmış homosistein düzeyleri tespit edilmiştir (109). Bazı çalışmalar plazma homosistein düzeylerinin kardiyovasküler hastalık için güçlü bir risk faktörü olduğunu ve hafif artmış homosistein düzeylerine yol açan genetik nedenlerin, diğer faktörlerden bağımsız olarak kardiyovasküler hastalık riskinde artışa neden olabileceğini göstermektedir (110).

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA); vasküler tonusu düzenleyerek vasküler homeostazın sürdürülmesini sağlayan, trombosit agregasyonunda, lökosit-endotel etkileşimi ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunda hız kısıtlayıcı olarak rol alan, trombositlerin adezyon yeteneğini ve trombus oluşumunu azaltarak koroner arter spazmını önleyen, lipid peroksidasyonu sırasında zincir parçalayıcı bir antioksidan şeklinde etki göstererek antiaterojenik etkiye bulunabilen NO biyosentezinin majör inhibitörüdür. Yapılan çalışmalarda plazma ADMA düzeylerindeki artışın endotel disfonksiyonu ve artmış aterogenez ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Heutling ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PKOS'lu hastalarda ADMA seviyesi önemli derecede yüksek bulunmuş ve ADMA seviyesinin insülin rezistansının derecesiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (111).

Melatonin; epifiz bezinde triptofandan sentezlenir ve plazmada proteinlere bağlanarak karaciğerde metabolize olduktan sonra idrarla başlıca metaboliti olan 6-Hidroksimelatonin-sülfat olarak atılır. Melatonin'in sirkadiyen ritimlerin düzenlenmesinde, uyku, duygu durum, üreme ve belki de tümör büyümesi ve yaşlanmada biyolojik role sahip olduğunu belirten yayınlar vardır (112). Fakat melatoninin üreme fonksiyonundaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Cavallo ve arkadaşlarının çocuklarda yaptığı bir çalışmada yüksek nokturnal melatonin seviyesinin GnRH, over fonksiyonları ve pubertal gelişim üzerinde baskılayıcı etkisi

olduğu bulunmuştur (112). Luboshitzky ve arkadaşlarının PKOS'lu kadınlarda yaptığı çalışmada 6- Hidroksimelatonin-sülfat seviyeleri kontrol gurubuna göre yüksek bulunmuştur (112).

ACOG tarafından 2009 yılında yayınlanan klinik rehberde ayırıcı tanı ve takip açısından izlenecek algoritmayı belirleyen bir rehber oluşturulmuştur (Tablo 3). Bu rehberin oluşturulma amacı risk grubunda uzun dönem risklerin taranması, bu sayede önleyici önlemlerin alınabilmesi ve gereken durumlarda erken tedavinin başlatılabilmesidir.

Tablo 2.3 ACOG 2009 PKOS klinik rehberi değerlendirme önerileri

Fizik muayene ▪ Kan basıncı ▪ BMİ (ağırlık (kg)/ boy² (m²)) 25-30: kilolu >30 obez ▪ Bel çevresi (vücut yağ dağılımını belirlemek için) >88 cm : anormal ▪ Hiperandrojenizm ve insülin direnci işaretlerinin varlığı (Akne, Hirsutizm, Androjenik alopesi, Akantozis Nigrikans)
Laboratuvar ▪ Biyokimyasal hiperandrojenemi (Total testosteron ve SHBG veya serbest Testosteron) ▪ Hiperandrojenizmin diğer nedenlerinin dışlanması Tiroid disfonksiyonu için: Tiroid Stimulan Hormon(TSH) Hiperprolaktinemi için: Prolaktin Konjenital adrenal hiperplazi için: 17-OH progesteron Cushing ve Akromegali için tarama ▪ Metabolik değerlendirme (75 gr 2. saat OGTT, Açlık Glukozu) ▪ Açlık lipid ve lipoprotein seviyelerinin değerlendirilmesi
Ultrason değerlendirmesi ▪ Polikistik over görünümü(En az bir overde, 2-9 mm çapında 12 follikül ve/ veya artmış over volümü $\geq 10 \text{ cm}^3$) ▪ Endometrial değerlendirme
Opsiyonel tetkikler ▪ Amenorenin nedeninin belirlenmesi için gonadotropin testleri ▪ İnsülin direnci ve hiperandrojenizm işaretleri taşıyan veya ovulasyon indüksiyonu planlanan genç hastalarda açlık insülin seviyeleri ▪ Geç başlangıçlı PKOS bulguları veya Cushing sendromu işaretleri mevcut ise düşük doz dexametazon supresyon testi veya 24 saatlik idrar serbest kortizol atılımı

2.1.8.PKOS'da Ultrasonografi:

PKOS'da USG önemli olsada tanı için şart değildir (33). Reprodüktif yaştaki 257 sağlıklı kadında yapılan bir çalışmada; USG'de %23 oranında PKO görülmüştür. Yine benzer şekilde PKOS'lu hastalarının bir kısmında USG'de normal overler görülmüştür (83).

PKOS'da klasik USG görünümünde; overler büyük, 2-9 mm' lik ≥ 12 folikül ve over stromasına belirgin artış mevcuttur (1). Bu bulgunun tek overde olması yeterlidir. Polikistik over değerlendirmesinde folliküllerin dağılımı dikkate alınmaz. Oral kontraseptif ilaç kullanımı over morfolojisini etkileyebileceğinden bu görüntü varlığında akılda bulundurulması gerekir.

2.1.9.PKOS'da Ayırıcı Tanı:

PKOS için tanısallık bir test yokluğu, anovulasyon ve hiperandrojenizmden oluşan geniş klinik spektrumla birlikte oluşu, benzer klinik görünümlü hastalıkların göz önünde bulundurulmasını gerektirir. Ayırıcı tanıda menstrüel düzensizlikler ve hirsutizme neden olabilecek pituitar ve adrenal bez hastalıkları, hiperandrojenizme neden olan hastalıklar bulunmaktadır. Bazı ilaçların kullanımı hiperandrojenizme ya da hiperandrojenemik değişikliklere yol açabilir. (androjenler, progestagenik ajanlar, steroidler, fenitoin gibi)

Hızlı gelişen hirsutizm, virilizan bulgular neoplastik bir etyoloji için uyarıcı olabilir. Bu durumda androjen salgılayan tümörler ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Testosteronun > 200 ng/dL, DHEA-S'in $> 7,000$ ng/mL olması adrenal/over tümörünü düşündürmelidir.

Konjenital adrenal hiperplazi genetik olarak steroid sentezindeki enzimlerde eksiklik yada islevsel bozukluğun olduğu bir durumdur. KAH'i oluşturan birkaç enzimatik defekt arasında 21-hidroksilaz eksikliğinin inkomplet formu PKOS'u en iyi taklit edendir. Otozomal resesif kalıtımla geçen bu eksiklikte 17-alfahidroksiprogesteron (17-OHP) birikir, bu da menstrüel siklusun foliküler fazındaki değer ile karşılaştırıldığında, bu hormonun anormal yükselmesine yol açar. 17-OHP bir androjen prekürsörü olduğu için bu defektin var olması artmış androstenedion, testosteron ve sonuçta hiperandrojenizme yol açar.

Bununla birlikte, şiddetli hirsutizm, kliteromegali, familyal eğilim ve kısa boy gibi KAH 21-hidroksilaz eksikliğinin tanısını düşündüren birkaç belirti varsa da klinik görünümün PKOS'dan ayırt edilemeyebileceği bilinmelidir. Kısa boy için bir izah bilinmemektedir. Morfolojik olarak overlerin PKOS'dakine benzer görüldüğü bildirilmiştir. Periferik kistik foliküllerin varlığı zıt bir bulgu ise de kapsül genellikle sıkı ve kalındır. Geç başlangıçlı klasik olmayan KAH belirtiler pubertede başlar, 17 OHP düzeyinin erken follikuler fazda < 3 ng/mL olması ile ekarte edilebilmektedir. Bu değerin üzerindeki olgularda ACTH uyarısı ile ölçülen 17 OHP seviyesinin > 10 ng/mL olması 21- hidroksilaz eksikliğinin tanısını koydurur. İkinci enzim eksikliği 11 beta-hidroksilazdır. Bu enzim eksikliği 17-OHP yakın prekürsörü olan 11-deoksikortizolde artma nedeniyle hafif hirsutizme yol açar. Genellikle bu hastalık KAH'ın 21-hidroksilaz formundan eşlik eden hipertansiyon ile ayırt edilebilir.

Cushing sendromunun klinik görünümü primer olarak adrenal tümör veya artmış ACTH üretimi nedeniyle aşırı kortizol salgısı ile oluşur. Akciğer adenokarsinomunda olduğu gibi nadir durumlarda ektopik ACTH kaynağına rastlanabilirse de çoğu vakalarda , artmış ACTH üretimi pitüiter tümör nedeniyledir. PKOS tanısını hatırlatan obezite, hirsutizm, akne ve menstruel düzensizlikler mevcuttur. Ay benzeri yüz, bufalo hörgücü, hipertansiyon, adele kaybı, abdominal stria ve osteoporozis gibi ilave belirtiler primer problem olarak kortizol fazlalığını gösterir. Sirkülasyondaki androjen düzeyleri yüksekken, aynı zamanda artmış bazal seviyeler, sirkadien ritmin kaybı ve deksametazona cevap olarak süpresyonda yetersizlikle karakterize anormal kortizol sekresyonu vardır. KAH'ın tersine overlerin dikkatli muayenesinde vakaların çoğunda, PKOS'un tipik değişiklikleri görülmez. Cushing sendromunu düşündüren klinik bulguların varlığında, 24 saatlik idrarda serbest kortizol düzeyinin ölçülmesi tarama için kullanılabilir (76).

PKOS'de % 30'a varan oranlarda PRL yüksekliği görülebilir. Hiperprolaktinemi, GnRH pulsasyonlarını değiştirerek gonadotropin salgısını etkiler. Östrojenin LH üzerine olan pozitif "feedback" etkisini engeller, adrenal kaynaklı androjenlerin salgısını uyarır. Tiroid hastalıklarında menstruel düzensizlikler görülebilir, ancak çoğu zaman hastalıkla ilişkili diğer semptom ve bulgular tanıya olanak sağlar (37).

Ovaryan Hipertekozis nadir görülen bir proliferatif durumdur. Overin stroması boyunca yayılmış luteinize teka hücreleri adacıkları vardır. Teka hücrelerinin tutulumu minimal veya aşırı olabilir. Şiddetli hipertekoziste aşırı derecede sıkı yapılı, irileşmiş overlere neden olan yaygın ve kesif fibroblast gelişebilir. Bu bulgular PKOS'dakinden belirgin derecede farklıdır. İlginç olarak hipertekotik transformasyonun derecesi hastalığın şiddetiyle orantılı değildir (113). Bu hipertekotik dokunun gonadotropin stimülasyonuna hipersensitif olabileceğini gösterir. Çünkü serum LH değerleri genellikle normal seviyelerdedir. Belirgin derecede yüksek serum androjen konsantrasyonları nedeniyle, bu kadınlarda şiddetli hirsutizm görülür. Bu hastalıkların önemli bir yüzdesi aynı zamanda kliteromegali, temporal saç dökülmesi, erkek tipi vücut yapısı ve ses kalınlaşması gibi virilizasyon belirtileri gösterirler. GnRH verilmesinin androjen yapımını dramatik bir şekilde azalttığına görülmesine rağmen, androjen üretimi oral kontraseptif tedavisi gibi uzun süreli ovaryan supresyonun klasik formlarına dirençli olabilir. Genellikle belirgin insülin rezistansı vardır. Ayrıca bu hastalar obezdirler ve akantozis nigrikans bulunur.

Primer ovaryan yetmezlik 40 yaşından önce over fonksiyonlarının azalması ve kaybı olarak tanımlanan; genetik, otoimmün, cerrahi, enfeksiyöz, kemoterapi, radyoterapi nedeniyle gelişebilen bir durumdur. Hastalar amenore ile başvurur. Gonadotropinlerin yüksek, östrojenin düşük olması ile ayırıcı tanı yapılabilir.

Tablo 2.4 PKOS ile ayırıcı tanısı yapılması gereken klinik durumlar

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">▪ Nonklasik konjenital adrenal hiperplazi▪ Cushing sendromu▪ Androjen salgılayan tümörler▪ Eksojen androjen alımı▪ Hipertekozis▪ Hiperprolaktinemi▪ Tiroid patolojileri▪ Akromegali▪ Primer hipotalamik amenore▪ Primer ovaryan yetmezlik |
|--|

2.1.10. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Uzun Dönem Sağlık Riskleri

2.1.10.1. Glukoz intoleransı ve Tip 2 DM

PKOS patofizyolojisinde insülin rezistansı temel rol oynamaktadır. Bazal insülin rezistansına obezitenin etkileri de eklenince PKOS'lu olgular ciddi anlamda bozulmuş glukoz toleransı ve Tip 2 DM riski taşırlar. Yaş, bel çevresi ve bel/kalça oranında artış ve birinci derecede akrabalarda diabetes öyküsü bu riskin artmasında rol oynamaktadır (40). Reprodüktif dönemdeki PKOS'lu olgularda bozulmuş glukoz toleransı prevalansı %31-35; Tip2 DM prevalansı da %7,5-10 bulunmuştur (40,114). Bu oranlar düzenli adet gören kontrollere göre anlamlı olarak yüksektir. Bir çalışmada ABD ve Avustralya'daki PKOS'lu olgulardaki tekrarlanan glukoz tolerans testleri ile, bozulmuş glukoz toleransından Tip 2 DM'a geçişin 2-5 kez arttığı gösterilmiştir (115). PKOS'lu kadınların insülin rezistansına sahip oldukları ve DM riski taşıdıklarının öğrenilmesi bu hastalığın uzun süreli sağlıkta önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır. İnsülin rezistansının nispeten ağır olduğu bildirilirken, kırklı yaşlarda bu hastaların % 20-40 kadarında glukoz intoleransı veya Tip2 DM gelişecektir (33,51,116).

Bozuk glukoz toleransı ve diabetes için riskte olanlar sadece PKOS 'lu kadınlar değildir. Birinci derece akrabalarında yaygın olarak artmış insülin konsantrasyonları bildirilmiştir (117). Çalışmalar PKOS 'lu kadınların anne ve babalarında bozuk glukoz intoleransı ve DM için kombine sıklık oranlarının sırasıyla %46 ve %58 olduğunu ve bunun da PKOS hikayesi olmayan ailelerde görülen oranlardan daha yüksek olduğunu göstermiştir (70). İlave olarak PKOS'lu kadınların etkilenmiş kız kardeşlerinin, onların etkilenmemiş kız kardeşlerinden daha yüksek insülin/glukoz oranına sahip oldukları gösterilmiştir (118). Sonuç olarak, bu bulgular PKOS'lu kadınlar ve onların aile fertlerinde glukoz metabolizmasında bozukluklara artmış eğilimi göstermektedir.

2.1.10.2 Dislipidemi- Disfibrinojenemi - Koroner Arter Hastalığı

Polikistik over sendromlu kadınlarda hiperandrojenizm ve obezite nedeni ile dislipidemi, disfibrinojenemi gelişebilir ve bundan dolayı koroner arter hastalığı riski artar. İnsülin rezistansı (IR) da dislipidemiye katkıda bulunur. PKOS olan kadınların yaklaşık %70'inde lipid düzeylerinin sınırda yüksek olduğu bulunmuştur (60).

Polikistik over sendromunda fibrinolitik aktivite bozulur, PAI-1 düzeyi artar. Bu artış IR'ye bağlıdır (104). Kilo kaybı ve insülin duyarlılığını artıran ajanlar PAI-1 düzeyini azaltır. Bu da kardiovasküler sistem hastalığı riskini azaltır (60). Bir çalışmada kontrol grubuna göre PKOS'lularda subklinik aterosklerozun 45 yaş üzerinde arttığı bildirilmiştir (46).

PKOS 'lu kadınlarda benzer kontrollere kıyasla önemli derecede artmış total-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid ile karakterize lipid anormallikleri mevcuttur (116). Total HDL-kolesterol ve LDL2 serum seviyeleri ise PKOS'da normal kadınlardakinden önemli derecede düşüktür. Birçok risk faktöründen bağımsız olarak PKOS'da bu lipid profili mevcut olabilirken, lipid metabolizmasında da bu faktörlerin etkisi önemli olabilir.

PKOS da lipid anormalliklerine predispozisyon oluşturan mekanizmalara bakılmaksızın, bu hastalar koroner damarlarda plak gelişmesi için risk altındadırlar (116). Hepatik lipaz etkisiyle, trigliserid çok düşük dansiteli lipoprotein ve orta dansiteli lipoprotein LDL kolesterole dönüşür. Bir diğer lipoprotein, lipoprotein-a da aterojeniktir ve LDL-kolesterol yükseldiği zaman en bariz etkiye sahiptir. LDL-kolesterolün aterojenik özellikleri iyi belirlenmişken, düşük HDL-kolesterol ve yüksek trigliseridlerin kadınlarda koroner arter hastalığı için, erkeklerden daha prediktif olabileceğini gösteren deliller mevcuttur (119).

PKOS'lu hastalarda obezite, insülin direnci, hiperinsülinemi, bozulmuş glukoz toleransı, dislipidemi ve artmış visseral adipozitenin bulunması kardiovasküler hastalıklara (KVH) eğilim yaratır. Bu sendromun gözlemlendiği kadınlarda artmış KVH riski tam olarak gösterilemese de, veriler kardiovasküler hastalık sıklığının arttığını göstermektedir (120).

Artmış kardiyak morbidite ve mortaliteye yönelik kanıtlar da yetersiz ve bu konuda yapılan çalışmalarda da farklı sonuçlar bildirilmektedir. Yapılan ilk dönem çalışmalarında PKOS'lu kadınlarda nonfatal, fatal KVH sıklığında artış gözlenmese de, nonfatal serebrovasküler hastalık görülme sıklığında artış saptanmıştır (120). Bir diğer çalışmada bunun aksine öyküde menstrual düzensizlik olmasının nonfatal ve fatal koroner kalp hastalığında artış ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (120). Yakın zamanda yapılan Women's Ischemia Evaluation Study (WISE) alt grup çalışmasında PKOS'lu hastalarda ilk dönem çalışmalarının aksine daha yüksek

sayıda kardiovasküler olay izlenmiştir. Ayrıca, aynı çalışmada PKOS'lu kadınlarda çoklu damar koroner hastalık sıklığı, artmış serum testosteron seviyeleri ile korele olarak daha yüksek saptanmıştır. Yine aynı çalışmada PKOS'lu hastalarda diyabet, obezite ve metabolik hastalık sıklığında artış izlenmiş ve beş yıllık dönemi kardiovasküler hastalıklı geçirme sıklığı PKOS'lu hastalarda %78,9 iken, PKOS özellikleri taşımayan kadınlarda %88,7 olarak gözlenmiştir. Bu çalışmada araştırmacılar postmenopozal kadınlarda PKOS özelliklerinin tanımlanmasının koroner arter hastalığı ve kardiovasküler olaydan korunmada bir fırsat yaratabileceğini savunmuşlardır (120).

Krentz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 713 postmenopozal intakt overleri olan nondiyabetik kadın hastada öyküde PKOS özelliklerinin bulunması (premenopozal menstrual düzensizlik, hirsutizm) veya mevcut hiperandrojenizm varlığı ile kardiovasküler hastalık arasında kademeli bir ilişki olduğu gözlenmiştir (120).

Sonuç olarak şuan ki epidemiyolojik veriler PKOS'da kardiovasküler hastalık sıklığının artmış olduğunu göstermektedir ve bu artışın da çoğunlukla artan genel ve abdominal obeziteye, hiperinsülinemiye ve hiperandrojenemiye bağlı olduğu düşünülmektedir. Henüz reproduktif dönemde iken PKOS özelliklerinin tanımlanması ve kardiovasküler riskin belirlenmesi ve hastaların bu açıdan taranması kardiovasküler olaydan korunmada bir fırsat yaratabilir.

2.1.10.3. Hipertansiyon

PKOS'da HT gelişimine yol açan faktörler insülin direnci, hiperandrojenemi, obezite ve artmış sempatik sinir sistemi aktivitesidir. Bu olgularda HT'a yol açan risk faktörlerinin yapılacak tarama testleri ile tespit edilmesi ile, erken dönemde müdahale edilerek HT ve kardiyovasküler hastalık engellenebilir. PKOS olgularında HT gelişiminin obeziteden bağımsız olup olmadığı noktası tartışmalıdır. Yine de PKOS olgularında HT önlenmesinde kritik nokta yaşam tarzı değişimi yani diyet ve fiziksel aktivitedir.

Chen ve arkadaşlarının ortalama yaşları 24 olan PKOS'lu hastalarla yaptığı bir çalışmada, serum serbest androjen indeksi veya total testosteron seviyelerinin ,

yaş, BMI, insülin rezistansı veya dislipidemiden bağımsız olarak hem sistolik hemde diastolik kan basıncı ile ilişkili olduğunu saptamışlar (121).

2.1.10.4. PKOS’da Gebelik Komplikasyonları:

PKOS’lu gebelerin gebelikleri sırasında spontan abortus, gestasyonel diabet, gebeliğe bağlı hipertansiyon gelişme riski ve düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma riskleri artmıştır (122). Gebelik kaybında; obezite, hiperinsulinemi, LH düzeylerindeki artış ve endometrial disfonksiyon suçlanmaktadır. Ayrıca PKOS’lu hastalarda serum seviyeleri artmış olduğu bilinen PAI-1’in gebelik kaybı için bir risk faktörü olabileceği (37) ve bu risk artışına da anormal plasentasyona ve hipofibrinolizise neden olarak yol açtığı düşünülmektedir.

2.1.10.5 .Jinekolojik Maligniteler

PKOS’lu hastalarda uzun süreli karşılanmamış östrojen etkisi, endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom riskini arttıran ana nedendir. Östrojen miktarındaki artıştan kronik anovulasyon, obezite ve hiperinsulinemi sorumludur. Ancak PKOS hastalarında endometriyal kanser sıklığının ya da endometriyal kansere bağlı mortalitenin artmış olduğu gösterilememiştir (123). PKOS’un artmış östrojene bağlı olarak meme kanseri insidansını arttırdığı ve kronik anovulasyona bağlı olarak da over kanseri insidansını azalttığı iddia edilmiş; ancak uzun dönem retrospektif çalışmalarda PKOS hastalarında bu kanserlerin gelişme riskinde veya neden oldukları mortalitede artış bulunmamıştır (46).

Sonuç olarak şu ana kadar PKOS ile kanser ilişkisini destekleyen güçlü kanıtlara rastlanmamıştır. Bunun sebebi de yapılan çalışmaların çoğunun kontrollü çalışma olmaması ve sendromu tanımlamak için kullanılan tanı kriterlerinin farklılıklar içermesidir. Ancak mevcut veriler ışığında özellikle başta endometrial kanser olmak üzere PKOS ile jinekolojik kanserlerin ilişkisini gözardı etmek mümkün değildir. Polikistik over sendromu ile epitelyal over kanseri arasındaki ilişki ile ilgili sonuçları tartışmalı olmakla birlikte az sayıda güvenilir çalışma mevcuttur. PKOS ile meme kanseri arasında ilişkiden bahseden çalışmalarda da böyle bir ilişkiyi yok saymak veya güçlü bir ilişkiyi kabul etmek için yeterli değildir. Günümüzde PKOS’lu hastalarda kanser için genel bir tarama önermek doğru gözükmemektedir.

Bu konuda yapılması gereken risk faktörlerini ortaya koymak ve yüksek riskli hastaları belirlemektir (124).

2.1.11.PKOS’da Tedavi

PKOS’ta tedavinin amacı; yaşam tarzı modifikasyonu ve kilo kaybı, insülin rezistansı sonuçlarını önleme, gebelik istemine yönelik tedavi, dolaşımdaki androjenleri azaltmak, reproduktif fonksiyonu düzeltmek, endometriumun korunması, dislipidemi, HT, aterosklerotik kalp hastalığı tedavisidir.

2.1.11.1. Yaşam tarzı değişiklikleri:

Kilo kaybı ile SHBG seviyesi yükselir ve insülin rezistansı azalır. Vücut ağırlığının % 5’inden fazla kilo kaybı androjen seviyelerini düşürebilmekte ve ovulasyonun spontan geri dönmesini sağlayabilmektedir. Düzenli egzersiz de insülin rezistansında azalmaya yardımcı olur (76).

2.1.11.2. İnsülin duyarlılığını artırıcı ajanlar:

Bu ilaçlar periferde insüline olan duyarlılığı artırır, dolaşımdaki insülin seviyesini azaltırlar. Bu gruptaki ajanlar; biguanidler ve thiazolidinedionlardır. Etkileri kişisel farklılıklar gösterir. İnsülin sekresyonunu artırmazlar ve nadiren hipoglisemiye yol açarlar. Troglitazon grubu ise, hepatotoksitesi nedeniyle kullanımdan kaldırılmıştır. Bu ilaçların PKOS tedavisinde kullanılması için FDA (food&drug administration) onayı yoktur. Biguanid grubundan olan metformin 3-6 ay kullanıldığında, hastaların yarısında ovulasyon sağlanmıştır. Uzun dönem tedavide androjen seviyelerini de azaltabilmektedir. Ayrıca klomifen sitrata dirençli PKOS olgularında; % 37 oranında spontan ovulasyon sağladığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bunu ovulasyon eşiğini düşürerek yaptığı düşünülmektedir ve klomifene alternatif, hatta adjuvan ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (76,125).

2.1.11.3. İnfertilite Tedavisi

PKOS da gebelik istemi olan olgulara ovulasyon indüksiyonu yapılır ve indüksiyonda seçilecek ilk ajan klomifen sitrattır. % 80 olguda ovulasyon, % 40 olguda ise gebelik elde edilebilir (126). Klomifen direnci varsa gonadotropinlere

geçilir. Bu tedavi ile de % 90 ovulasyon, % 15-20 gebelik elde edilir. Klomifene dirençli olgular için diğer tedavi yöntemleri; kortikosteroid kullanımı veya ovaryen drilling operasyonudur ve bu yöntemlerle hiperstimulasyon ve çoğul gebelik riski de alınmamış olunur. Bu olguların in vitro fertilizasyon (IVF) sonuçları da iyidir (76,127). Ancak cerrahi tedavide klomifene dirençli ve gonadotropin tedavisi almak istemeyen seçilmiş olgularda kullanılmalıdır çünkü postoperatif adezyon gelişimi olabilir.

2.1.11.4. Menstrüel disfonksiyon Tedavisi

Karşılanmayan östrojen etkisi ile endometriyal hiperplazi ve uzun dönemde endometrium ca riski açısından; en az 3 ayda bir endometriyal dökülme sağlanması gereklidir. Bunun için progesteron ya da oral kontraseptifler kullanılabilir. Ancak bu ajanların bir süre kullanımı sonrası tedavi kesildiğinde siklusların düzelmesi beklenmemelidir ve bu durum hastaya anlatılmalıdır.

2.1.11.5. Hiperandrojenizm tedavisi

Bu amaçla farmakolojik olarak oral kontraseptifler, siproteron asetat, GnRH agonistleri, glukokortikoidler, flutamid, spironolakton ve finasterid kullanılabilir. Nonfarmakolojik olarak Tıraş, kıyasal tüy dökücüler, kremler, elektrolizis ve lazer yöntemleri kullanılabilir. Kilo kaybıda androjenlerin düzeyini azaltarak kıl büyümesini yavaşlatabilir (46,126) .

PKOS'lu kadınlarda tedavinin primer amaçlarından birisi hiperandrojeneminin klinik etkilerini düzeltmek olmalıdır çünkü en başta infertilite olmakla birlikte, en sık şikayet konusu aşırı kıl gelişimidir. Bu tedavi 3 yolla; ovaryan steroidogenezin supresyonu, hedef dokularda androjen etkisinin önlenmesi ve hiperinsülineminin azalması ile başarılabılır.

Oral kontraseptifler ovaryan androjen üretiminin supresyonuna ilave olarak SHBG'yi artırır ve testosteronun metabolik klirensini kolaylaştırır. Östrojen–progesterin kombinasyonu içeren oral kontraseptiflerin kullanımının hirsutizm tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak hastaların cevabı tedavi basındaki kıl artışının şiddetine bağlı olarak değişir. Bu tedavi aynı zamanda düzenli siklik çekilme kanaması yapar ve yeterli progesteron sağlayarak aşırı endometrial

proliferasyon ve hiperplaziye önler. Hirsutizm tedavisindeki sonuçlar en erken 6 ay sonunda ortaya çıkar ve tatminkar sonuçlar için farmakolojik ajanlarla mekanik-kozmetik yöntemler bir arada kullanılmalıdır. Oral kontraseptif tedavi ile önceden oluşmuş mevcut kıllar kaybolmamakta ancak yeni kıl follikülü oluşumu engellenebilmektedir (128).

Spironolakton; etkisini Dihidrotestosteron (DHT) 'nın kıl folliküllerindeki reseptörlere bağlanmasını yarışmalı olarak inhibe ederek veya 5-alfa redüktaz aktivitesini azaltarak gerçekleştiren bir aldosteron antagonistidir. Ayrıca spironolakton sitokrom p450'yi etkileyerek steroid enzim etkisini, sonuçta androjen üretimini inhibe eder. Spironolaktonun etkinliği doz bağımlı olup günde 200 mg ile daha iyi sonuçlar alınır. Bir süre sonra idame dozu olan 25-50 mg a geçilir. Hastalara maksimal etkinin tedavinin 6. ayında görüleceği söylenmelidir. Geçmişte hafif hipertansiyon tedavisinde kullanılan spironolaktonun hafif diüretik etkisi olabilir. Bu tedavi aldosteron etkisine engel olduğu için serum potasyum seviyesi artabilir, bu nedenle takip edilmelidir (116).

Finasterid 5- α redüktazı inhibe eder ve testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü engeller.

Flutamid nonsteroid yapıda bir antiandrojendir. Günde 3 defa 250 mg dozda verilebilir. Günlük 250-500 mg'lık dozlarda hirsutizm için etkili bir tedavi sağlar.

Siproteron asetat; reseptör düzeyinde testosteron ve DHEA-S için kompetitif inhibitör olan kuvvetli bir progestin ve androjen reseptör blokörüdür. Hem LH supresyonu sağlayarak gonadotropin sekresyonunu inhibe eder hem de androjen reseptörlerine bağlanarak androjen etkisini bloke eder. Hirsutizmde belirgin düzelme tedavinin üçüncü ayında görülür. Ülkemizde kullanımı yaygındır. Gebelikte kullanımı kontrendikedir.

GnRH agonistleri hipofiz supresyonu ile hirsutizmin gerilemesini sağlar ancak komplike ve pahalı bir tedavidir.

2.1.11.6. Uzun dönem sağlık risklerine yönelik tedavi

PKOS hastalarında artmış glukoz intoleransı ve Tip 2 DM riskine yönelik olarak tanı aşamasında OGTT uygulanmalı ve glukoz homeostazı değerlendirilmelidir. Bozulmuş glukoz toleransı ve Tip 2 DM ilerleme hızı da artmış

olduğundan normal glukoz toleransı durumunda OGTT her yıl tekrarlanmalıdır (128). Böylelikle yüksek riskli bireylerde yaşam tarzı değişikliği ve metformin gibi erken tedavi seçenekleriyle Tip 2 DM'a progresyon geciktirilebilir ya da önlenir. Gerek Tip 2 DM gerekse kardiyovasküler hastalık gibi uzun dönem sağlık riskleri yönünden kilo kontrolünün önemi hastaya vurgulanmalıdır. Diyet ve egzersiz uygulamaları ile sağlanan çok düşük düzeydeki kilo kayıplarının bile metabolik, endokrin ve reproduktif parametreler üzerinde olumlu etkileri gözlenmiştir (129). Diyetin yararlı etkileri kompozisyon değişikliğinden ziyade kalori kısıtlamasına bağlıdır (46).

Ayrıca, düzenli fiziksel aktivite kilo kaybı sağlanamadığında dahi insülin direncinde düzelmeye neden olabilmektedir. PKOS'de uzun dönem sağlık risklerinin önlenmesine yönelik stratejilerin belirlenebilmesi yönünden yaşam tarzı değişiklikleri ve farmakolojik tedavi seçeneklerini değerlendiren geniş ölçekli ve uzun süreli klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2. Endotel ve NO

2.2.1. Endotel

2.2.1.1. Endotel fonksiyonları

Endotel fizyolojik ve patolojik uyarılara karşı, kardiyovasküler fonksiyonları düzenlemede önemli bir role sahiptir. Klinik olarak hastalık belirtileri ortaya çıkmadan önce endotel fonksiyonları bozulmaktadır. Bu nedenle, endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi önem kazanmaktadır.

Endotel fonksiyonları temel olarak şunlardan oluşur :

- 1.Damar tonusunun regülasyonu:
- 2.Dolaşan hücre fonksiyonunun regülasyonu
3. Koagülasyon ve fibrinolizisin düzenlenmesi

2.2.1.1.1.Damar tonusunun regülasyonu:

Arteriyel sistemin görevi, dokulara yeterli perfüzyonu sağlamak ve her kalp atımı sırasında kan basıncında ve akımında oluşabilecek değişiklikleri dengelemektir. Dokularda kapiller damarlar düzeyinde kan akımı arteriol ve postkapiller venül tonusundaki değişimlerle sabit tutulur. Akımın bu şekilde düzenlenmesi vasküler

yatağın rezistansının değiştirilebilmesine bağlıdır. Endotel lokal olarak etki eden ve böylece vasküler tonusun ayarlanmasını sağlayan NO, prostasiklin, anjiyotensin II, endotelin ve endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör gibi birçok mediyatör üretebilir ve bu mediyatörlere tepki verebilir (130). Normalde bazıları vazodilatatör bazıları vazokonstriktör etkiye sahip bu mediyatörler doku perfüzyon ihtiyacına göre salınarak vasküler tonusu ve yeterli doku perfüzyonunu sağlarlar.

2.2.1.1.2. Dolaşan hücre fonksiyonunun regülasyonu

Endotel kanda dolaşan hücreler ile onu çevreleyen dokular arasında bir sınır teşkil eder. Aynı zamanda lokal aktif moleküller sentez ederek veya dolaşan hücrelere uygun yüzey reseptörleri üreterek dolaşan hücrelerin fonksiyonlarını da kontrol eder. Sağlıklı bir arterde lökositler, eritrositler ve trombositler endotele yapışmaz veya dokulara göç etmez. Normal fonksiyone bir endotel doku hasarının olduğu bölgelere olan inflamatuvar hücre göçünü de düzenler. Fakat bu mekanizmanın bozulmuş, yanlış işleyen durumları aterosklerozun erken lezyonlarından da sorumlu olabilir (131,132)

Hücre adezyonu hücre adezyon molekül ailesi arasındaki ilişkilere bağlıdır.

NO'nın de in vitro olarak endotel hücre yüzeyindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (133).

Adezyon molekülleri endotel hücreleri tarafından dolaşıma salınır ve endotelial hücre hasarı ile giden durumlarda bu moleküllerin kandaki miktarı artar ve bu hastalıkların prognozu ile de ilişkilidir. Giderek artan epidemiyolojik bilgilerle adezyon molekülleri ve bunların ekspresyonunu indükleyen sitokinlerin sağlıklı insanların dolaşımında artmış olarak saptanmasının kardiyovasküler riski öngörmek için kullanılabileceği düşüncesi oluşmuştur (134).

Hücre adezyonunun endotel tarafından düzenlenmesi gibi, dolaşan hücreler de salgıladıkları mediyatörlerle endotel fonksiyonlarını düzenleyebilirler. Sağlıklı endotelde NO ve prostasiklin trombosit aktivasyonunu inhibe edebilir ve bu özellik endotelin NO üretiminin azaldığı ateroskleroz gibi durumlarda klinik önem kazanır (134).

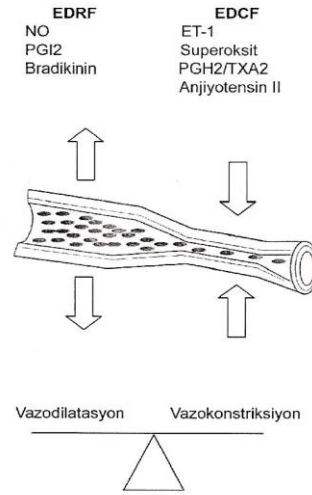
2.2.1.1.3. Koagülasyon ve fibrinolizisin düzenlenmesi

Trombüs oluşumu dolaşan kandaki trombotik ve fibrinolitik faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. Aterosklerotik durumun ilerlemesinde trombozun merkezi bir rolü vardır ve akut arteriyal tıkanmaya yol açarak akut koroner sendromların oluşumuna neden olur. Trombus oluşumu çok basamaklı bir olaydır. İlk olarak oluşan trombosit agregasyonu daha sonra trombin ve fibrin oluşumu ile sonuçlanan bir dizi olayı başlatır. Bu olaylar sırasında endotel tabakasının birçok yerde düzenleyici rolü bulunmaktadır.

Fibrinolitik sistem fibrini parçalar ve pıhtı oluşumunu azaltır. Doku tipi plazminojen aktivatörü/tPA ve PAI-1 arasındaki denge kanın fibrinolitik aktivitesini belirler. Normal koşullarda endotel hücresinin PAI-1 üretimi kısıtlıdır. Son dönemde yapılan çalışmalarda NO ve bradikininlerin de lokal koagülasyon ve fibrinolitik sistem üzerine düzenleyici etkilerinin olduğunu göstermiştir (134).

2.2.1.2. Endotel Disfonksiyonu

Endotel tabakasının normal işlev görmesi endotel kaynaklı gevşetici (EDRF) ve endotel kaynaklı konstriktör (EDCF) maddeler arasındaki dengeye bağlıdır (Şekil 2.3). Bu denge bozulduğunda endotel disfonksiyonundan bahsedilir (84). Endotel disfonksiyonu terimi genellikle endotel bağımlı vazodilatasyondaki bozulmayı tanımlamak için kullanılır. Genel olarak endotel disfonksiyonu üzerine yapılan çalışmalar ateroskleroza konu edinse de, endotel disfonksiyonunu sadece aterosklerozun bir erken belirteci olarak düşünmek doğru olmaz. Sağlıklı endotel kardiyovasküler kontrolde merkezi bir roledir.



Şekil 2.3 Endotel kaynaklı gevşetici (EDRF) ve endotel kaynaklı konstriktör (EDCF) maddeler arasındaki denge

Vasküler biyologlar arasındaki konsensus endotel fonksiyon bozukluğunun, aterosklerozun başlangıç lezyonu olduğu yönündedir (136). Ayrıca koroner arter hastalığının manifestasyonlarında da önemli rol oynar. İlk olarak 1986 da ilerlemiş aterosklerozu olan hastaların koroner arterlerinde endotel disfonksiyonunun varlığı gösterilmiştir (137). Sağlıklı endotelde endotele bağımlı NO salınımı sayesinde asetilkoline yanıt vasodilatasyondur. Endotel fonksiyon bozukluğunda karşılıksız kalan muskarinik düz kas aktivasyonu vazokonstriksiyona yol açar. Ateroskleroz ayrıca asetilkolinle indüklenen koroner kan akım artışını da bozar. Ateroskleroz varlığında oluşan bu disfonksiyonunun bir nedeni de bozulmuş NOS aktivitesi olarak öne sürülmüştür (138). Daha sonra hiperkolesterolemi ve sigara içiciliği gibi ateroskleroz için risk faktörlerine sahip semptomsuz gençlerde ve çocuklarda da endotel disfonksiyonu gösterilmiştir (139). Anormal endotel fizyolojisi hem aterosklerozun erken dönemi ve oluşumunda, hem de geç dönemde dinamik plak kontrolünde rol oynamaktadır. Endotel bağımlı dilatasyonda bozulmaya neden olan durumlar Tablo 2.4’te gösterilmiştir (134).

Tablo 2.5 Endotel bağımlı vazodilatasyonda bozulmaya yol açan durumlar

Ateroskleroz	Tip I ve Tip II diyabet
Hiperkolesterolemi	Hiperglisemi
Düşük HDL kolesterol	Akut postprandiyal hiperglisemi
Yüksek Lp(a)	Aktif-pasif sigara içiciliği
Küçük yoğun LDL	Dilate kardiyomyopati
Hipertansiyon	Chagas hastalığı
Hiperhomosisteinemi	Yaşlanma
Post menapozal kadınlar	Metiyonin yüklemesi
Vaskülitler	Kawasaki hastalığı
Sendrom X	Preeklampsi
Variant angina	Pulmoner hipertansiyon
İnsulin rezistansı	
Koroner arter hastalığı için aile öyküsü	
Transplantasyon ateroskleroza	
Gebeliğin indüklediği hipertansiyon	

2.2.2. NO

Vasküler tonus nöral ve humoral birçok faktör tarafından düzenlenir. Bu faktörler arasında yer alan Endothelium-derived relaxing factor (EDRF) ‘nin varlığı ilk defa 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki tarafından (140) tavşan aortasında asetilkoline bağlı gevşeme ile gösterilmiştir. Daha sonra Palmer ve ark (141) EDRF’nin kimyasal yapısının NO olduğunu ortaya koymuşlardır. İnsan ve hayvanlarında NO üretebildiklerinin ortaya konması ile 1987 yılına kadar insan bedeninde bulunuş nedeni ve metabolizması hakkında çok az şey bilinen NO ‘in fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmış ve 1992’de yılın molekülü seçilmiştir (142,143).

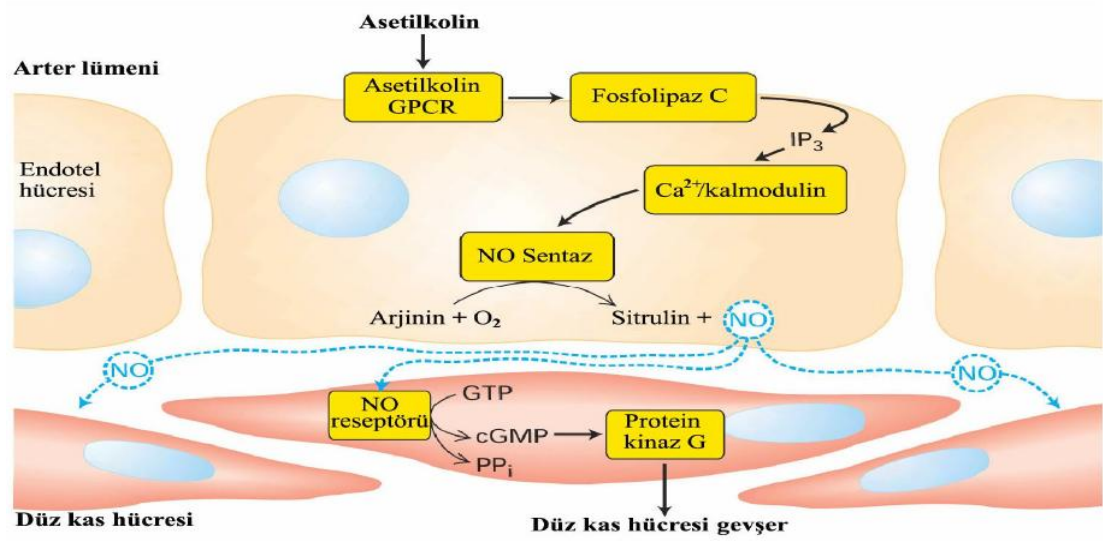
NO, kimyasal olarak stabil olmayan bir serbest radikaldir. Lokal vasküler denge için esansiyel olup, 5-10 saniye arasında değişen yarı ömrü nedeniyle hücre dışı alanda sadece lokal bir etkiye sahiptir. NO, tüm nitrovazodilatatörlerin aktif komponentidir (144).

2.2.2.1.NO Görevleri

NO, kardiyovasküler sistemde çok çeşitli düzenleyici mekanizmalara katılır. Bunlardan bir tanesinde vasküler tonusun düzenlenmesidir. Endotel bağımlı vazodilatasyonun en önemli aracısı konumundadır. NO aynı zamanda, vasküler düz kas proliferasyonunun inhibisyonu ile vasküler yapıyı düzenler. Trombosit adezyonu ve agregasyonunun inhibisyonu, monosit adezyonunun inhibisyonu ile vasküler sistemde hücre-hücre etkileşiminde düzenleyici role sahiptir. Bu nedenlerle NO vasküler homeostazisin endotel bağımlı düzenlenmesinde hayati rol oynar (145). Endotelyal L-arjinin / NO yolağının fonksiyon bozukluğu; hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara, DM, homosistein ve vasküler inflamasyon gibi birçok kardiyovasküler risk faktörünün aracılığında vasküler sistem üzerinde zararlı etkiler oluşturur (146).

2.2.2.2. NO Etki Mekanizması

Nitrik oksid sentezinde etkili olan başlıca uyaranlar; kan akımının damar üzerinde oluşturdugu basınç, asetilkolin ve bradikininidir (147, 148). Asetilkolin, endotel hücre yüzeyinde bulunan G proteine bağlı reseptöre bağlanır. G proteininde oluşan konformasyonel değişiklikle fosfolipaz-C aktive olur. Aktifleşen fosfolipaz-C, fosfatidil inositol bifosfat' ı (PIP₂) fosfatidil inositol 1,4,5- trifosfat (IP₃) ve 1,2-diaçil gliserol' e (DAG) dönüştürür. Sitoplazmada IP₃ seviyesinin artışı endoplazmik retikulumda (ER) depolanan Ca⁺²' un sitoplazmaya geçisini tetikler. Sitozolda oluşan Ca⁺²/ kalmodulin kompleksinin NOS enzimini aktive etmesi sonucu L-Arginin ve O₂' den, sitrulin ve NO sentezlenir (Sekil 5) (147). Endotel hücresinden salınan NO, düz kas hücrelerine difüzyon ile geçer. Kas hücresi içerisinde artan NO konsantrasyonu, döngüsel Guanozin monofosfat (cGMP) artısını tetikleyerek protein kinaz G' yi aktive eder. Hücre içi Ca²⁺ seviyesi azalır ve kas hücresi gevşer (147). Nitrik oksid sentazı inhibe eden çeşitli arginin türevlerinin deney hayvanlarına verildiğinde gözlenen kan basıncındaki ani yükselme, NO' nun fizyolojik rolünü desteklemektedir. Normal kan basıncının korunması için NO' nun tonik salınımı gerekmektedir.



Şekil 2.4 Nitrik Oksit etki mekanizması

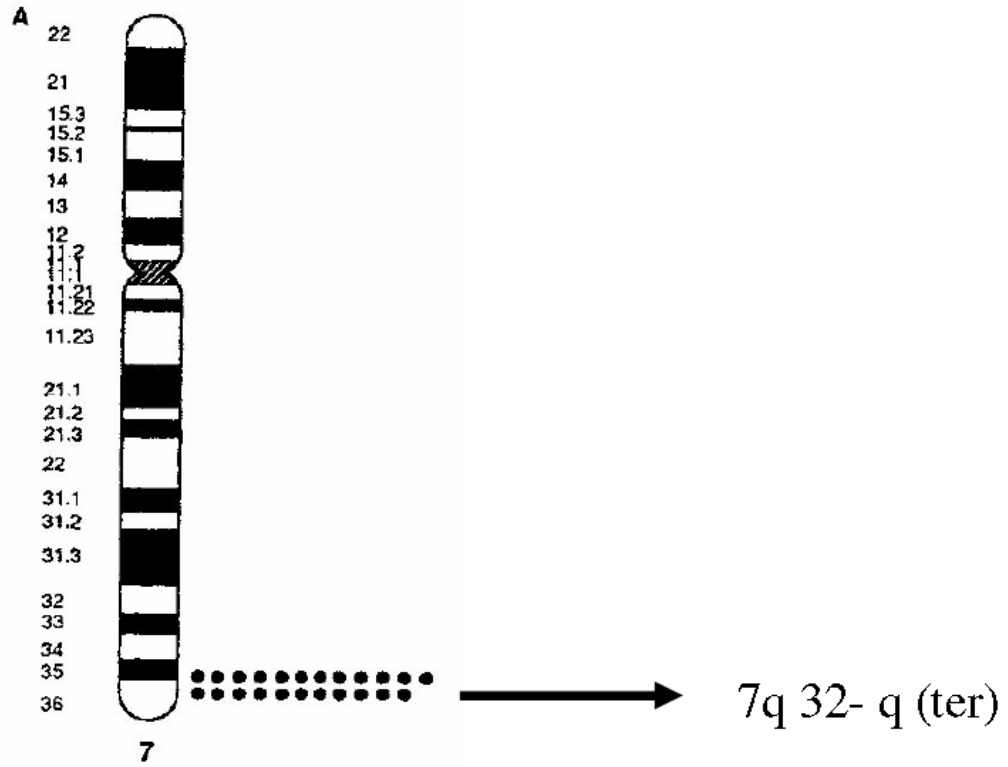
2.2.2.3. Nitrik Oksid Sentaz (NOS) ve Görevleri

NO, Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L- arginiden sentezlenir. NOS'un nöronal (nNOS veya NOS 1), sitokinle-indüklenen (iNOS veya NOS 2) ve endotelial (eNOS veya NOS 3) olmak üzere üç ayrı izotipi tanımlanmıştır (149). Bunlardan nNOS ve eNOS izotipleri hücrede yapısal olarak aktif halde iken, iNOS düzeyi ve aktivitesindeki artış ortamda sitokinlerin bulunmasına bağlıdır. eNOS hem in vivo hem de in vitro şartlarda sürekli sentez edilen tek NOS izoformudur (5).

Nitrik oksid sentazın endotelial ve nöronal izoformları Ca^{2+} /kalmodulin mekanizmasına bağımlı bir şekilde bazal NO seviyesini az miktarda yükseltir. NOS enziminin her üç izoformunda kalpte mevcuttur.

2.2.2.4. E-NOS geni

Endotelial nitrik oksit sentaz geni 7 q 32-7 q terminal (ter) bölgesinde yer alır (Şekil 4). eNOS geninin kodladığı Messenger RNA (mRNA) 4052 nükleotid içerir ve haploid genomda tek kopya olarak bulunur (150). eNOS geni 1203 amino asitten oluşan eNOS enziminin transkripsiyonundan ve sentezinden sorumludur. Yirmi altı ekson içeren eNOS geni 21 kilobazlık genomik DNA' dan oluşur (5).



Şekil 2.5 e-NOS Geninin Yerleşimi

2.2.2.5. İnsanda eNOS Gen Polimorfizmleri

Aynı tür organizmalar genellikle birbirinden farklı fenotip gösterirler. Bu farklılıklar genetik olarak belirlenmiştir ve polimorfizm olarak isimlendirilir. Bir çok gen lokusunda iki allel yer alır. Mutasyonların fenotipe farklı yansımalarının nedeni çoklu allel varlığındandır. Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, farklı allellere bağlı, genetik olarak belirlenmiş iki ya da daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Çoklu allel içeren bir bölge polimorfiktir (151,152).

İnsanlarda eNOS geninin 3 değişik polimorfizm varyasyonu bulunmuştur. İntron 18'de; Ala27Cys ve intron 23'de; Glu10Thr, tek nükleotid değişimi olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında intron 4, 12 ve 23'de değişken tekrarları vardır. Bunların sonucunda normal fonksiyonel bir enzim oluşsa da polimorfizmler transkripsiyon ve işlev hızlarında değişime sebep olabilmektedir. İntron 13'de polimorfizmi olan bireylerde artmış koroner arter hastalığı riski olduğu, intron 4'de polimorfizmi olan bireylerde ise artmış diyabetik nefropati riski olduğu saptanmıştır (16,17).

Promotor bölgede 3 tek nükleotid değişimi saptanmıştır; T786C, A922G ve T1468A. Bu polimorfizmlerin, transkripsiyonu ve dolayısıyla enzim seviyelerini değiştirebildiği gösterilmiştir. Bulunan son polimorfizm ise ekson 7'nin açık okuma bölümünde, Glu298Asp değişimi olarak saptanmıştır.

2.2.2.5.1. e-NOS -786 T/C polimorfizmi

e-NOS geninin 786. bölgesindeki Timin nükleotidi yerine Sitozin nükleotidinin geçmesi ile oluşur. Yapılan çalışmalarda bu polimorfizmin MI (13), koroner arter spazmı (12), çocuk ve adölesanlarda metabolik sendrom (24), esansiyel HT (15), preeklampsi (31), insülin rezistansı (20), DM (153), reproduktif fonksiyonlar (28,29) ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

2.3. NO ve PKOS

Klinik çalışmalar; NO yapım azlığı yada yıkım fazlalığı sonucu oluşan endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasının, periferik ve koroner endotel fonksiyon bozukluğu ile yakından ilişkili olduğuna işaret etmektedir (154). Endotel hücresindeki NO sentezinin, endotel hücre adhezyon moleküllerinin ve kemokinlerin sentezini azalttığı, trombosit aktivasyon ve agregasyonunu engellediği, bu şekilde önemli antiinflamatuvar ve antitrombotik etki gösterdiği belirlenmiştir (155). Yapılan birçok çalışmada da PKOS'lu kadınlarda endotel fonksiyonlarının bozulmuş olduğu gösterilmiştir (156-158).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kontrol ve Çalışma grubu

Kontrol grubu, 15-49 yaş aralığında, herhangi bir sağlık problemi olmayan, sağlıklı PKOS tanı kriterlerine uymayan 93 bireyden oluşturuldu.

Çalışma grubu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran klinik olarak PKOS tanısı konulmuş 108 hastadan oluşturuldu.

PKOS tanı kriteri olarak 2003 Rotterdam kriterleri kullanıldı. Bu tanı kriterleri:

1. Oligomenore-amenore
2. Hiperandrojenizmin klinik ve / veya biyokimyasal belirteçleri
3. USG’de polikistik over görünümü ile diğer sebeplerin dışlanması (en az bir overde 2-9 mm ‘lik 12 adet follikül varlığı veya en az 10 cm³ ‘lük over hacmi esas alınmıştır.)

PKOS tanısı için bu kriterlerden ikisinin varlığı gereklidir.

Tüm olguların ayrıntılı anamnezlerinin alınmasını takiben istirahat halinde tansiyon arteryel (TA) değerleri ölçüldü. Boy ve kiloları ölçülerek BMI vücut ağırlığı (kg) / boy² (m²) formülüne göre hesaplandı. Bel ölçüsü olarak göğüs kafesi ile krista iliakalar arasındaki en küçük çevre ölçülürken, kalça ölçüsü olarak bel ve uyluklar arasındaki en geniş çevre ölçüldü. WHR hesaplandı. Klinik hirsutizmin tanı ve derecelendirmesi için F/G kullanıldı. Bu sisteme göre 9 anatomik bölge . (üst dudak, çene, göğüs, üst karın, alt karın, kol içi, uyluk, sırt ve bel) değerlendirilerek; her bölge için 0 (terminal kıl gelişimi yok) ile 4 (maksimum kıl gelişimi) arasında puan verildi. Sekizin altındaki skorlar normal kabul edilirken, 8-36 arasındaki skorlar patolojik olarak değerlendirilerek, hirsutizmin derecesiyle doğru orantılı kabul edildi. PKOS’lu hastalarla kontrol grubunun demografik, antropometrik ölçümleri ve labarotuar değerleri karşılaştırıldı.

Overler pelvik veya transvajinal USG ile değerlendirilmiş olup görünümüne göre normal veya 2-9 mmlik ≥ 12 adet folikül görüntüsü olanlar polikistik over olarak gruplandırıldılar.

Tüm hasta ve kontrol grubundaki olgulardan bir gecelik açlığı takiben sabah saat 08.00- 09.00 arsında istirahat halinde biyokimyasal tectikler için venöz kan

örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde rutin biyokimyasal parametreler bakıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm olgularda açlık kan şekeri (AKŞ) , açlık insülini, total kolesterol, trigliserid, LDL- kolesterol, HDL- kolesterol, VLDL- kolesterol, beyaz kan hücre sayısı (WBC), hemoglobin (Hb), hemotokrit (Hct) değerleri ve spontan veya progesteronla indüklenmiş menstrüasyonun ilk 5 günü içerisinde FSH, LH, E2, progesteron, Total testesteron, PRL, DHEA-S ve serbest T3 (sT3), serbest T4 (sT4), sTSH düzeylerine bakıldı.

Çalışmaya katılan her birey ‘Gönüllü Olur Formu’ nu okuyup imzalayarak çalışmaya katılmayı kabul etti. Ayrıca her olgudan EDTA’lı tüplere 3 ml kan örneği alındı.

3.2. Polimorfizm Analizi Aşamaları ve Kullanılan Kimyasallar

3.2.1. DNA İzolasyonu için kullanılan kimyasallar

1. Bağlanma çözeltisi (Binding Buffer)
2. Proteinaz K
3. İnhibitör Uzaklaştırıcı Çözelti (İnhibitör Removal Buffer)
4. Yıkama Çözeltisi (Wash Buffer)
5. Elüsyon Çözeltisi (Elution Buffer)
6. Filtre Tüpleri
7. Toplama (Collection) Tüpleri

3.2.2. RT-PCR Hibridizasyon Problemleri ve Kit içeriği

e-NOS gen polimorfizmini RT-PCR ile saptamak için ilgili gen bölgesine spesifik hibridizasyon problemleri kullanıldı.

1. Prob
2. MgCl₂ (25 mM)
3. H₂O: saf su
4. Reaksiyon karışımı

3.2.3. RT- PCR karışımında bulunan bileşenler;

1. Genomik DNA
2. Bir çift primer

3. DNA zincirinin uzama reaksiyonunu gerçekleştiren ısıya dayanıklı polimeraz enzimi (Taq Pol. enzimi)
4. Enzimin çalışması için gerekli kofaktör olarak görev yapan Mg iyonunu sağlayan MgCl₂
5. Yapılan amplifikasyona göre değişik miktarlarda hazırlanan dNTP karışımı
6. Deiyonize veya steril su

3.3. DNA izolasyonu ve e-NOS gen polimorfizmi RT-PCR Çalışma Protokolü

3.3.1 Kandan DNA İzolasyonu Aşaması

Protokol aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

1. EDTA'lı tüplere alınan kandan 200 µl alınıp, üzerine 200 µl bağlanma çözeltisi ve 40 µl proteinaz K ilave edildi, pipetaj ile homojenizasyon sağlandı.
2. Tüpler önceden 72 °C 'ye ayarlanarak kuru ısı bloğunda 10 dk inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonunda, karışım üzerine 100 µl izopropanol eklendi ve pipetaj ile homojonize edildi.
4. 1.5 ml'lik pastik tüp içerisinde bulunan örneğin tamamı, toplama tüpü içine yerleştirilmiş filtreli tüpün içine pipetlendi.
5. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası filtreli kısım yeni toplama tüpüne aktarıldı.
7. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı çözelti eklendi.
8. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
9. Santrifüj sonrasında filtreli kısım yeni toplama tüpüne aktarıldı.
10. 500 µl yıkama çözeltisi eklenerek, 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
11. Filtreli tüpler yeni toplama tüplerine aktarıldı ve üzerine ikinci kez 500µl yıkama çözeltisi eklendi.
12. 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
13. Santrifüj bittikten sonra, tüplerin üst kısmında biriken üstnatant uzaklaştırıldı ve kalan miktar tekrar 17000rpm'de 15 saniye santrifüj edildi.

14. Filtreli tüpler temiz birer pastik tüpün içine yerleştirildi ve 72 °C'ye ayarlanmış kuru ısı bloğunda ısıtılmış olan elüsyon çözeltisinden 200 µl ilave edilerek 2-3 dk oda ısısında bekletildi ve sonrasında 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
15. Santrifüj sonrası filtreli kısım atıldı. 1.5 ml'lik tüpte kalan çözelti genomik DNA'yı içermektedir.
16. DNA konsantrasyonu spektrofotometre ve / veya konsantrasyon jeli ile tespit edildi. Gerekirse çalışmaya uygun olan 50 pm/ µl konsantrasyona ayarlandı.

3.3.2 Real Time PCR ve e-NOS sentaz genindeki -786 T/C polimorfizminin çalışılması

3.3.2.1 Real Time PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu, herhangi bir oranizmaya ait genomik DNA'da, dizisi bilinen belirli bir bölgenin çoğaltılmasına (amplifikasyon) imkan veren invitro DNA sentez yöntemidir.

Genel olarak PCR, 3 ana basamaktan oluşur;

1. Denatürasyon
2. Bağlanma
3. Uzama

Genel olarak RT-PCR 'da hedef bölgeye özgül uygun primer çiftinin (forward ve reverse primer) ve problemlerin doğru seçimi çok önemlidir. RT-PCR denatürasyon, bağlanma ve uzama adımlarının tekrarlarına dayanan 20-40 döngü sonrasında tamamlanır ve sonunda hedef DNA'nın milyon kopyası oluşturulur.

3.3.2.2. e-NOS sentaz genindeki -786 T/C polimorfizminin çalışılması

Araştırmadaki amacımıza uygun olarak seçilen çalışma ve kontrol grublarının DNA'ları izole edildikten sonra, -786 T/C polimorfizmi için Real Time-PCR (RT-PCR --Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) gerçekleştirildi.

RT-PCR reaksiyonları için ilgili gen bölgesine uygun primer ve problemler seçildi. Reaksiyon karışımlarına gerekli dNTP, Mg²⁺ ve enzim eklenerek uygun

Çalışma protokolleri ile erime noktası (T_m) analiz edilerek mutasyonlar saptandı. Analiz sonuçlarına göre genotiplerler yapıldı.

3.3.3. RT-PCR için Termal Profil

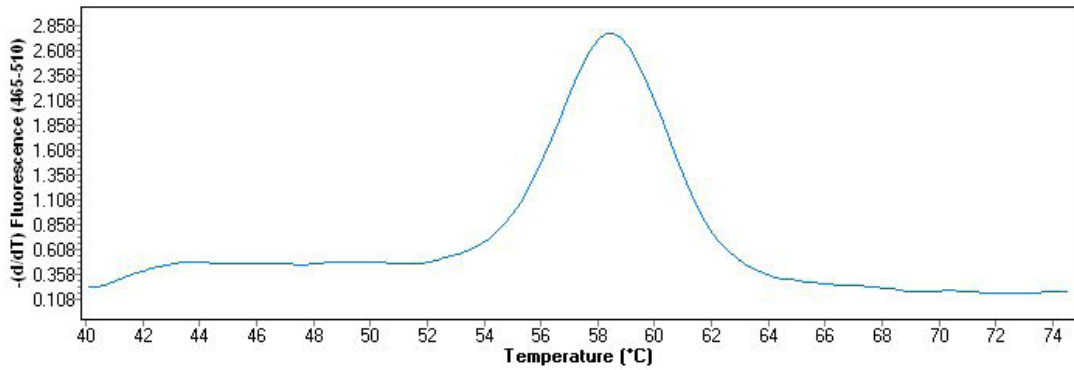
e-NOS genindeki -786 T/C mutasyonunu belirlemek için kullanılan termal profil; denatürasyon, kantifikasyon, erime eğrisi ve soğutma parametreleri olarak belirlendi ve ayarları kaydedildi.

3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

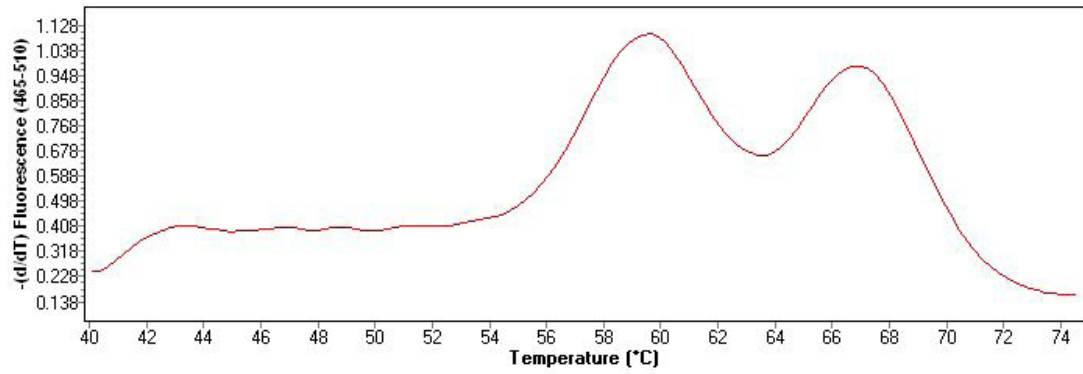
RT-PCR alışması sonunda, erime eğrisi analizinde oluşan piklerin erime derecelerine göre homozigot yabancı (wt : wild type) , homozigot mutant ve heterozigot genotipler ayırt edildi. Heterozigot genotipler iki farklı erime derecesinde iki pike sahipken, homozigot mutant ve homozigot yabancı genotipler aynı erime derecesinde tek pike sahiptirler.

-786 T/C polimorfizmi için T alleli T_m (erime) değeri 66.17 °C, C alleli için 59.09 °C'dir.

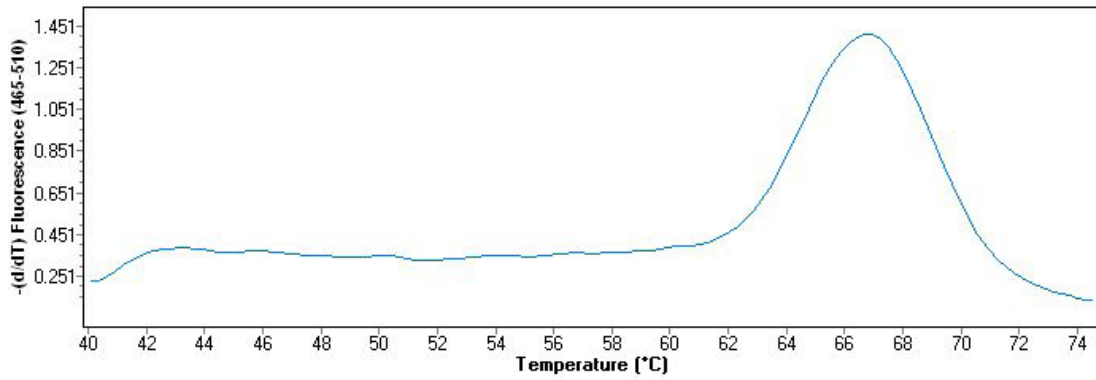
TT genotipi homozigot yabancı, CC genotipi homozigot mutant, CT genotipi heterozigot mutant genotiplerdir.



Grafik 3.1 -786 CC genotipi (homozigot mutant)



Grafik 3.2 -786 CT genotipi (heterozigot mutant)



Grafik 3.3 -786 TT genotipi (homozigot yabanıl)

3.5. İstatiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 17.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki Kare test ya da Fisher test istatistiği kullanıldı. Gruplar arasında sürekli ölçümlerin karşılaştırılmasında Parametrik test varsayımları sağlandığında Student T test, sağlanmadığında Mann Whitney U testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Laboratuvar Bulguları ve Demografik Özellikler

Hastaların genel olarak demografik özellikleri gruplara ve toplamda hasta sayısı bazında incelendi. Çalışmaya dahil olan hastaların ortalama yaşı 24.0 ± 5.1 minimum 15 maksimum 40 idi. Hastaların genel vücut kitle indeksi (BMI) ortalaması 23.3 ± 4.7 olarak bulundu. Çalışmaya dahil edilen hastaların açlık kan şekeri ve insülin düzeyleri ölçülmüştür ve AKŞ/İnsülin oranı hesaplanmıştır. Açlık kan şekeri/ insülin değerinin ortalaması 29.3 ± 16.1 olarak bulundu.

Hastaların % 41.3 ünde hirsütizm varlığı saptanılmıştır. PKOS grubundaki hastaların %69.4 ün, kontrol grubundaki hastaların ise %8.6 sında hirsütizm vardır. Gruplar arasındaki bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.0001$). PKOS grubundaki hastalarda hirsütizm sıklığı kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

Hastaların % 81.6 sı sigara kullanmamaktadır. Gruplar arasında sigara kullanımı açısından istatistik olarak bir farklılığa rastlanmamıştır ($p=0.855$).

Adet düzensizliği oranları incelendiğinde PKOS grubundaki hastaların %82.4' ü düzensiz adet görmekteyken, kontrol grubundaki hastaların %1.1 inde adet düzensizliği saptanmıştır. Gruplar arasında adet düzensizlikleri oranları istatistik anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p=0.0001$).

Hastalara yapılan USG sonucunda PKOS grubundaki hastaların %100'ü USG sonucunda da polikistik over görünümünde çıkarken, kontrol grubundaki hastaların USG sonucunda % 24.7si polikistik over görünümünde, %75.3 ü normal çıkmıştır. Gruplar arasında USG sonucu oranları istatistiki olarak anlamlı farklı bulunmuştur ($p=0.0001$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Hastaların Gruplara Göre Ve Toplamda Demografik Ve Klinik Özelliklerinin Dağılımı

	PKOS Grubu (n=108)		Kontrol Grubu (n=93)		Total		P
	N	%	N	%	N	%	
Hirşutizm							
Var	75	69,4	8	8,6	83	41,3	0,0001
Yok	33	30,6	85	91,4	118	58,7	
Sigara Kullanımı							
İçiyor	19	17,6	18	19,4	37	18,4	0,855
İçmiyor	89	82,4	75	80,6	164	81,6	
Adet Düzeni							
Düzensiz	89	82,4	1	1,1	90	44,8	0,0001
Düzenli	19	17,6	92	98,9	111	55,2	
USG							
PKO	108	100	23	24,7	131	65,2	0,0001
Normal	0	0,0	70	75,3	70	34,8	

p:Ki Kare testi

Tablo 4.2 de hastaların demografik ve fiziksel özellikleri özetlenmektedir. Gruplar arasında yaş istatistiki olarak farklı bulunmuştur. PKOS grubundaki hastaların ortalama yaşı 22.8 ± 4.7 iken, kontrol grubundaki hastaların ortalama yaşı 25.4 ± 5.2 olarak bulunmuştur ($p=0.0001$).

Hastaların boyları gruplar arasında istatistik olarak farklılık göstermezken kilo ölçümler istatistik olarak farklı bulunmuştur ($p=0.0001$). PKOS grubundaki hastaların kilo ölçümleri kontrol grubundakilere oranla daha fazladır. PKOS grubundaki hastaların ortalama BMI değerleri 23.9 ($16.2-44.9$), kontrol grubundaki hastaların ortalama BMI değeri 21.2 ($16.7-30.4$) olarak hesaplanmıştır ($p=0.007$).

Gruplar arasında bel ve kalça ölçümleri de istatistik olarak birbirlerinden farklı bulunmuşlardır. PKOS grubundaki hastaların ortalama bel çevresi ölçümü 80.4 ± 13.2 iken, kontrol grubundaki hastaların ortalama bel çevresi ölçümü 73.6 ± 9.1 olarak bulunmuştur ($p=0.0001$). PKOS grubundaki hastaların ortalama kalça çevresi

ölçümü $102.4 \pm 10,8$ iken, kontrol grubundaki hastaların ortalama kalça çevresi ölçümü 97.8 ± 6.7 olarak bulunmuştur ($p=0.0001$). Çalışma da bel çevresi / kalça çevresi (bel çevresinin kalça çevresine oranı) hesaplanmıştır. PKOS grubunun bel çevresi / kalça çevresi oranı 0.78 ± 0.1 iken, kontrol grubunun bel çevresi / kalça çevresi oranı 0.75 ± 0.1 olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasında bel çevresi / kalça çevresi oranı istatistiki olarak anlamlı derece de farklı bulunmuştur. PKOS grubun hesaplanan bel çevresi / kalça çevresi oranının kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.001$). Gruplar arasında sistolik ve diyastolik kan basıncı ölçümleri arasında istatistiki olarak farklılığa rastlanmamıştır. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2 Hastaların Gruplara Göre Demografik ve Klinik Özelliklerinin Dağılımı

	PKOS Grubu (n=108)		Kontrol Grubu (n=93)		
	Ort $\pm$ SS	Med (Min-Max)	Ort $\pm$ SS	Med (Min-Max)	P
Yaş	22,8 $\pm$ 4,7	21(15-39)	25,4 $\pm$ 5,2	24(17-40)	0,0001
Kilo	64,7 $\pm$ 13,9	62(42-114)	57,4 $\pm$ 7,2	57(40-78)	0,0001
Boy	1,6 $\pm$ 0,1	1,6(1,5-1,8)	1,6 $\pm$ 0,6	1,6(1,5-1,8)	0,331
Bel Çevresi	80,4 $\pm$ 13,2	77(61-117)	73,6 $\pm$ 9,1	72(60-110)	0,0001
Kalça Çevresi	102,4 $\pm$ 10,8	101(81-135)	97,8 $\pm$ 6,7	97(84-120)	0,0001
Bel Ç./Kalça Ç.	0,78 $\pm$ 0,1	0,77(0,6-0,9)	0,75 $\pm$ 0,1	0,74(0,6-0,9)	0,001
BMI*	24,7 $\pm$ 5,4	23,9(16,2-44,9)	21,7 $\pm$ 2,8	21,2(16,7-30,4)	0,007
SKB	118,7 $\pm$ 11,1	119(96-149)	118,2 $\pm$ 11,1	119(92-141)	0,764
DKB	77,1 $\pm$ 8,7	78(55-96)	76,4 $\pm$ 8,7	78(50-95)	0,614

p:Student'in T testi

p*:Mann Whitney U testi

Gruplar arasında AKŞ ve insülin ölçümleri de istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Buna bağlı olarak hesaplanan AKŞ/İnsülin oranları da gruplara göre istatistiki farklılık göstermektedir. PKOS grubundaki hastaların ortalama AKŞ 89.7 ± 9.5 iken, kontrol grubundaki hastaların ortalama AKŞ 86.6 ± 7.8 olarak bulunmuştur ($p=0.015$). PKOS grubundaki hastaların ortalama insülin değeri 4,1 (2,0-54,4), kontrol grubundaki hastaların ortalama insülin değeri 2,0 (1,0-27,5) olarak saptanmıştır ($p=0.0001$). PKOS grubundaki hastaların ortalama AKŞ/insülin değeri 22,2 (2,7-49,0), kontrol grubundaki hastaların ortalama AKŞ/insülin değeri 41 (3,3-90,0) olarak saptanmıştır ($p=0.002$). (Tablo 4.3)

Tablo4.3 Hastaların Gruplara Göre AKŞ, İnsülin ve AKŞ/İnsülin Oranı Dağılımı

	PKOS Grubu (n=108)		Kontrol Grubu (n=93)		
	Ort $\pm$ SS	Med (Min-Max)	Ort $\pm$ SS	Med (Min-Max)	P
AKŞ	$89,7 \pm 9,5$	89(68-149)	$86,6 \pm 7,8$	86(59-106)	0,015
İnsülin*	$6,8 \pm 7,6$	4,1(2,0-54,4)	$4,1 \pm 4,4$	2(1,0-27,5)	0,0001
AKŞ/İnsülin	$25,6 \pm 15,8$	22,2(2,7-49,0)	$33,6 \pm 15,3$	41(3,3-90,0)	0,002

p:Student'in T testi

p*:Mann Whitney U testi

Genel olarak hastaların demografik ve klinik özellikleri göz önünde bulundurulduğunda PKOS grubundaki hastalarının yaşları kontrol grubuna oranla daha büyük; BMI, bel ve kalça çevreleri, AKŞ/insülin oranları kontrol grubuna oranla daha yüksek oldukları saptanmıştır.

Çalışmaya dahil olan hastaların genel olarak laboratuvar sonuçları incelendi. PKOS ve kontrol gruplarına göre üre, kreatinin, kolesterol düzeyleri, HDL, LDL, ST3, ST4, TSH, LH, E2, P, PRL sonuçları istatistiki olarak farklı bulunmamıştır.

PKOS grubundaki hastaların ortalama Trigliserit değeri 83 (38-268), kontrol grubunun ise ortalama Trigliserit değeri 71 (28-145) olarak bulunmuştur ($p=0.001$).

PKOS grubundaki hastaların trigliserit düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistik anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Hastaların FSH düzeyleri kontrol edildiğinde, PKOS grubunun ortalama FSH düzeyi 5.3 (0.5-15.3), kontrol grubunun ortalama FSH düzeyi 6.5 (0.8-19.9) olduğu saptanmıştır ($p=0.0001$). PKOS grubundaki hastaların FSH düzeyleri kontrol grubuna oranla istatistiki anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur. Gruplara göre LH/FSH oranları hesaplandı, PKOS grubundaki hastaların LH/FSH medyan değeri 1.2 (0.1-5,3) iken, kontrol grubunun LH/FSH medyan değeri 0.8 (0.2-2.9) olarak hesaplandı ($p=0.0001$). PKOS grubunun LH/FSH oranı, kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmaya katılan hastaların DHEA-S düzeyleri incelenmiştir. PKOS grubundaki hastaların ortalama DHEA-S düzeylerinin kontrol grubuna oranla istatistiki anlamlı olarak daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. PKOS grubundakilerin ortalama DHEA-S düzeyi 222(49-541) iken, kontrol grubundakilerin ortalama DHEA-S düzeyi 184(50-464) dir ($p=0.004$).

Çalışmaya katılan hastaların testesteron düzeyleri incelenmiştir. PKOS grubundaki hastaların ortalama testesteron düzeylerinin kontrol grubuna oranla istatistik anlamlı olarak daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. PKOS grubundakilerin ortalama testesteron düzeyi 32,1 (14-164) iken, kontrol grubundakilerin ortalama testesteron düzeyi 20 (5,9-92,1) dir ($p=0.0001$).

Tablo 4.4 Gruplara Göre Laboratuvar Parametrelerinin Dağılımı

	PKOS Grubu (n=108)		Kontrol Grubu (n=93)		
	Ort±SS	Med (Min-Max)	Ort±SS	Med (Min-Max)	p
Üre*	21,0±5,6	20(8-36)	20,5±6,6	19(9-49)	0,237
Kreatinin*	0,7±0,1	0,6(0,0-1,0)	0,7±0,1	0,6(0,5-0,8)	0,674
Kolesterol	167,4±34,3	164(101-318)	164,0±25,4	158(106-241)	0,423
Trigliserit*	94,2±45,1	83(38-268)	72,3±23,0	71(28-145)	0,001
HDL	50,0±11,9	48,4(24,5-88,6)	52,1±9,4	52,1(27,2-75,6)	0,186
LDL	97,9±27,6	94,0(48,8-196,8)	97,4±21,3	93,9(57,8-168,9)	0,900
VLDL*	18,8±9,1	16,4(7,6-53,6)	14,7±5,0	14,2(5,6-34,0)	0,001
St3*	3,9±0,7	3,8(2,5-5,98)	3,7±0,6	3,7(2,6-5,4)	0,167
St4*	1,1±0,1	1,1(0,7-1,5)	1,1±0,1	1,1(0,8-1,6)	0,826
TSH*	1,8±1,1	1,5(0,5-5,9)	1,8±0,9	1,8(0,5-4,6)	0,447
FSH*	5,5±2,1	5,3(0,5-15,3)	6,8±2,5	6,5(0,8-19,9)	0,0001
LH*	7,1±4,8	6,3(0,1-26,1)	5,7±3,0	5,1(0,8-18,9)	0,064
LH/FSH	1,4±0,9	1,2(0,1-5,3)	0,9±0,5	0,8(0,2-2,9)	0,0001
E2*	53,7±37,7	42,4(20-227)	44,7±22,4	37,4(12,2-148,0)	0,068
P*	0,4±0,4	0,3(0,2-3,7)	0,4±0,2	0,3(0,2-0,9)	0,606
PRL*	14,3±7,6	12,9(0,7-38,3)	15,6±7,7	14,1(3,42-40,5)	0,269
DHEA-S*	229,6±94,8	222(49-541)	193,5±84,8	184(50-464)	0,004
Testesteron*	36,9±27,2	32,1(14-164)	26,1±12,0	20(5,9-92,1)	0,0001

p:Student'in T testi

p*:Mann Whitney U testi

4.2. e-NOS -786 T/C polimorfizmi Genotip ve Allel Dağılımı

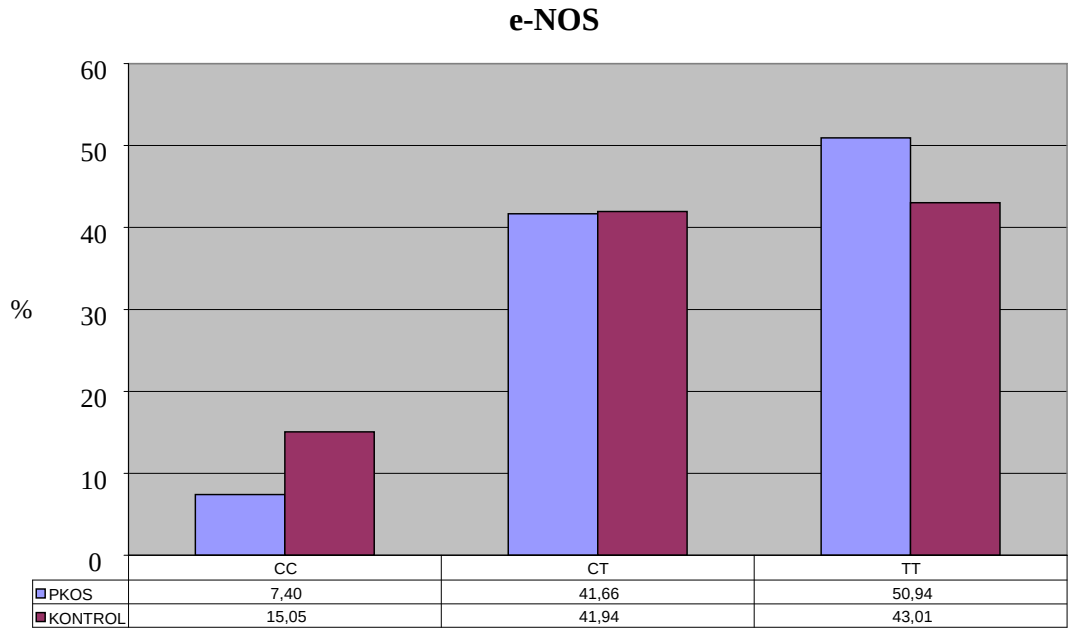
e-NOS geninin 786. bölgesindeki T/C polimorfizminin PKOS ve kontrol grubu arasındaki genotip ve allel dağılımları Tablo 4.5 te verilmiştir. Tabloda belirtildiği üzere PKOS grubunda CC genotipi (homozigot mutant) 8 hastada, CT genotipi (heterozigot mutant) 45 hastada, TT genotipi (homozigot yabanıl) 55

hastada izlenmiş olup sıklıkları sırasıyla %7.4, %41.6, %50.94'tür. Kontrol grubunda CC genotipi 14 hastada, CT genotipi 39 hastada, TT genotipi 40 hastada izlenmiş olup sıklıkları sırasıyla %15.05, %41.94, %43.01'dir. Allel dağılımında PKOS grubu için C ve T allel sayıları 61 ve 155; kontrol grubu için ise C ve T allel sayıları 67 ve 119'dur. Allel frekansları PKOS grubunda C alleli için %28.25, T alleli için %71.75 ; kontrol grubunda C alleli için %36.02, T alleli için %63.98 olarak belirlendi.

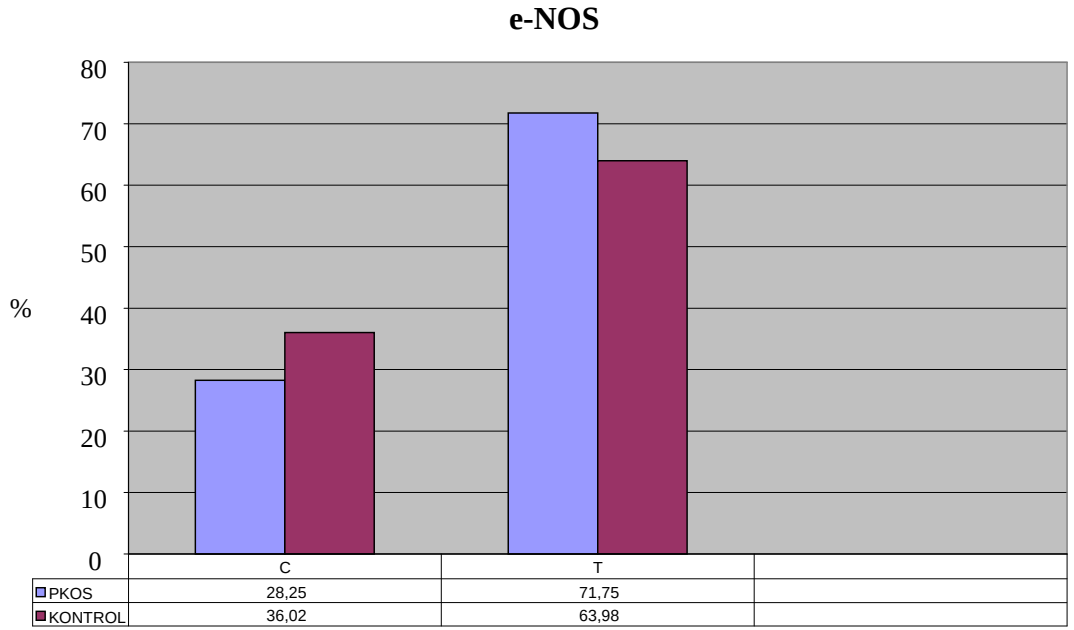
PKOS ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı açısından CC genotipi CT+TT genotipi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (OR:0.45 0.16-1.22; CI95% p:0.8340). Allel sıklıkları karşılaştırılarda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (OR: 1.43 0.92-2.23; CI 95% p:0.0949).

Tablo 4.5 Çalışma Gruplarına Ait -786 T/C Genotip ve Allel Dağılımı

	PKOS Grubu(n=108)	Kontrol Grubu (n=93)	P
Genotip			
CC	8 (%7.40)	14(% 15.05)	P>0.05
CT	45 (%41.66)	39 (% 41.94)	
TT	55 (% 50.94)	40 (%43.01)	
Allel frekansı			
C	61 (% 28.25)	67 (%36.02)	P>0.05
T	155 (% 71.75)	119 (%63.98)	



Grafik 4.1 e-NOS -786 T/C polimorfizmi için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri



Grafik 4.2 e-NOS -786 T/C polimorfizmi için PKOS ve kontrol gruplarında allel frekansları

Genotip dağılımları incelendiğinde gruplar arasında BMI ölçümlerinde, AKŞ/İnsülin oranlarında, Bel/Kalça oranı, TG ölçümleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır (Tablo 4.6) .

Tablo 4.6 Gruplar Arasında AKŞ/insülin, TG, Bel/Kalça oranı, BMI' e göre genotip dağılımları

Grup			AKŞ/ insülin	Trigliserid	Bel/kalça oranı	BMI
PKOS	CC	ORT±SS	23,6±16,3	103,2±59,2	0,79±0,09	28,2±8,9
		Med (Min-Max)	17,2(3,02-45,0)	81(52-228)	0,8(0,7-0,9)	27,5(16,5-44,9)
	CT	ORT±SS	25,9±15,7	93,0±42,5	0,78±0,01	24,8±5,6
		Med (Min-Max)	23,1(4,2-47,5)	87(38-226)	0,77(0,6-0,9)	23,4(17,4-39,5)
	TT	ORT±SS	25,3±16,0	94,1±45,7	0,78±0,06	24,2±4,4
		Med (Min-Max)	21,9(2,7-49,0)	82(39-268)	0,77(0,7-0,9)	24,0(16,2-39,7)
		P	0,920	0,828	0,658	0,127
Kontrol	CC	ORT±SS	36,3±12,4	63,6±21,2	0,76±0,06	22,4±3,2
		Med (Min-Max)	42,5(9,2-47,0)	65,5(28-96)	0,75(0,7-0,9)	22,0(18,4-28,3)
	CT	ORT±SS	44,2±63,	75,64	0,757	21,5844
		Med (Min-Max)	42(3,3-415)	74(36-139)	0,75(0,6-0,9)	20,6(17,3-30,4)
	TT	ORT±SS	31,8±13,8	71,6±25,9	0,7±0,07	21,7±2,7
		Med (Min-Max)	39(4,1-47,5)	64,5(34-145)	0,73(0,6-0,9)	21,4(16,7-29,2)
		P	0,420	0,284	0,425	0,684

5.Tartışma

Aynı yaş grubundan, menstrüel siklusları düzenli olan kadınlar ile PKOS' lu kadınlar karşılaştırıldığında, hipertansiyon ve dislipideminin dahil olduğu çeşitli kardiyovasküler risk faktörlerinin prevalansının PKOS' lu kadınlarda artmış olduğu gösterilmiştir (159). Aynı zamanda PKOS, subklinik ateroskleroz ve endotel fonksiyon bozukluğunun varlığıyla ilişkilendirilmiştir (160,161,162) ve veriler, PKOS'nun erken başlangıçlı kardiyovasküler hastalık için yüksek risk oluşturduğuna işaret etmektedir. PKOS'nun yüksek prevalansı hesaba katıldığında, kadınlarda erken yaşlarda görülen aterosklerotik kalp hastalıklarının.önemli bir kısmının zemininde yatan bağımsız bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

İnsülin direnci, Tip2 DM, hipertansiyon, dislipidemi, plazminojen aktivatör inhibitör 1(PAI-1) artışı, endotelin-1 düzeylerinin artışı, endotel fonksiyon bozukluğu gibi birçok kardiyovasküler risk ile ilişkilendirilmiştir. Bu anormalliklerin bütünü, insülin direnci ile birlikte sendrom X, insülin direnci sendromu (IRS) veya metabolik sendrom olarak tanımlanmıştır. PKOS' un insülin direnci ile olan yakın ilişkisinin düşünüldüğünde, kadınlarda metabolik sendromun bir bileşeni olabileceği düşünülmektedir (163).

Cinsiyet farklılığının, kardiyovasküler hastalıklara yatkınlıkta önemli olduğu düşünülmüş; östrojenin kardiyovasküler risk faktörleri açısından koruyucu, androjenlerin ise risk faktörlerini arttırıcı olası etkileri olabileceği varsayılmıştı. Ancak erkeklerde yapılan çalışmalarda androjenler ile kardiyovasküler hastalıklar arasında pozitif korelasyon saptanmamıştır (164,165). PKOS olmayan kadınların dahil edildiği çalışmalarda da, endojen androjen ve kardiyovasküler hastalık gelişimi arasındaki bağlantı araştırılmış, androjenlerin anlamlı bir rolünün olmadığı gösterilmiştir. Pre-postmenapozal kadınlarda karotis arter intima media kalınlığının (KİMK), endojen DHEA-S ve testosteron konsantrasyonu ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Erkeklerde endojen androjen azaltılması, kadınlarda testosteron uygulanmasının kardiyovasküler morbidite ve mortalite üzerine etkilerinin olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte dişi primatlara testosteron uygulanmasının lipid düzeylerinden bağımsız olarak aterogenezi arttırdığı gösterilmiştir (159).

Dislipidemi, PKOS’nda en sık görülen metabolik anormallik olmaya aday olup, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP) kılavuzunda belirlenmiş olan değerlere göre %70’lere varan oranlarda görülmektedir. Sınırdan veya yüksek LDL-K, düşük HDL-K ve yüksek TG düzeyleri obez ve zayıf PKOS olan kadınlarda sıklıkla görülmektedir (166-168). Düşük HDL-K düzeyleri, PKOS olan kadınların %70’ine yakınında saptanmıştır (169).

Bizim çalışmamızda da PKOS grubundaki hastaların TG düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmış ancak HDL- K ve LDL- K düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Bütün bu değişiklikler insülin direnciyle yakın olarak ilişkilidir, bununla birlikte artmış androjen düzeyleri hepatik lipaz aktivitesini uyararak HDL-K düzeylerindeki düşmeye katkıda bulunabilir. LDL-K alt gruplarının, kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir belirleyici olduğu gösterilmiştir (170). Küçük, yoğun LDL partikülleri, koroner arter hastalığı gelişiminde 3-7 kat artmış görece riske yol açmaktadır. Yapılan birçok çalışmada da PKOS olan kadınlarda bu aterosjenik LDL partiküllerinin kontrol grubuna göre artmış düzeyleri gösterilmiştir (171).

Yapılan çalışmalarda PKOS hastalarıyla kontrol grubu karşılaştırıldığında fibrinolitik aktivitenin azaldığı, PAI-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (100,101). Diğer kardiyovasküler risk belirleyicileri olan C-reaktif protein (CRP) (108), homosistein(109), Von Willebrand Factor, endotelin-1 (ET-1), oksidatif stres belirleyicilerinin düzeylerinde artma ve adiponektin düzeylerinde ise azalma PKOS olan kadınlarda gösterilmiştir (159).

PKOS olan kadınlar, yaş olarak eş kontrol gruplarına göre genellikle daha obezdirlere, BMI ve bel / kalça oranları da daha yüksektir (172). Obezite, ateroskleroz için risk faktörü olan hipertansiyon, insülin direnci, dislipidemi ve trombosit aktivasyonundaki artışla da ilişkilidir. Android veya santral obezite paterni, bel / kalça oranındaki artışla birliktelik gösterip anlamlı ve bağımsız bir kardiyovasküler risk faktörüdür. Bizim çalışmamızda da PKOS grubundaki hastalar istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek BMI’ e sahiptiler. PKOS grubunun hesaplanan bel / kalça oranı kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu saptanmış olup gruplar arasında bel / kalça oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur (p=0.001).

PKOS olan kadınların yaş olarak eşleştirilmiş kontrollere göre, daha yüksek hipertansiyon insidansına sahip oldukları gösterilmiştir (173). Ayrıca PKOS olan hastalarda sistolik kan basıncı düzeylerinde de artış gösterilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda gruplar arasında sistolik ve diastolik kan basınçları açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

Kardiyovasküler risk faktörlerinin, PKOS olan kadınlarda yaygın olmasına karşın, PKOS olan hastalarda kardiyovasküler hastalık insidansında artışı gösteren kesin kanıtlar yetersizdir. Hesaplanan risk faktör profiline göre , Dahlgren ve arkadaşları histopatolojik kanıtları bulunan küçük bir hasta grubunda kontrol grubuna göre.öngörülen miyokard infarktüsü riskini 7.4 olarak saptamışlardır (159). Bununla birlikte İngiltere’de yapılan, 345 PKOS tanısı olan hastanın alındığı retrospektif kohort çalışmasında diabetes, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, obeziteyi içeren risk faktörlerinin daha yüksek oranda görülmesine karşın koroner kalp hastalığına bağlı morbidite ve mortalite oranlarında farklılıklar saptanmamıştır. Ancak aynı çalışmada, diabetes ve serebrovasküler hastalık gelişimi açısından olasılık oranları anlamlı olarak yüksek, sırasıyla 2.3 ve 2.8 olarak saptanmıştır (173). Yapılan başka bir vaka kontrollü çalışma sonucunda 10 yıllık izlem sonucunda beyaz PKOS olan kadınlarda kardiyovasküler olay olasılık oranı 5.91 olarak saptanmıştır (172). Kesin PKOS tanı kriterlerinin kullanılmadığı, daha geniş bir çalışmada 82.439 kadından, 20-35 yaşları arasında oligo -amenore. öyküsü olan kadınların (%15) 14 yıl takip edilmesi sonrasında ölümle sonuçlanan ve sonuçlanmayan koroner kalp hastalığı görece riski 1.25 ve 1.67 olarak belirlenmiştir (115).

Yaptığımız literatür taramasında ulaşabildiğimiz kadarıyla e-NOS geninde -786 T/C polimorfizmi ile PKOS ilişkisini araştıran hiçbir çalışmaya rastlamadık. e-NOS genindeki allelic polimorfizmlerin fonksiyonel sonuçlarını inceleyen bir çalışmada, gen ekspresyonunu ve e-NOS aktivitesini en belirgin etkileyenin -786 T/C polimorfizmi olduğu sonucuna varılmıştır (174). e-NOS gen defektine bağlı kardiyovasküler hastalık riskini konu alan çalışmalar ve PKOS-kardiyovasküler hastalık ilişkisi de göz önüne alınarak PKOS’da kardiyovasküler hastalık riskinin e-NOS genindeki defekt ile ilişkili olabileceğini düşündük. Bu nedenle e-NOS genindeki -786 T/C polimorfizmini araştırmaya karar verdik.

Etnisitenin endotelial nitrik oksit varyantlarının dağılımına etkisini araştıran bir çalışmada 100 Kafkas, 100 Afriko Amerikan ve 105 Asyalı'ya ait DNA örneklerinde -786 T/C 'yi de içeren 3 polimorfizmin dağılımı incelenmiş. -786 T/C varyantının Kafkas ırkında (%42) diğerlerine oranla daha sık olduğu saptanmıştır ($p<0.0001$). e-NOS varyantlarının dağılımındaki interetnik farklar ve varyantların birbirleriyle olan ilişkisi, bu genetik varyantların kombinasyonunun kardiyovasküler hastalıklara nasıl yön verdiğini anlamamıza yardımcı olabilir (175).

Türk populasyonunda -786 T/C polimorfizminde içinde bulunduğu e-NOS gen polimorfizmlerinin dağılımını 300 sağlıklı kişide araştıran bir çalışmada Türk toplumunun e-NOS gen allel dağılımlarının Kafkas ve beyaz ırk ile benzediği; yaş, cinsiyet ve obeziteyle polimorfizmlerin genotipik dağılımda belirgin korelasyon olmadığı izlenmiştir. Bu çalışma ile Türk populasyonunda daha sonra yapılacak çalışmalara referans olması ve vasküler hastalıklarda e-NOS ilişkisini göstermeyi planlayan diğer çalışmalar açısından faydalı olabilir sonucuna varılmıştır (176).

359 MI geçiren hasta ile 195 kontrol grubundaki -786 T/C mutasyonunun sıklığının araştırıldığı bir çalışmada; MI grubunda C/C, C/T, T/T genotiplerinin sıklığı sırasıyla %1, %22 ve %77 olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise C/C, C/T, T/T genotiplerinin sıklığı %0, %8 ve %92 olarak saptanmıştır. C alel sıklığı kontrol grubuna göre MI grubunda belirgin olarak yüksektir ($p<0.001$). MI grubunda 359 hastanın 30'unda (%8) anjiyografik olarak tıkalı damar yokken, 158'inde (%44) tek tıkalı damar, 80'inde (%22) 2 tıkalı damar, 91'inde (%25) 3 tıkalı damar mevcuttu. -786 T/C mutasyon sıklığı tıkalı damarı olmayan MI hastalarında diğer MI grubuna göre belirgin olarak daha yüksektir ($p<0.003$). Sonuç olarak -786 T/C mutasyonu özellikle koroner arter stenozu olmayan MI geçiren Japon hastalarda kuvvetle ilişkili bulunmuştur ve bu ilişki nitrik oksitin kardiyovasküler sistem üzerine olan bozulmuş etkisine bağlı olabilir (13).

Koroner spazm geçiren 201 hasta ile 345 kontrol grubunda e-NOS gen defektleri ile koroner arter spazmına yol açan risk faktörleri arasındaki ilişki araştırılmış ve multipl regresyon analizi, koroner spazmın bağımsız risk faktörleri arasında prediktif değeri en fazla olanın -786 T/C mutasyonu (<0.001) olduğu, onu sigara içiciliği ($p<0.001$), HT ($p:0.004$) ve Glu298ASP variantı ($p:0.028$) takip ettiği sonucuna varılmıştır (12).

Diğer bir çalışmada -786 T/C mutasyonunun koroner arter hastalığında aday genlerden biri olabileceğini düşünerek İtalyan toplumunda koroner arter hastalığı varlığı ve ciddiyeti ile e-NOS -786T/C ve Glu298Asp polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Koroner arter anjiyografisi yapılan 415 kişi ile çalışılmış, her iki varyantın da koroner arter hastalığı oluşum ve ciddiyeti ile belirgin ilişkisi olduğu saptanmıştır (-786T/C p:0.004 – Glu298ASP p:0.001). -786 T/C polimorfizminin homozigot C aleline sahip olanlarda homozigot T aleline sahip olanlara göre koroner arter hastalığı riski artmaktadır (OR:2.5; p<0.01). Sonuç olarak her iki polimorfizmde İtalyan toplumunda anjiyografik olarak tanı konulmuş koroner arter hastalığı varlığı ve ciddiyeti ile ilişkili bulunmuştur (16).

Türk toplumunda içlerinde e-NOS -786 T/C polimorfizminde bulunduğu, koroner arter hastalığına yatkınlıkta rol oynadığı düşünülen bazı polimorfizmlerin (146 koroner arter hastalığı olan, 122 kontrol grubu) KAH ile ilişkisini ortaya koymaya çalışan bir çalışmada KAH ile -786 T/C polimorfizminin (p:0.055) belirgin ilişkisi saptanamamıştır (177). Ancak yine Türk toplumunda yapılan diğer bir çalışmada 211 koroner arter hastası (152 erkek, 59 kadın) ve 52 kontrol grubu -786 T/C polimorfizmi ile KAH riski açısından karşılaştırıldığında e-NOS -786 T/C polimorfizminin Türk toplumunda KAH riski ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (18).

Çinde yapılan (312 koroner arter hastası ve 310 sağlıklı kontrol grubu) e-NOS -786 T/C polimorfizmi ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişkiyi araştıran diğer bir çalışmada minör alel sıklıkları kontrol grubuna göre hasta grubunda daha yüksek bulunmuştur. Sigara içen, 60 yaş üstü, hipertansif ve BMI 25 in üzerinde olan erkeklerde -786 T/C genotipi ile KAH riski ilişkisi daha fazla bulunmuştur. Ancak total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak -786 T/C polimorfizmi Çin halkında KAH için bağımsız bir risk faktörü olarak görünmektedir (19). Kafkas ırkında da yapılan bir çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir (17).

Obez çocuklar ve adölesanlarda metabolik sendrom ile e-NOS polimorfizmlerinin ilişkisini araştıran bir çalışmada 242 olguda (108 sağlıklı kontrol, 64 normotansif obez ve 70 metabolik sendromlu obez çocuk ve adölesan) -786T/C polimorfizmi dahil 3 polimorfizm incelenmiştir. Metabolik sendromlu grupta kontrol

grubuna göre -786 T/C polimorfizminin CC genotipinin daha sık olduğu saptanmıştır (OR:3.27;CI 1.81-9.07; p<0.05). Sonuç olarak obez çocuk ve adölesanlarda -786 T/C polimorfizmi CC genotipi metabolik sendrom ile ilişkilidir (24).

Japonya'nın Kyoto bölgesinde (n:215, kontrol:233) ve Kumamoto bölgesinde (n: 186 , kontrol: 223) esansiyel HT ile e-NOS gen ilişkisini ve -786 T/C variantının sıklığını araştıran bir çalışmada, sıklığın her iki bölgedeki hasta ve kontrol gruplarında benzer olduğu bulunmuştur. Bu çalışmaya göre e-NOS – 786 T/C varyantının esansiyel HT ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (14).

Yine Japonya'da 4055 kişi ile yapılan ve endotelial nitrik oksit sentaz gen polimorfizmleri ile hipertansiyon ilişkisini araştıran bir çalışmada -786 T/C genotip dağılımında hipertansif ve kontrol grubu arasında belirgin farklılık izlenmemiştir. Sonuç olarak çalışılan Japon populasyonunda bu polimorfizmin hipertansiyon yatkinlığında major faktör olmadığı düşünülüyor (178).

Yapılan diğer bir çalışmada 599 normotansif 106 hipertansif toplam 705 kişilik bir grupta e- NOS -786 T/C polimorfizmi ile kan basıncı arasındaki ilişki araştırılmıştır. T ve C alel sıklıkları %62 ve %38 olarak bulunmuştur. T/T, T/C, C/C genotipleri %39, %46, %15 olup ortalama ve diastolik kan basınçlarında anlamlı farklılık olmamakla beraber, C/C genotipine sahip olanlarda belirgin olarak sistolik kan basıncında yükseklik saptanmıştır (p<0.05). C/C genotipine sahip olanların %22,6 sı hipertansif iken; T/T ve T/C genotipindekilerin %12,4 ve %24,8 i hipertansif olarak bulunmuştur. Sonuç olarak – 786 C/C genotipinin esansiyel HT riskini artıran önemli bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır (15).

Bu çalışmaların birbirinden farklı sonuçlar ortaya çıkarması C alel sıklığının beyaz ırkta daha sık olmasıyla açıklanabilir.

e-NOS -786 T/C polimorfizmi ile preeklampsi ilişkisini araştıran çalışmalardan çelişkili sonuçlar mevcuttur. 110 hipertansif (69'u gestasyonel HT, 41 preeklampsi) ve 150 sağlıklı gebe kadının dahil edildiği ve -786 T/C polimorfizmini de içeren e-NOS polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışmada -786 T/C varyantında genotip dağılımı ve alel sıklıklarında hasta ve kontrol grubu arasında belirgin farklılık bulunmamıştır (p>0.05). Ancak preeklampsi grubunda -786 CCgenotipinde (205.0+/-21.2 mmHg) -786 TT (177.0 +/- 17.8 mmHg) veya -786 TC genotipi ile kıyaslandığında (173.4 +/- 13.5 mmHg) daha yüksek sistolik kan basıncı izlenmiştir.

Sonuç olarak -786CC genotipinin varlığı preeklampsili gebe kadınlarda sistolik kan basıncında artışla korele olabilir (29). Ancak yayınlanan bir review da -786 T/C polimorfizminde belirgin risk artışı olmadığı gözlenmiştir (30). Endotelial nitrik oksit sentaz genindeki -786 T/C polimorfizmi ile NO düzeyleri ve preeklampsisi riskini araştıran ve 11 çalışmayı içeren bir metaanalizde toplam 1379 hasta ve 1849 kontrol grubu incelenmiştir. Bu çalışmalardan 6'sı Avrupa, 2'si Asya ve 3'ü Amerika'da yapılmıştır. Sonuçta -786 T/C polimorfizmi ile preeklampsisi arasında dominant modelde (OR:1.17, 95% CI 1.02-1.35) belirgin ilişki saptanmıştır. Subgrup analizinde ise Avrupalılarda dominant modelde (TC +CC VS TT) (OR: 1.40, 95% CI 1.14-1.73) ilişki saptanmıştır. Maternal serum NO düzeyleri ile preeklampsisi riski arasında da negatif ilişki saptanmıştır. Bu sonuçlara göre -786 T/C polimorfizmi antenatal dönemde preeklampsiyi öngörmede ve taramada kullanılabilir sonucuna varılmıştır (31).

e-NOS gene polimorfizmleri e-NOS aktivitesini etkiler ve anormal damar yanıtları ve lokal kan akımında bozulma ile ilişkilidir. Lokal olarak azalmış kan akımında insülin rezistansına neden olduğu bildirilmiştir. Buna dayanarak e-NOS polimorfizmleri (G894 T ve -786 T/C) ile insülin rezistansının olası ilişkisini inceleyen bir çalışmada 233 diyabetik olmayan hasta ile 301 tip 2 DM'lu hasta karşılaştırılmıştır. -786 C aleline sahip diyabetik olmayan grupta açlık plasma insülin düzeyleri ve HOMA-IR indeksi -786 T/T genotipine sahip olan gruptan daha yüksek olarak bulunmuştur. -786 C aleline sahip diyabetik grupta da -786 T/T genotipine sahip olanlardan daha yüksek HbA1c düzeyleri izlenmiştir. Sonuç olarak hem diyabetik hemde non diyabetik grupta -786 T/C mutasyonu ile insülin rezistansının ilişkili olduğu bulunmuştur (179).

132 iskemik yada non-iskemik kalp hastalığına sekonder sol ventriküler disfonksiyonu olan hastada insülin rezistansı ile e-NOS -786 T/C polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada 37 hastada TT genotipi, 70 hastada TC genotipi, 25 hastada ise CC genotipi saptanmıştır. CC genotipine sahip hastalarda sistemik arteriyel kan basıncı, kan şekeri düzeyi, plasma insülin düzeyi ve HOMA indeks düzeyleri TT genotipine sahip olanlardan belirgin yüksek saptanmıştır. CC genotipi varlığı IR riskini 3.3 kat, TC genotipi varlığı ise 2.1 kat artırmaktadır. Sonuç olarak -786 T/C polimorfizmi iskemik yada non-iskemik kardiyomyopati

olan hastalarda insulin rezistansının majör bağımsız belirtecidir. Sonuçlar gösteriyor ki e-NOS ekspresyonundaki azalma, kalp hastalıklarının ciddiyetini etkileyebilecek glukoz hemostaz bozulmasına predispozan olabilir (180).

MI, anjina pectoris veya koroner spasm öyküsü olan 45 hastada insülin rezistansı ile e-NOS gene polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada insülin rezistansı 75 gr OGTT'nin 120. dakikasında plasma immun reaktif insulin konsantrasyonları belirlenerek ölçülmüş ve -786T/C variantı olan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.005$). Bu bulgu e-NOS genindeki -786 T/C mutasyonunun insülin duyarlılığını azalttığını göstermektedir (20).

Bizim çalışmamızda hastalardaki insülin rezistansı AKŞ/insülin oranı <4.5 olarak değerlendirildi. Yapılan istatistiki analizlerde PKOS ve kontrol grubu arasında genotip dağılımlarında istatistiki olarak anlamlı sonuç izlenmedi. Hasta sayıları artırılıp, 75 gr OGTT ile tarama yapılarak yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Yapılan fare deneylerinde, e-NOS eksikliğinin geç menarş, ovulasyon oranlarında azalma doğum sayısının azlığı, intrauterin gelişme geriliği ve erken menapoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (7,28). İnsanlarda da e-NOS overe lokal etki ile ovulasyona yön vermek gibi reproduktif fonksiyonları düzenlemektedir.

Bunlar göz önüne alındığında, e-NOS' un menarş ve menapoz zamanlamasında aday gen olabileceği varsayımına dayanılarak 87 sağlıklı postmenapozal kadında yapılan bir çalışmada -786T/C polimorfizminin allelik sıklıkları wild tip T alel için %60.9, mutant tip C alel için % 39.4 dur. 33 kadın (%38) homozigot wild tip (T/T), 39 kadın (%45.1) heterozigot (T/C), 15 kadın ise (%16.9) homozigot mutant (C/C) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak e-NOS -786 T/C polimorfizminde en az bir mutant alel varlığı menarş yaşı, doğal menapoz, düşük ve doğum sayıları ile ilişkili bulunmamıştır (11).

e-NOS -786 T/C polimorfizminde içeren 4 polimorfizm ile tekrarlayan gebelik kaybının ilişkisini araştıran bir vaka kontrol çalışmasında 298 tekrarlayan gebelik kaybı olan hasta ve 305 kişi kontrol grubu olarak alınmıştır. Tekrarlayan gebelik kaybı olgularında 786 C aleli daha yüksek sıklıkta izlenmiş olup homozigot wild tip genotip referans alındığında, regresyon analizleri -786 T/C polimorfizminin tekrarlayan gebelik kaybı riski ile ilişkili olduğunu doğrulamaktadır (26). Ancak 350

hasta ve 200 kontrol grubuyla yapılan diğerk bir çalışmada ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır (27).

Yaptığımız çalışmada istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiş olsada daha önce e-NOS -786 T/C polimorfizmi ile PKOS ilişkisine yönelik başka bir çalışma olmadığından literatürdeki boşluğun doldurulması açısından önemli olduğu ve daha sonra yapılacak çalışmalara yol gösterici olacağı dşnncesindeyiz. Daha fazla sayıda hasta ile ve obezite yada insülin direnci gibi diğerk kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinden bağımsız başka çalışmaların yapılmasına gereksinim vardır.

SONUÇLAR

1. E-NOS -786 T/C polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından PKOS ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.
2. E-NOS -786 T/C polimorfizminin PKOS ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.
3. Çalışmamız e-NOS -786 T/C polimorfizmi ile PKOS ilişkisini araştıran ilk çalışma olduğundan sonraki çalışmalar için yön gösterici olabileceği kanaatindeyiz.
4. Bu konuyla ilgili daha yüksek hasta sayıları ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.
5. Genetik polimorfizm genotip ve allel sıklıkları toplumdan topluma değişebileceğinden farklı etnik gruplarda benzer çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Carmina E, Lobo RA. PCOS: arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J. Clin Endocrinol Metabol.* 1999; 84(6): 1897-9
2. Conn JJ, Jacobs HS, Conway GS. The prevalence of polycystic ovaries in women with type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol* 2000;52:81-6.
3. Zintzaras E, Kitsios G, Stefanidis I. Endothelial NO synthase gene polymorphisms and hypertension: a meta-analysis. *Hypertension* 2006;48:700-10.
4. Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: a meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. *Circulation* 2004;119:1359-65.
5. Bayoğlu B. İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Endotelial Nitrik Oksid Sentaz (Enos) Glu298asp Polimorfizminin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul, Bilim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 2007: 3-15
6. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990;323:27-36.
7. Tempfer C, Moreno RM, O'Brian WE, Gregg AR. Genetic contributions of the endothelial nitric oxide synthase gene to ovulation and menopause in amouse model. *Fertil Steril* 2000;73:1025-31.
8. Tempfer C, Unfried G, Zeillinger R, Hefler L, Nagele F, Huber J. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in women with idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2001;16:1644-7.
9. Hefler LA, Tempfer CB, Moreno RM, O'Brian WE, Gregg AR. Endothelial-derived nitric oxide and angiotensinogen: blood pressure and metabolism during mouse pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280:R174-82.
10. Hefler LA, Worda C, Huber JC, Tempfer CB. A polymorphism of Nos3 gene and age at natural menopause. *Fertil Steril* 2002;78:1184-6.
11. Worda C, Walch K, Sator M, Eppel W, Tempfer CB, Schneeberger C. et al. The influence of Nos3 polymorphisms on age at menarche and natural menopause. *Maturitas* 2004;49:157-62.
12. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Ogawa H, Kugiyama K et al. Genetic risk factors for coronary artery spasm: significance of endothelial nitric oxide synthase gene T-786-->C and missense Glu298Asp variants. *J Investig Med.* 2000 Sep;48(5):367-74.
13. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Ogawa H, Kugiyama K et al. T(-786)--> C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is

- associated with myocardial infarction, especially without coronary organic stenosis. *Am J Cardiol.* 2000 Sep 15;86(6):628-34.
14. Kajiyama N, Saito Y, Miyamoto Y, Yoshimura M, Nakayama M, Harada M et al. Lack of association between T-786-->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene and essential hypertension. *Hypertens Res.* 2000 Nov;23(6):561-5.
 15. Hyndman ME, Parsons HG, Verma S, Bridge PJ, Edworthy S, Jones C et al. The T-786-C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension. *Hypertension.* 2002 Apr;39(4):919-22.
 16. Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG, Botto N, Manfredi S, Masetti S et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Clin Chem.* 2003 Mar;49(3):389-95.
 17. Rossi GP, Cesari M, Zanchetta M, Colonna S, Maiolino G, Pedon L. et al. The T-786C endothelial nitric oxide synthase genotype is a novel risk factor for coronary artery disease in Caucasian patients of the GENICA study. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Mar 19;41(6):930-7.
 18. Tangurek B, Ozer N, Sayar N, Terzi S, Yilmaz H, Dayi SU. et al. The relationship between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (T-786 C) and coronary artery disease in the Turkish population. *Heart Vessels.* 2006 Sep;21(5):285-90. Epub 2006 Sep 29.
 19. Han Y, Xu W, Zhang W, Liu N, Ji Y. T-786C polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with increased risk of coronary artery disease in a Chinese population. *Pharmacology.* 2010;85(4):211-6.
 20. Yoshimura T, Hisatomi A, Kajihara S, Yasutake T, Ogawa Y, Mizuta T. et al. The relationship between insulin resistance and polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in patients with coronary artery disease. *J Atheroscler Thromb.* 2003;10(1):43-7.
 21. Dosenko VIe, Zahoriĭ VIu, Lutaĭ IaM, Parkhomenko OM, Moĭbenko OO. Allelic polymorphism of endothelial NO-synthase (T(-786)C) promoter gene as risk factor of acute coronary syndrome. *Fiziol Zh.* 2005;51(1):72-6.
 22. Rossi GP, Maiolino G, Zanchetta M, Sticchi D, Pedon L, Cesari M. et al. The T(-786)C endothelial nitric oxide synthase genotype predicts cardiovascular mortality in high-risk patients. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Sep 19;48(6):1166-74.
 23. Dosenko VE, Zagoriy VY, Lutay YM, Parkhomenko AN, Moibenko AA. Allelic polymorphism in the promoter (T/C), but not in exon 7 (G/T) or the variable number tandem repeat in intron 4, of the endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with acute coronary syndrome in the Ukrainian population. *Exp Clin Cardiol.* 2006 Spring;11(1):11-3.
 24. Miranda JA, Belo VA, Souza-Costa DC, Lanna CM, Tanus-Santos JE. eNOS polymorphism associated with metabolic syndrome in children and adolescents. *Mol Cell Biochem.* 2013 Jan;372(1-2):155-60.

25. Souza-Costa DC, Belo VA, Silva PS, Sertorio JT, Metzger IF, Lanna CM. et al. eNOS haplotype associated with hypertension in obese children and adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2011 Mar;35(3):387-92.
26. Almawi WY, Guarino BD, Al-Sulaiti MA, Al-Busaidi AS, Racoubian E, Finan RR. Endothelial nitric oxide synthase gene variants and haplotypes associated with an increased risk of idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Fertil (Camb)*. 2013 Sep;16(3):200-6.
27. Zammiti W, Mtiraoui N, Mahjoub T. Lack of consistent association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms, homocysteine levels and recurrent pregnancy loss in Tunisian women. *Am J Reprod Immunol*. 2008 Feb;59(2):139-45.
28. Hefler LA., Reyes CA., O'Brien W.E. and Gregg A.R. Perinatal development of endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Biol. Reprod*. 2001; 64: 666–673
29. Perlik M, Seremak-Mrozikiewicz A, Barlik M, Kurzawińska G, Kraśnik W, Drews K. Genetic variants of endothelial nitric synthase in gestational hypertension and preeclampsia. *Ginekol Pol*. 2012 Sep;83(9):652-9.
30. Qi HP, Fraser WD, Luo ZC, Julien P, Audibert F, Wei SQ. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of preeclampsia. *Am J Perinatol*. 2013 Nov;30(10):795-804.
31. Dai B, Liu T, Zhang B, Zhang X, Wang Z. The polymorphism for endothelial nitric oxide synthase gene, the level of nitric oxide and the risk for pre-eclampsia: a meta-analysis. *Gene*. 2013 Apr 25;519(1):187-93.
32. Walch K, Kolbus A, Hefler-Frischmuth K.. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in premenopausal women with polycystic ovary syndrome. *Maturitas*. 2008 Nov 20;61(3):256-9.
33. Akçelik Y. Polikistik Over Sendromlu İnfertil Kadınlarda Ovulasyon İndülsiyonunda Kломifen Sıtrat Ve Gonadotropinlerin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları Ve Doğum Kliniği, 2008: 3-5
34. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Leon Speroff, RH Class, NG Kase, 2005. Chapter 12 Anovulation and The Polycystic Ovary 465-491.
35. Speroff L, Fritz M. A. Anovulasyon ve polikistik over (çeviri: Üstün M.). Erk A, Günel S. (Editörler). Klinik Jinekolojik Endokrinoloji İnfertilite Ankara: Güneş TıpKitabevleri; 2007 s.465-98.
36. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W. et al.Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Nov;91(11):4237-45.

37. Yılmaz Ö. Polikistik Over Sendromu'nda, Kan Homosistein, Psa Düzeyleri, Obezite, İnsülin Rezistansı Ve Hiperandrojenizm Korelasyonu. Uzmanlık Tezi. İstanbul, Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 2. Kadın Hastalıkları Ve Doğum Kliniği, 2009: 12-14
38. 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.
39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. 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.*, 2004; 19:41–47.
43. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W. et al. Task Force on the Phenotype of the Polycystic Ovary Syndrome of The Androgen Excess and PCOS Society. *Fertil Steril.* 2009 Feb;91(2):456-88.
44. Sultan C, Paris F. Clinical expression of polycystic ovary syndrome in adolescent girls. *Fertil Steril* 2006; 86: 6.
45. Carmina E, Oberfield SE, Lobo RA. The diagnosis of polycystic ovary syndrome in adolescents. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203: 201.e1-201.e5.
46. Kına U. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda XRCC1, APE1 ve XPD DNA Onarım Genlerindeki Genetik Polimorfizmin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2013: 6-7.
47. Kaiser UB, Sabbagh E, Katzenellenbogen RA, Conn PM, Chin WW. A mechanism for the differential regulation of gonadotropin subunit gene expression by gonadotropin-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Dec 19;92(26):12280-4.
48. Marshall JC and Eagleson CA. Neuroendocrine aspects of polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28: 295-323.
49. Anthill L, Ying-Oing D, Ruutiainen K, Erkkola R, Irjala K, Huhtaniemi I. Clinical features and circulating gonadotropin, insulin, and androgen interactions in women with polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1991; 55

50. Bremer AA, Miller WL. The serine phosphorylation hypothesis of polycystic ovary syndrome: a unifying mechanism for hyperandrogenemia and insulin resistance. *Fertil Steril* 2008; 89: 1039-48.
51. Sekar N, Lavoie HA, Veldhuis JD. Concerted regulation of steroidogenic acute regulatory gene expression by luteinizing hormone and insulin (or insulin-like growth factor I) in primary cultures of porcine granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 2000; 141: 3983-92.
52. Mukherjee S, Maitra A. Molecular & genetic factors contributing to insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Indian J Med Res* 2010; 131: 743-60.
53. Evliyaoğlu O. Polikistik over sendromu ve hirsutizm. *Türk Ped Arşivi* 2011; 46 Özel Sayı: 97- 2011; 46
54. Mason HD, Willis DS, Beard RW, Winston RM, Margara R, Franks S. Estradiol production by granulosa cells of normal and polycystic ovaries: relationship to menstrual cycle history and concentrations of gonadotropins and sex steroids in follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994 Nov;79(5):1355-60.
55. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev.* 1997 Dec;18(6):774-800.
56. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980 Jan;50(1):113-6.
57. Yildiz BO, Gedik O. Assessment of glucose intolerance and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online.* 2004 Jun;8(6):649-56.
58. Acien P, Ouereda F, Matallin P, Villarroja E, López-Fernández JA, Acién M. et al. İnsulin, androgens, and obesity in women with and without polycystic ovary syndrome: a heterogeneous group of disorders. *Fertil Steril.* 1999;72:32-40.
59. Pasquali R, Gambineri A, Biscotti D. Effect of long term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2000;85: 2767-74.
60. Çeğil Y. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Hormon Düzeyleri İle İnsülin Düzeylerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Edirne, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı, 2009: 8
61. Shulman GI. Cellular mechanism of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106 (2): 171-6
62. Azziz R, Woods KS, Reyna K, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 2745-9
63. Taylor AE. Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990;27: 877-902
64. Urbanek M. The genetics of the polycystic ovary syndrome. *Nat Clin PractEndocrinol Metab.* 2007 Feb;3(2):103-11.

65. 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.
66. Menke MN, Strauss JF 3rd. Genetic approaches to polycystic ovarian syndrome. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2007 Aug;19(4):355- 359.
67. Unluturk U, Harmanci A, Kocafe C, Yildiz BO. The Genetic Basis of the Polycystic Ovary Syndrome: A Literature Review Including Discussion of PPARgamma. *PPAR Res.* 2007 Feb 21;2007:49109 62
68. Yılmaz M, Bukan N, Ersoy R, Karakoç A, Yetkin İ, Ayvaz G ve ark. Glucose intolerance, insulin resistance and cardiovascular risk factors in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2005; 20: 2414-2415
69. Sir-Peterman T, Angel B, Maliqueu M, Carvajal F. Prevalance of T2DM and insulin resistance in parents of women with polycystic ovary syndrome. *Diabetologia.* 2004; 45:959-964
70. Yıldız BO, Yarahı H, Oğuz H, Bayraktar M. Glucose intolerance, insulin resistance and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with PCO. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(5): 2031- 2036.
71. Govind A, Obhrai MS, Clayton RN. Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: Analysis of 29 polycystic ovary syndrom and 10 control families. *J Clin Endocrinol Metab* 84:38-43,1999.
72. Legro RS, Driscoll D, Strauss JF 3rd, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Dec 8;95(25):14956- 60.
73. Kurzrock R, Cohen PR. Polycystic ovary syndrome in men: Stein- Leventhal syndrome revisited. *Med Hypotheses.* 2007;68(3):480-3.
74. Duskova M, Cermakova I, Hill M, Vankova M, Samalikova P, Starka L. What may be the markers of the male equivalent of polycystic ovary syndrome? *Physiol Res.* 2004;53(3):287-94.
75. Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(6):2100 4.
76. Pehlivanoglu V. Polikistik Over Sendromlu Hastaların Reprodüktif Çağdaki Anne Ve Kız Kardeşlerinde Endokrin Ve Metabolik Parametrelerin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul, Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörlüğü, 2009: 12-29
77. Diamanti-Kandarakis E, Piperi C. Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth. *Hum Reprod Update.* 2005;11(6):631-43.63
78. Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update.* 2001;7(1):3-7.
79. Novak's Gynecology; Berek J, Adashi EY, Hillard P. Chapter: 25, 1996; 837

80. Speroff L, Glass R, Kase N. Anovulasyon ve PCOS. in: Erk A (ed.). Klinik Jinekoloji Endokrinoloji ve İnfertilite. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1996; 457-482
81. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140:815-30.
82. 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; 167:1807-12.
83. Futterweit W. Polycystic Ovary Syndrome: Clinical Perspectives and Management. *Obstet Gynaecol Survey* 1999; 18: 403-413.
84. Chang RJ, Katz SE. Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28:397-407.
85. Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S, Labate AM, Venturoli S, Paradisi R et al. Insulin and androgen relationships with abdominal body fat distribution in women with and without hyperandrogenism. *Horm Res.* 1993;39(5-6):179-87.
86. Kousta E, White DM, Cela E. The prevalence of polycystic ovaries in 54 women with infertility. *Hum Reprod* 1999;14: 2720-2723.
87. Anttila L, Karjala K, Penttilä RA, Ruutiainen K, Ekblad U. Polycystic ovaries in women with gestational diabetes. *Obstet Gynecol.* 1998 Jul;92(1):13-6.
88. Rager KM, Omar HA. Androgen excess disorders in women: the severe insulin-resistant hyperandrogenic syndrome, HAIR-AN. *ScientificWorldJournal.* 2006 Jan 24;6:116-21. Review.
89. Gonzales F, Hatala DA, Speroff L. Basal and dynamic responses to gonadotropin releasing hormone agonist treatment in women with polycystic ovaries with high and 55 low dehydroepiandrosterone sulphate levels. *Am J Obstet Gynec* 1991; 165: 535-541
90. Morales AJ, Laughlin GA, Bützow 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.* 81; 2854-2864, 1996.
91. Rebor RW. Gonadotropin secretion in PCOS. *Seminars Reprod Endoc* 1984; 2:223
92. Waldstreicher J, Santoro NF, Hail JE, Filicori M. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with PCOS; indirect evidence of partial gonadotropin desensitization. *J Clin Endoc Metab* 1988; 66: 165-169
93. Casper RF, Greenblatt EM. Laparoscopic ovarian cautery for induction of ovulation in women with PCOS. *Seminars Reprod Endocrinology* 1990; 8: 208-210
94. Dokras A, Bochner M, Hollinrake E, Markham S, Vanvoorhis B, Jagasia DH. Screening Women With Polycystic Ovary Syndrome for Metabolic Syndrome. *Obstet Gynecol.* 2005; 106(1): 131-137
95. Alexander CJ, Tangchitnob EP, Lepor NE. Polycystic Ovary Syndrome: A Major Unrecognized Cardiovascular Risk Factor in Women. *Obstet Gynecol.* 2009; 2(4): 232-239.

96. Conway GS, Agrawal R, Betteridge DJ, Jacobs HS. Risk factors for coronary artery disease in lean and obese women with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992; 37: 119-125
97. Robinson S, Henderson AD, Gelding SV, Kiddy D, Niththyananthan R, Bush A, et al. Dyslipidaemia is associated with insulin resistance in women with polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996; 44(3): 277-284
98. 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(4): 447-453.
99. Yıldız BO, Haznedaroğlu IC, Kirazlı S, Bayraktar M. Global fibrinolytic capacity is decreased in polycystic ovary syndrome, suggesting a prothrombotic state. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 3871-3875
100. Sampson M, Kong C, Patel A, Unwin R, Jacobs HS. Ambulatory blood pressure profiles and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) activity in lean women with and without the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 45: 623-629
101. Tarkun I, Canturk Z, Arslan BC, Turemen E, Tarkun P. The plasminogen activator system in young and lean women with polycystic ovary syndrome. *Endocr J*. 51; 467-472, 2004.
102. Negri M, Sheiban I, Arigliano PL, Tonni S, Montresor G, Carlini S, et al. Interrelation between angiographic severity of coronary artery disease and plasma levels of insulin, C-peptide and plasminogen activator inhibitor-1. *Am J Cardiol*. 72; 397-401, 1993.
103. Atiomo WU, Bates SA, Condon JE, Shaw S, West JH, Prentice AG. The plasminogen activator system in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 69; 236-241, 1998.
104. Juhan-Vague C, Roul MC, Allesi JP, Ardisson M, Heim M, Vague P. Increased plasminogen activator inhibitor activity in non-insulin dependent diabetes- relationship with plasma insulin. *Thromb Haemost*. 61; 370-373, 1989.
105. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med*. 1995; 332(10): 635-641
106. Oral B, Mermi B, Dilek M, Alanoğlu G, Sütçü R. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and other hemostatic parameters in patients with polycystic ovary syndrome. *Metabolism*. 1997; 46: 454-457
107. Erdoğan M, Karadeniz M, Alper GE et al. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and cardiovascular risk factors in polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2008; 116(3): 143-147
108. Boulman N, Levy Y, Leiba R, Shachar S, Linn R, Zinder O, et al. Increased C-reactive protein levels in the polycystic ovary syndrome: a marker of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(5): 2160-2165

- 109.Loverro G, Lorusso F, Mei L, Depalo R, Cormio G, Selvaggi L. The plasma homocysteine levels are increased in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Obstet Invest.* 2002; 53(3):157-62.
- 110.Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Brattstrom L, Ueland PM. Total homocystein and cardiovascular disease. *J Int Med.* 1999; 246(5): 425-454
- 111.Heutling D, Schulz H, Nickel I, Kleinstein J, Kaltwasser P, Westphal S. et al. Asymmetrical dimethylarginine, inflammatory and metabolic parameters in women with polycystic ovary syndrome before and after metformin treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(1): 82-90.
- 112.Ak Yıldırım H ve ark. Polikistik Over Sendromu'nda Gözlenen Biyokimyasal Bozukluklar . *Konuralp Tıp Dergisi.* 2011;3(1):42-48
- 113.Judd HL, Scully RE, Herbst AL, Yen SS, Ingersol FM, Kliman B. Familial hypertechosis:Comparison of endocrinologic and histologic finding with polycystic ovarian disease. *Am J Obstet Gynecol* 117:976-982,1973.
- 114.Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL,Cavaghan MK, Imperial J. Prevelence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999, 22:141-6.
- 115.Solomon CG, Hu FB, Dunaif A, Rich-Edwards J, Willett WC, Hunter DJ. et al. Long or highly irregular menstrual cycles as a marker for risk of type 2 diabetes mellitus . *Jama* 2001,286:2421-6.
- 116.Şahin Y. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Akut Faz Proteinleri Olan C-Reaktif Protein Ve Fibrinojen Düzeylerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları Ve Doğum Kliniği. 2008: 22-23
- 117.Norman RJ, Masters S, Hague W. Hyperinsulinemia is common in familiy members of women with polycystic ovary syndrome . *Fertil Steril*, 1994 66:942-947.
- 118.Legro RS, Bentley-Lewis R, Driscoll D, Wang SC, Dunaif A. Insulin resistance in the sisters of women with polycystic ovary syndrome:Association with hyperandrogenemia rather than menstrual irregularity. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2128-2133,2002.
- 119.Guzick DS. Cardiovascular risc in women with polycystic ovary syndrome . *semin Report Endocrinol* 14:445-49,1996.
- 120.Çakır ve ark. Polikistik Over Sendromu ve Kardiovaskuler Hastalık Risk İlişkisi Derleme. *Turk Jem* 2013; 17: 33-7
- 121.Chen MJ, Yang WS, Yang JH, Chen CL, Ho HN, Yang YS. Relationship between androgen levels and blood pressure in young women with polycystic ovary syndrome. *Hypertension.* 2007; 49: 1442–1447.
- 122.Homburg R. Pregnancy complications in PCOS. Best practice and research clinical endocrinology and metabolism. 2006; 281-292
- 123.Hardiman P, Pillay OC, Atiomo W. Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma. *Lancet* 2003; 361: 1810-2.

- 124.Güler S. Polikistik Over Sendromunda Uzun Dönemde Kanser Riski. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics* 2009;2(2):64-9
- 125.Shobokshi A. Correction of the insulin resistance and hyperandrogenism in PCOS by combined Rosiglitazone and Clomiphene Citrate therapy. *J. Soc. Gynecol. Investig.*2003;10:99-104
- 126.Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürkan T, Önderoğlu L, Yaralı H, Yüce K, (editörler). Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, 2008:1577-1588.
- 127.Hamilton –Fairly D. Low dose gonadotrophin therapy for induction of ovulation in 100 women with PCOS. *Hum Reprod* 1991;6, 1095-1099
- 128.Norman RJ, Masters L, Milner CR, Wang JX, Davies MJ. Relative risk of conversion from normoglycaemia to impaired glucose tolerance or non-insulin dependent diabetes mellitus in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2001; 16:1995-8.
- 129.Pasquali R, Casimirri F, Venturoli S, Antonio M, Morselli L, Reho S. et al. Body fat distribution has weight-independent effects on clinical, hormonal, and metabolic features of women with polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1994; 43:706-13.
- 130.Mombouli J, Vanhoutte PM. Endotherapy. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31:61-74.
- 131.Pothula A, Serebruany VL, Gurbel PA, McKenzie ME, Atar D. Pathophysiology and therapeutic modification of thrombin generation in patients with coronary artery disease. *Eur J Pharmacol* 2000; 402:1-10.
- 132.Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996; 32:743- 751.
- 133.Lefer DJ, Jones SP, Girod WG, Baines A, Grisham MB, Cockrell AS. et al. Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase deficient mice. *Am J Physiol* 1999; 275:H1943-50
- 134.Kılıç H. Aort Kapak Sklerozu ile Sistemik Endotel Disfonksiyonu Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul, Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Merkezi, Kardiyoloji Kliniği, 2006: 15-24
- 135.Khrbanda RK, Deanfield J. Functions of the healthy endothelium. *Coron Arter Disease* 2001; 12:485-91
- 136.Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature* 1993; 362:801-9
- 137.Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Eng J Med* 1986; 315:1046-51
- 138.Zeier AM, Drexler H, Wollschläger H, Just H. Endothelial dysfunction of the coronary microvasculature is associated with impaired coronary blood flow regulation in patients with early atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84:1984-92

- 139.Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID. et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-5
- 140.Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 28:373
- 141.Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesized nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:644-66
- 142.Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA*1987; 84: 9265-9.
- 143.Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol (USA)* 1993;54(2):171-8.
- 144.Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987; 327: 524-526.
- 145.Boger RH, Bode-Boger SM, Frolich JC. The L-arginine-nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis* 1996 November 15;127(1):1-11.
- 146.Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*. 1990 Jul 5;323(1):22-7.
- 147.Alvarez R, Gonzalez P, Batalla A, Reguero JA, Cubero G, Hevia S. et al. Association between the NOS3 (2786 T/C) and the ACE (I/D) DNA Genotypes and Early Coronary Artery Disease. *J Biol Chem*. 2001; 5: 343-348.
- 148.Vidal MJ, Romero JC, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing factor inhibits rennin release. *Eur J Pharmacol*. 1998; 14: 401-402.
- 149.Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I. et al. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994; 23: 1121-31.
- 150.Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM et.al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*. 1993, 268; 17473-17488.
- 151.Albrets B, Bray D, Lewis J. Molecular biology of the Cell. 3. Ed,1994.
- 152.Lewin B. Genes VII. Oxford University Pres, 2000.
- 153.Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M: T(-786) C mutation in the 52 flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary artery stenosis. *Am J Cardiol*. 2002; 86: 628-634
- 154.Landmesser U, Drexler H. The clinical significance of endothelial dysfunction. *Curr Opin Cardiol* 2005 November;20(6):547-51.
- 155.Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation* 2004 June 1;109(21 Suppl 1):II27-II33.

156. Tarkun I, Arslan BC, Canturk Z, Turemen E, Sahin T, Duman C. Endothelial dysfunction in young women with polycystic ovary syndrome: relationship with insulin resistance and low-grade chronic inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 November;89(11):5592-6.
157. Orio F, Jr., Palomba S, Cascella T, De Simone B, Di Biase S, Russo T. et al. Early impairment of endothelial structure and function in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 September;89(9):4588-93.
158. Amanti-Kandarakis E, Alexandraki K, Protogerou A, Piperi C, Papamichael C, Aessopos A. et al. Metformin administration improves endothelial function in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2005 May;152(5):749-56.
159. Pamuk BÖ. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Asimetrik Dimetilarjinin Düzeyleri Ve Karotis İntima Media Kalınlığı. Uzmanlık Tezi. Ankara. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Endokrinoloji Ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, 2006:12-15
160. 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 April;46(4):454-7.
161. Amanti-Kandarakis E, Spina G, Kouli C, Migdalis I. Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 October;86(10):4666-73.
162. Paradisi G, Steinberg HO, Hempfling A, Cronin J, Hook G, Shepard MK. et al. Polycystic ovary syndrome is associated with endothelial dysfunction. *Circulation* 2001 March 13;103(10):1410-5.
163. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001 May 16;285(19):2486-97.
164. Wu FC, Von EA. Androgens and coronary artery disease. *Endocr Rev* 2003 April;24(2):183-217.
165. Liu PY, Death AK, Handelsman DJ. Androgens and cardiovascular disease. *Endocr Rev* 2003 June;24(3):313-40.
166. Legro RS, Kusanman AR, Dunaif A. Prevalence and predictors of dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Med* 2001 December 1;111(8):607-13.
167. Wild RA, Painter PC, Coulson PB, Carruth KB, Ranney GB. Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1985 November;61(5):946-51.
168. Mather KJ, Kwan F, Corenblum B. Hyperinsulinemia in polycystic ovary syndrome correlates with increased cardiovascular risk independent of obesity. *Fertil Steril* 2000 January;73(1):150-6.

169. Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ, Nestler JE. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 April;90(4):1929-35.
170. Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA* 1996 September 18;276(11):875-81.
171. DeJager S, Pichard C, Giral P, Bruckert E, Federspiel MC, Beucler I. et al. Smaller LDL particle size in women with polycystic ovary syndrome compared to controls. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001 April;54(4):455-62.
172. Talbott E, Guzick D, Clerici A, Berga S, Detre K, Weimer K. et al. Coronary heart disease risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995 July;15(7):821-6.
173. Wild S, Pierpoint T, McKeigue P, Jacobs H. Cardiovascular disease in women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up: a retrospective cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000 May;52(5):595-600.
174. Dosenko VE, Zagoriy VY, Haytovich NV, Gordok OA, Moibenko AA. Allelic polymorphism of endothelial NO-synthase gene and its functional manifestations. *Acta Biochim Pol.* 2006;53(2):299-302.
175. Tanus-Santos JE, Desai M, Flockhart DA. Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. *Pharmacogenetics.* 2001 Nov;11(8):719-25.
176. Sinici I, Karahan S, Atalar E. Distribution of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in Turkish population. *J Investig Med.* 2009 Oct;57(7):769-76.
177. Alp E, Menevse S, Tulmac M, Kan D, Yalcin R, Erkan AF. et al. Lack of association between matrix metalloproteinase-9 and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and coronary artery disease in Turkish population. *DNA Cell Biol.* 2009 Jul;28(7):343-50.
178. Tsujita Y, Baba S, Yamauchi R, Mannami T, Kinoshita M, Yamamoto R et al. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: The Suita Study. *J Hypertens.* 2001 Nov;19(11):1941-8.
179. Ohtoshi K, Yamasaki Y, Gorogawa S, Hayaishi-Okano R, Node K, Matsuhisa M. et al. Association of (-)786T-C mutation of endothelial nitric oxide synthase gene with insulin resistance. *Diabetologia.* 2002 Nov;45(11):1594-601.
180. Vecoli C, Andreassi MG, Liga R, Colombo MG, Coceani M, Carpeggiani C. et al. T(-786)→C polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with insulin resistance in patients with ischemic or non ischemic cardiomyopathy. *BMC Med Genet.* 2012 Oct 2;13:92.