

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

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA
XRCC1, APE1 VE XPD DNA ONARIM GENLERİNDEKİ
GENETİK POLİMORFİZMİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ulviye KINA

UZMANLIK TEZİ

BOLU
2013

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

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA
XRCC1, APE1 VE XPD DNA ONARIM GENLERİNDEKİ
GENETİK POLİMORFİZMİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ulviye KINA

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Bülent DURAN

BOLU
2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bana karşı hoşgörüsünü hiç eksik etmeyen, hem cerrahi hem de kişilik anlamında kendisini örnek aldığım, tez danışmanlığımı yürüten, değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Bülent DURAN'a,

Eğitimim boyunca bana çok değerli katkıları bulunan, her konuda desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Ata TOPÇUOĞLU, Doç. Dr. Önder KOÇ'a,

Tezimin son haline gelmesinde sabır ve özveriyle bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Selma DÜZENLİ hocama,

Tezim süresince bana desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Dr. Nuriye ÖZENGİN, Emel KESİM ve Uzman Ali Osman Arslan'a,

Eğitimim süresince birlikte çalıştığım tüm asistan, hemşire ve personel arkadaşlarıma teşekkür ederim...

Dr. Ulviye KINA

Bolu 2013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
GRAFİKLER	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Polikistik Over Sendromu	4
2.2. PKOS ve Oksidatif Stres	30
2.3. DNA Tamir Mekanizmaları	32
2.4. DNA Tamir Genlerinde Polimorfizmler	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Kontrol ve Çalışma Grubu	41
3.2. APEX1, XRCC1 ve XPD gen polimorfizmlerinin analizi	42
3.3. APE1, XRCC1 ve XPD Genlerinin Polimorfizminin Analizi Aşamaları ve Kullanılan Kimyasallar	42
3.4. APE1, XRCC1 ve XPD genlerinin Polimorfizmi için Çalışma Protokolü	43
3.5. İstatistiksel Analiz	45
3.6. APE1, XRCC1 ve XPD Mutasyonlarının Sonuçlarının Değerlendirilmesi	45
3.7. İstatistiksel Analiz	48
4. BULGULAR	50
4.1. Laboratuvar bulguları ve demografik özellikler	50
4.2. XRCC1 (Arg399Gln)	53

4.3. APE1 (Asp148Glu)	55
4.4. XPD (Lys751Gln)	57
5. TARTIŞMA	60
5.1. XRCC1 (Arg399Gln)	61
5.2. APE1 (Asp148Glu)	63
5.3. XPD (Lys751Gln)	64
6. SONUÇLAR	66
KAYNAKLAR	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

17 β OHSD	: 17 beta Hidroksi Steroid Dehidrojenaz
17-OHP	: 17 Hidroksiprogesteron
3 β OHSD	: 3 beta Hidroksi Steroid Dehidrojenaz
AP	: Abazik (apürinik/aprimidinik)
APE1	: Aprürinik/aprimidinik endonükleaz 1
BER	: Baz eksizyon tamiri
BMP-15	: Bone morphogenetic protein-15
BRCT-1	: Meme kanseri yatkınlık proteini
CS	: Cockayne Sendromu
DHEA	: Dehidroepiandrosteron
DHEA-S	: Dehidroepiandrosteron Sülfat
EGF	: Epidermal Growth Faktör
ERCC	: Excision repair cross complementing
FAI	: Free androjen index
FEN1	: Flap endonükleaz 1
FG	: Ferriman-Gallwey
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
GDF9	: Growth/differentiation factor 9
GG-NER	: Global genomik NER
GH	: Büyüme Hormonu
GLUT4	: Glukoz taşıyıcı protein 4
GnRH	: Gonadotropin “Releasing” Hormon
GSH	: Glutatyon
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni “Human Leucocyt Antigen”
HR	: Homolog rekombinasyon
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IGFBP-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-1
IR	: İnsülin direnci
IRS	: İnsülin reseptör substrat
LH	: Luteinizan Hormon

LPO	: Lipidperoksidaz
MDA	: Malonildialdehit
MER	: Yanlış eşleşme tamiri
mM	: Minimol
NER	: Nükleotid eksizyon tamiri
NHEJ	: Serbest Uçların Non-homolog Bağlanması
ODGF	: Oosit Derived Growth Faktör
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör 1
PARP	: Poli(ADP-riboz)polimeraz
PC	: Protein karbonil
PCNA	: Poliferatif hücre çekirdek antijeni
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PKO	: Polikistik Over
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
pm/ μ l	: pikomol/mikrolitr
Pol β	: Polimeraz β
Pol δ/ϵ	: Polimeraz δ/ϵ
RFLP	: Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Revolution per minute
RT-PCR	: Real time-PCR
SHBG	: Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
SOD	: Süperoksit dismutaz
STR	: Short tandem repeat
TAS	: Total antioksidan düzeyi
TC-NER	: Transkripsiyonla ilişkili NER
TGF-B	: Transforming Growth Faktör-B
TNF- alfa	: Tümör nekroz faktör- alfa
VNTR	: Variable number of tandem repeats
XPA	: Xeroderma pigmentosum grup A
XPB	: Xeroderma pigmentosum grup D

XPF	: Xeroderma pigmentosum grup F
XPG	: Xeroderma pigmentosum grup G
XRCC1	: X-ray repair cross-complementing grup 1
μl	: mikrolitre

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Baz Eksizyon Onarımı	35
2.2. Nükleotid Eksizyon Onarımı	37

TABLÖLER

Tablo	Sayfa
2.1. Polikistik over sendromu tanı kriterleri	6
2.2. AES Tanı Kriterleri	6
2.3. PKOS belirti ve bulguları	16
2.4. PKOS'ta görülen hormon değişiklikleri	18
2.5. ACOG 2009 PKOS klinik rehberi değerlendirme önerileri	19
2.6. PKOS ile ayırıcı tanısı yapılması gereken klinik durumlar	21
2.7. PKOS hiperandrojenizm ayırıcı tanısı	22
4.1. Olguların fiziksel özellikleri.	50
4.2. Olguların menstrüel siklus düzenleri.	51
4.3. Olguların hirsutizm, sigara öyküsü ve polikistik USG sonuçları.	51
4.4. Olguların kan şekeri sonuçları.	52
4.5. Olguların lipid profili sonuçları.	52
4.6. Olguların hormon paneli.	53
4.7. Çalışma Gruplarına Ait XRCC1 Genotip ve Allel Dağılımı	54
4.8. Çalışma Gruplarına Ait APE1 Genotip ve Allel Dağılımı	56
4.9. Çalışma Gruplarına Ait XPD Genotip ve Allel Dağılımı	58

GRAFİKLER

Grafik	Sayfa
3.1. XRCC1-GG (homozigot yabanıl)	46
3.2. XRCC1-AA (homozigot mutant)	46
3.3. XRCC1-GA (heterozigot mutant)	46
3.4. XRCC1-GG, AA, GA	46
3.5. APE-CC (homozigot yabanıl)	47
3.6. APE-AA (homozigot mutant)	47
3.7. APE-CA (heterozigot mutant)	47
3.8. APE-CC, AA, CA	47
3.9. XPD-TT (homozigot yabanıl)	48
3.10. XPD-GG (homozigot mutant)	48
3.11. XPD-TG (heterozigot mutant)	48
3.12. XPD-TT, GG, TG	48
4.1. XRCC1 Arg399Gln için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri	54
4.2. XRCC1 Arg399Gln için PKOS ve kontrol gruplarında G (Arg) ve A (Gln) allel frekansları	55
4.3. APE1 Asp148Glu için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri	56
4.4. APE1 Asp148Glu için PKOS ve kontrol gruplarında C (Asp) ve A (Glu) allel frekansları	57
4.5. XPD Lys751Gln için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri	58
4.6. XPD Lys751Gln için PKOS ve kontrol gruplarında T (Lys) ve G (Gln) allel frekansları	59

ÖZET

Dr. Ulviye KINA. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda XRCC1, APE1 ve XPD DNA Onarım Genlerindeki Genetik Polimorfizmin Araştırılması. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bolu, 2013

Polikistik over sendromu (PKOS); reproduktif dönemdeki kadınların yaklaşık %5-10'unu etkileyen, kronik anovulasyon ve hiperandrojenizm ile karakterli kompleks, kronik seyirli, metabolik bir hastalıktır. Oksidatif stres ile PKOS ilişkisini araştıran çalışmalara göre oksidatif stresin PKOS patofizyolojisinde potansiyel faktör olduğu ileri sürülmüştür. Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır. DNA hasarının yoğunluğuna bağlı olarak hücre siklusunun durdurulması, gen ekspresyonunun değişmesi, DNA tamirinin uyarılması ve programlanmış hücre ölümünün artması başta olmak üzere birçok hücresel yanıt tetiklenir. DNA tamir geni polimorfizmleri DNA tamir enzimlerinin fonksiyonlarını değiştirebilmektedir. Biz çalışmamızda DNA onarım genlerinden XRCC1 Arg399Gln, XPD Lys751Gln, APE1 Asp148Glu polimorfizmi ile Polikistik Over Sendromu arasındaki ilişkiyi araştırdık. PKOS hastası 105 ve kontrol grubundaki 90 sağlıklı kadından alınan kan örneklerinden DNA izole edildi. Genotipler RT-PCR yöntemi ile tanımlandı. Çalışmamızda, APE1, XRCC1 ve XPD genlerinde genotip ve allelleri yönünden kontrol grubu ve hasta grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: PKOS, DNA onarım genleri, XRCC1, APE1, XPD

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje numarası 2012.08.02.474).

ABSTRACT

Dr. Ulviye KINA. To investigate the DNA repair gene XRCC1, APE1 and XPD polymorphism in patients with polycystic ovary syndrome. Department of Obstetric and Gynecology, Faculty of medicine, Abant İzzet Baysal University, Bolu, Turkey, 2013

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a complex metabolic disease with a chronic course that characterized with chronical anovulation and hiperandrogenism and affects 5-10% of the women in reproductive period. Oxidative stress was suggested as a potential factor in the pathophysiology of PCOS according to the studies investigating the relationship between PCOS and oxidative stres. Oxidative stress indicates the imbalance between antioxidant defence and ROS production and causes tissue damage in the end. Depending on severity of DNA damage, many cellular response are triggered such as stopping cellcycle, transition of gene expression, stimulation of DNA repair and increased programmed cell death (apoptosis). Polymorphisms of DNA repair genes might change the function of DNA repair enzymes. In our study we investigated the relationship between DNA repair genes (XRCC1 Arg399Gln, XPD Lys751Gln, APE1 Asp148Glu) polymorphism and polycystic ovary syndrome. DNA was isolated from the blood sample of 105 woman with PCOS and 90 healthy controls. Genotypes was defined with RT-PCR assay. In our study there were no significant difference between study and control groups for APE1, XRCC1 and XPD genes and alleles.

Key Words: PCOS, DNA repair genes, XRCC1, APE1, XPD

This study was supported by Abant İzzet Baysal University Scientific Research Projects Unit (Project no 2012.08.02.474).

1. GİRİŞ

Polikistik over sendromu (PKOS); reproduktif dönemdeki kadınların yaklaşık %5-10'unu etkileyen, anovulasyon ve hiperandrojenizm ile karakterli kompleks, kronik seyirli, metabolik bir hastalıktır. PKOS, patofizyolojisi ve endokrinolojisi halen tam olarak anlaşılamamış olsa da, insülin rezistansı, santral sinir sistemi, hipofiz bezi, overler, adrenal glandlar ve ekstraglandüler dokular arasındaki etkileşimlerin bozulmasına bağlı olarak yaşamın herhangi bir döneminde ortaya çıkabilmektedir (1).

PKOS'un uzun dönemde infertilite, rekürren spontan abortus, hiperlipidemi, Tip II DM (diyabetes mellitus), hipertansiyon, koroner ateroskleroz, endometriyal hiperplazi ve kanser gelişimi açısından risk oluşturmaları ve yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemesi, sendromun fizyopatolojisi ve tedavisinin jinekologlar ve endokrinologlar tarafından detaylı bir şekilde araştırılmasına neden olmuştur. Ancak sendromun multifaktöryel oluşu ve prezentasyonundaki heterojenite fizyopatolojisinin tam olarak anlaşılmasını zorlaştırmaktadır (1).

PKOS'lu hastalarda kronik karşılanmamış östrojen etkisi, kronik anovulasyon, obezite ve hiperinsülinemi endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom riskini artıracak özelliklerdir (2). Anovulasyon, endometriumun östrojenin mitojenik etkilerine maruz kalmasına ve progesteronla karşılanamayan bu etkinin sürekli olmasına neden olur, sonuçta atipili veya atipisiz endometrial hiperplazi ve kanser sıklığı artar (3). Östrojen ve metabolitleri, DNA'da direkt hasar ile tümör gelişiminde rol oynamaktadır (4). Aynı zamanda östrojen ve metabolitleri redox siklusuna girer ve oksidatif stres oluşturan, lipid peroksidasyonu (5) yapan ve DNA hasarına sebep olan oksijen radikalleri oluşturur (4,6).

Aşırı reaktif oksijen molekülleri, DNA da oksidatif yıkımlara, DNA zincir kırılmalarına, temel değişikliklere ve kromozomal aberasyonlara yol açmaktadır (7). Oksidatif DNA hasarının onarımı için, insan hücreleri, 5 farklı DNA tamir sistemi tarafından desteklenmektedir (8). Direk tamir, Mismatch (yanlış eşleşme) onarımı (MER), çift sarmal kırık tamiri, baz kesip çıkarma onarımı (BER) ve nukleotid çıkarma tamiri (NER) (8). Oksidatif yolla oluşan tek sarmal kırığı gibi DNA

lezyonlarının neredeyse tamamı tek hücreli E.Coli'den memelilere kadar geniş bir organizma yelpazesinde BER yolu ile onarılır (9,10).

Apurinic/aprimidinic endonuclease (APE1) ve X-ray repair cross-complementing-1 (XRCC1) genleri BER yolunun kilit genleridir (8).XRCC1 geni BER mekanizmasında, en sık görülen hücresel DNA hasarı olan tek zincir kırıklarının tamirinde rol alan bir proteini kodlamaktadır. XRCC1'de mutasyon olan hücrelerde DNA tamir kapasitesinde değişiklikler meydana gelebilmektedir (11). APE1, BER yolunun hız sınırlayıcı enzimidir (12,13) ve hatalı bazın çıkartılmasıyla geride kalan abazik bölgede görev alarak BER sürecini başlatır (14).

UV ışınları tarafından oluşturulan cyclopyrimidine dimerlerinin ve 6-4 ışın ürünlerinin ve başka kimyasal ajanlar tarafından oluşturulan zararlanmaların uzaklaştırılmasında NER ana yolaktır (15). NER yolağı DNA hasarı tanınmasında, insizyonda, DNA ligasyonunda ve tekrar sentezlenmesinde görevli 30 çeşitproteinden meydana gelir (16). NER yolağı, xeroderma pigmentosum (XP) veya excision repair cross complementing (ERCC) olarak adlandırılan çeşitli genlerden oluşur. Bu yolaktaki en önemli genler XPA, ERCC1, ERCC2/XPD, ERCC4/XPF ve ERCC5/XPG'dir (17).

PKOS ile over ve endometrium kanseri arasındaki ilişkinin DNA onarım genlerindeki defektlerle ilişkili olabileceğini düşünerek bu çalışmayı planladık ve XRCC1, XPD, APE1 DNA tamir geni polimorfizmlerini PKOS ve kontrol grubunda inceleyerek, bu polimorfizmler ile PKOS arasında nedensel bir ilişki olup olmadığını ortaya koymayı amaçladık.

Literatür tarandığında XPD, APE1 ve XRCC1 DNA onarım genleri jinekoloji ve obstetride; endometriozis, leiomyom, pre-eklamps ve endometrium kanserinde çalışıldığı tespit edilmiştir (18,19,20,21,22,23).

Yaptığımız literatür araştırmasında, bu tarihe kadar Türkiye'de ve yurtdışında Polikistik Over Sendromu ile APE1, XRCC1 ve XPD DNA onarım genlerindeki genetik polimorfizm arasındaki ilişkiyi araştırmış olan herhangi bir çalışmaya rastlayamadık.

Bildiğimiz kadarıyla, bizim çalışmamız DNA tamir genleri ve PKOS arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışmadır ve güncel literatüre önemli bir katkı sağlayabilir.

Polikistik Over Sendromu ile APE1, XRCC1 ve XPD DNA onarım genlerindeki genetik polimorfizm arasında herhangi bir ilişki tespit etmemiz durumunda ve hatta ilişki olmadığını dahi tespit etmemiz durumunda, bu konudaki literatür boşluğunun doldurulacağını ve gelecekte yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polikistik Over Sendromu

2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Polikistik over sendromu (PKOS), hipotalamik-hipofizer-ovaryan-adrenal dokular arasındaki etkileşimlerin bozulması sonucu; üreme çağının herhangi bir döneminde ortaya çıkan kronik seyreden, yaşam kalitesini olumsuz etkileyebilen kompleks bir hastalıktır (24). Hiperandrojenizm, kronik anovulasyon, infertilite, hirsutizm, artmış insülin rezistansı, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalık, endometrium ve over kanseri ile ilişkilidir (2). PKOS, ilk olarak 1935 yılında Irving F. Stein ve Michael L. Leventhal tarafından amenore, hirsutizm, anovulasyon ve büyük polikistik overlerle karakterize semptomlar kompleksi olarak tanımlanmıştır (25,26). 1958’de McArthur, Ingersoll ve Worcester ilk biyokimyasal bozukluk olarak PKOS’lu kadınlarda artmış üriner LH (Lüteinizan Hormon) seviyelerini ortaya koymuştur (27). 1970 ve 1980’lerde yükselmiş LH ve Testosteron seviyeleri tanıda kullanılmaya başlanırken, 1980’lerde LH ve FSH (Folikül Stimulan Hormon) oranlarının LH lehine yükseldiği ortaya kondu (28). Periferik aromatzasyon nedeniyle, Östron (E₁)/ Östradiol (E₂) oranının, E₁ lehine arttığına dikkat çekildi (25,29,30). Son olarak bu tanımlara insülin direnci ve hiperinsülinemi de ilave edilmiştir (25,29). Ultrasonografideki gelişmelerle birlikte over morfolojisindeki değişiklikler tanıda kullanılmak üzere gündeme gelmeye başlamıştır (31). Bugün ise PKOS’un insülin direnci, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar gibi birlikteliği kanıtlanmış metabolik bozukluklarla birlikte bulunduğu ve bunların insan sağlığına uzun dönem etkileri üzerinde durulmaktadır (32).

2.1.2. Tanı kriterleri

Polikistik over sendromu tanısı koyulurken spesifik bir endokrin veya klinik kriter üzerinde ısrar edilmesi, bu hastaların gerçekte üyesi oldukları geniş spektrumdan ayrılarak bu spektrumun izole bir parçası halinde yorumlanmasına neden olmaktadır (33).

Birçok araştırmacı; kıllanma artışı, düzensiz menstrüel siklus, obezite ile başvuran, ultrasonografi (USG)’de PKO (polikistik over) görünümü olan kadınlara klinik olarak PKOS tanısı konulması konusunda hemfikirdir (34).

Klinik olarak farklı fenotiplerin olması ve başka endokrin sorunlarla benzerliği nedeniyle konu birçok uluslararası toplantıda tartışılmış ve tanı için kriterler belirlenmiştir. İlk olarak 1990 yılında “National Institutes of Health” (NIH) ve “National Institute of Child Health and Human Development” (NICHD) konsensus konferansında (Tablo 2.1) orjinal tanı kriterleri belirtilmiş olup; PKOS tanısı için klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ile kronik anovülasyon bulunması ve Cushing sendromu, hiperprolaktinemi, klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi gibi PKOS benzeri kliniğe yol açabilecek diğer nedenlerin ekarte edilmesi gerektiği öne sürülmüştür (35). Tanım ve klinik görünümdeki çeşitliliği netliğe kavuşturmak amacı ile 2003 yılında Rotterdam’da ESHRE/ASRM ortak toplantısında kriterler gözden geçirilip, klinik ve biyokimyasal değerlendirme yanında, özellikle over hacmi ve follikül sayısını göz önünde bulunduran ultrasonografik değerlendirmenin de tanı kriterleri arasında yer aldığı belirtilmiştir (36). Ultrasonografik olarak PKO görünümünün tanımı da tekrar değiştirilmiş ve en az tek taraflı 2-9 mm’lik 12 adet follikül varlığı veya en az 10 cm³’lük over hacmi esas alınmıştır. Foliküllerin overdeki dağılımı (periferik veya santral) ile stromadaki morfolojik değişiklikler (stromal hiperekojenite gibi) tanı kriterlerine dahil edilmemişlerdir (2,37,38).

PKOS da Rotterdam kriterleri iki yeni fenotip belirlemiştir. Polikistik overleri ve ovulatuvar disfonksiyonu olup hiperandrojenizmi olmayanlar ile polikistik overleri ve klinik ve/veya biyokimyasal olarak hiperandrojenizmi olup ovulatuvar disfonksiyonu olmayanlar da PKOS tanısı alacak gruba dahil edilmişlerdir (36). Bu ikinci gruba ovulatuvar PKOS da denmektedir. Ovulatuvar PKOS fenotipi PKOS’lu popülasyonun küçük bir kısmını oluşturmakta ve anovulatuvar PKOS’lu hastalara göre androjenik ve metabolik özellikler daha az belirgin olmaktadır (39). Bundan sonra birçok bilimsel tartışmada sonografik bulguların tanısal değerinin olup olmadığı ve değişik fenotiplerin sistemik ve metabolik açıdan etkilenme profilleri incelenmiştir (40,41).

2006 yılında Androgen Excess and PKOS Society (AEPS) tarafından düzenlenen konsensus toplantısında NIH kriterleri yeniden modifiye edilerek, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizmin sendromun en önemli ve uzun dönem metabolik riskler ve morbidite üzerine en etkili olan mutlak tanı kriteri olduğu

belirtilmiştir. Bu kriterlere göre menstrual bozukluk ve polikistik over morfolojisi olan fenotip klinik önemini yitirmiştir (39).

Tablo 2.1. Polikistik over sendromu tanı kriterleri (36).

1990 National Institutes of Health Tanı Kriterleri 1. Kronik anovülasyon 2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ve diğer etyolojik nedenlerin ekarte edilmesi
2003 Rotterdam Yeniden Gözden Geçirilmiş Tanı Kriterleri* 1. Oligo-anovülasyon 2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları 3. Polikistik overler ve diğer etyolojik nedenlerin ekarte edilmesi (en az tek taraflı 2-9 mm'lik 12 adet follikül varlığı veya en az 10 cm ³ 'lük over hacmi esas alınmıştır) *Tanı için üç kriterden ikisinin bulunması gerekmektedir.

Tablo 2.2. AES Tanı Kriterleri (39)

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

2.1.3. Prevalans

Bir çok toplumda yapılan prevalans çalışmaları olmasına rağmen çeşitli tanı kriterlerinin varlığı nedeniyle farklı sonuçlar çıkmakla beraber NIH kriterleri ele alındığında Yunanistan'a ait bir adada yapılan çalışmadan gelen veriler PKOS prevalansını %6.8, İspanya'da kan donörlerinde yapılan çalışma %6.5, Oxford üniversitesinden gelen veriler ise %8 olarak bildirmiştir (42,43). En son yapılan en büyük toplum tabanlı çalışmada ise prevalans $8,7 \pm 2$, diğer verilerden biraz daha yüksek olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada ilk kez Rotterdam ve AES kriterlerine göre de prevalanslar çalışılmış ve sırasıyla $11,9 \pm 2,4$ ve $10,2 \pm 2,2$ olarak

belirlenmiştir (44). Bu veriler dikkate alındığında NIH kriterlerine göre PKOS prevalansı %6.5-%8.7 arasında değişmektedir.

Bu rakamlar Türkiye nüfusuna oranlandığında yaklaşık 1 milyon PKOS hastası olduğu görülmektedir. Diğer kriterler özellikle de Rotterdam kriterleri kullanıldığında bu rakamlar %20-60 civarında artış göstermektedir (44,45).

2.1.4. Etyopatogenez

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

Bu sistemler aşağıdaki gibi sıralanmaktadır;

- 1- Hipotalamo-hipofizer disfonksiyon,
- 2- Abartılmış adrenarş,
- 3- İnsülin direnci ve hiperinsülinemi,
- 4- Steroidogenez değişiklikleri,
- 5- Obezite,
- 6- Genetik faktörler,
- 7- İntraovaryan faktörler.

2.1.4.1 Hipotalamo-Hipofizer Disfonksiyon

Normal menstrüel siklusta hipotalamustan pulsatil olarak salınan gonadotropin releasing hormon (GnRH) hipofizden pulsatil FSH ve LH salınımına yol açar. PKOS olgularında santral gonadotropin dinamiğinde sapmalar vardır. LH pulslarının amplitüdü ve frekansı ile ortalama serum LH konsantrasyonu artmış olarak tespit edilmektedir. Bu değişikliklere GnRH pulse sıklığının artışı, GnRH'ye yanıt artışı ve yüksek östrojen düzeylerinin neden olduğu düşünülmektedir (2,46). Özellikle LH “pulse” frekansındaki artış, PKOS olgularında LH/FSH oranının artmasına neden olur (47). PKOS'lu hastalarda LH'nın aksine hipofizer FSH sekresyonu, erken folliküler fazda belirgin olarak düşük tespit edilmektedir (48). Düşük FSH düzeyinin 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 arttırmasının patogeneizde rol oynadığı düşünülmektedir (28,49).

2.1.4.2. Abartılmış adrenarş

Adrenarş; adrenal androjenlerin etkisiyle ortaya çıkan, pubik ve aksiler kıllanma ile karakterize bir dönemdir.

Abartılmış adrenarş teorisine göre; PKOS geliştirmeye aday adolesanlar adrenarşı abartılı yaşar ve PKOS ancak peripubertal aşırı adrenarş ve fizyolojik insülin rezistansı birlikte olunca gelişir. Bütün androjenik hormonlar ve bunların prekürsörleri PKOS'lu olgularda artmıştır. Bunlar potent androjenik steroidleri, 17 β -hidroksisteroidleri ve dahaaz androjenik ancak önemli prekürsörler olan 17-ketosteroidleri içerir. Ayrıca 17 α -hidroksiprogesteron konsantrasyonu yükselmiştir. PKOS'lu olgularda dolaşımda yüksek seviyelerde bulunan DHEA (Dehidroepiandrosteron) ve DHEA-S (Dehidroepiandrosteron Sülfat) deksametazon supresyonu sonrasında baskılanır. Oysa deksametazon verilmesini takiben testosteron ve androstenedion seviyeleri, 17-OH progesteron kadar baskılanmaz. DHEA ve DHEA-S adrenal kaynaklıyken testosteron ve androstenedion overler tarafından da sentezlenir. GnRH agonisti ile endojen gonadotropin stimülasyonu yapılırsa artmış ovaryan 17-OH progesteron cevabı oluşması PKOS'lu olgularda artmış p450c17 enzimatik aktivitesine işaret eder. Bu enzimatik hiperfonksiyonun adrenal ve overde beraber mi olduğu veya önce adrenalde olan bu durumun sekonder olarak overde mi devam ettiği konusu net değildir (50).

Pubertede fizyolojik olarak insülin rezistansı gelişir; IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü) ve GH (Büyüme Hormonu) sekresyonlarında artış, SHBG (Seks Hormon Bağlayıcı Globulin) ve IGFBP-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein-1) sekresyonlarında düşüş meydana gelir. Artmış adrenal androjenler periferde ekstraplandüler olarak estrojene dönüşür, bu artmış estrojen de pubertede hipofizin endojen GnRH'ya sensitivitesini arttırır. Bu da LH'ya bağımlı androjen yapımını arttırır. Pubertal insülin rezistansı hiperandrojenizmin adrenalenden overe taşınmasına yardım ediyor gibi yorumlanabilir. Bir kez PKOS tablosu oluştuktan sonra, olguların %50'sinde adrenal androjenler yüksek olarak devam eder. PKOS'lu olguların %50'sinde kombine adrenal ve ovaryan hiperandrojenizm

gözlenir ki bu da zona retikularisin hiperfonksiyonuna ve 17-20 liyaz enzimi yüksekliğine işaret eder (50,51).

2.1.4.3. İnsülin direnci ve hiperinsülinemi

İnsülin, pankreasın β (beta) hücrelerinden salgılanan polipeptit yapıda bir hormondur. Bu hormonun hedef dokuları karaciğer, kas ve yağ dokusudur. İnsülin, karaciğerde glukoneojenezi ve glikojen yıkımını inhibe ederek hepatik glukoz üretimini baskımlarken, kas ve yağ dokusuna periferik glukozun alınmasını, protein sentezlenmesini, hücre büyümesini ve farklılaşmasını uyarır. Aynı zamanda yağ dokusunda lipolizi inhibe eder (52,53).

İnsülinin etkileri:

1. Direkt olarak ovaryan steroidogenezi uyarır.
2. Steroidogenezi uyarmada LH ve FSH ile sinerjik etki gösterir.
3. ACTH'a (Adrenokortikotropik Hormon) adrenal duyarlılığı artırır.
4. LH sentez ve pulsatilitesini artırır.
5. LH'ya teka hücre duyarlılığını artırır.
6. Adrenal ve ovaryen 17- α hidroksilaz ve 17-20 liyaz aktivitelerini artırır.
7. IGFBP-1 düzeyini azaltır.
8. Ovaryen IGF-1 reseptörlerinde "up" regülasyon yapar.
9. Hepatik SHBG sentezini inhibe eder.
10. Ovaryen büyüme ve kist oluşumunda FSH ve human koryonik gonadotropin ile sinerjik etki gösterir (54,55,56,57).

İnsülin direnci, vücudun kendi insülin hormonuna karşı bozulmuş metabolik cevabı, bu cevaptaki kısıtlılık olarak tarif edilebilir. Özellikle kas, karaciğer ve yağ dokusu hücreleri glukozu normalde olduğu gibi metabolize edemezler. Bu durum reaktif olarak insülin düzeyinin yükselmesine ve hiperinsülinemi denen kronik bir duruma neden olur. İnsülin direnci ve beraberinde kompensatuvar hiperinsülinemi, hem zayıf (%30) hem de obez (%75) PKOS hastalarında sık görülen bir bulgudur (58,59).

İlk kez 1980 yılında Burghen ve arkadaşları tarafından obez PKOS'li hastalarda hiperandrojenizm ve hiperinsülineminin pozitif lineer korelasyonunun bulunmasının ardından birçok çalışmada zayıf ve obez PKOS hastalarında insülin

direnci gösterilmiştir, ancak ne obezite ne de tek başına androjen fazlalığı PKOS’de görülen insülin etki bozukluğunu açıklamamaktadır (60,61). Ayrıca, her PKOS hastasında insülin direnci olmadığı gibi, insülin direnci ölçümü PKOS tanı kriterleri arasında da yer almaz (62). İnsülin direncini inceleyen bazı çalışmalarda, insülinin reseptöre bağlanması normal iken, insülin-aracılı glukoz transportunun azalmış olduğu (artmış serin fosforilasyonuna bağlı postreseptör defekt) saptanmıştır (60).

İnsülin reseptörü, 2 alfa ve 2 beta birimlerinden oluşmuş bir heterodimerdir. Alfa birimleri ekstrasellülerdir, insülini bağlar. Beta birimleri ise membran boyunca olup, intrasellüler bölümü tirozin kinaz enzimatik aktivitesi içerir. Tirozin kinaz aktivitesi insülin etkisinin büyük çoğunluğundan sorumludur (63).

PKOS’lu hastalarda meydana gelen insülin direncinin, hücre içinde insülin reseptörü bağımlı sinyal iletiminde meydana gelen postreseptör defekt nedeniyle oluştuğu bulunmuştur. İnsülin reseptör fosforilasyonundaki intrinsik bir genetik anormallik sonucunda insülin-bağımsız serin fosforilasyonun artış gösterip insülin-bağımlı tirozin fosforilasyonun azalması sonucunda, dokularda insülin duyarlılığı azalmakta ve hiperinsülinemi gelişmektedir (64,65,66). Normalde insülin bir kez reseptöre bağlanınca spesifik tirozin rezidülerinin fosforilasyonu gerçekleşir ve bu da reseptörün intrasitoplazmik kısmının insülin reseptörsubstrat-1 gibi diğer hücre içi substratların fosforilasyonuna izin verir. Bu sayede adipoz doku ve iskelet kasında glukoz transporter protein-4 (GLUT-4) aracılığıyla hücre içine glukoz transportu sağlanır. İnsülin reseptörlerindeki tirozin rezidülerinin fosforilasyonu gerçekleşirken, reseptörde serin rezidüsü fosforile olduğunda, bu durum reseptördeki tirozin rezidülerinin fosforile olmasını engeller. Serin fosforilasyonu olursa postreseptör etki inhibe olur; GLUT-4, glukoz transportu yapamaz (67,68,69).

Postreseptör sinyal ileti defektlerinden bir diğeri de, TNF- α (tümör nekroz faktör-alfa)’dır. Obez PKOS’lu olgularda artan TNF- α , insülin reseptörü beta alt biriminin sayısını azaltıp, serin fosforilasyonunu artırarak insülin direncine katkıda bulunmaktadır (70).

PKOS’da insülin direnci gelişimi ile ilgili bir diğer faktör de inositol içeren fosfoglikanların azalmasıdır. İnositol ilavesi ile ovulasyonda düzelme ve androjen, lipid, insülin düzeylerinde azalma gözlenmiştir (71).

İnsülin direnci olan hastalarda klinik bulgular, hedef dokudaki insülin direncinin pankreas tarafından kompanse edilip edilmediğine göre değişmektedir. Başlangıçta kompensasyon etkin olup, tek metabolik anormallik hiperinsülinemidir. Birçok hastada pankreasın beta hücreleri, sonunda bu tempoya cevap verememekte ve insülin düzeyleri azalarak önce glukoz toleransında bozulmaya yol açmakta, daha sonra tip-2 insüline bağımlı olmayan diyabet gelişmektedir (72).

PKOS'lu hastalarda insülin rezistansı ve oluşan hiperinsülinemi, hiperandrojenizm gelişiminde önemli bir faktördür. Hiperinsülinemi üç yolla hiperandrojenizm yapar. Bunlar (73);

1)İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) reseptörleri ve insülin reseptörleri aynı yapıdadır. IGF-1'in teka hücrelerinin LH'a karşı androjen cevabını artırıcı etkisi vardır. IGF-1 reseptörlerinin insülin tarafından aktive edilmesi teka hücrelerinde androjen sentezini arttırmaktadır.

2)Artmış insülin, seks steroidleri üzerinde bir etki yapmaksızın karaciğerde SHBG sentezini inhibe eder (74). SHBG nin azalması daha fazla östrojen ve androjenin biyolojik etkinlik göstermesini sağlamaktadır.

3)Yemek sonrasında olduğu gibi artmış insülin düzeyleri karaciğeri etkileyerek IGFBP-1 sentezini azaltmakta, böylece dolaşımdaki IGFBP-1 miktarı azalmaktadır. IGFBP-1 düzeylerindeki azalma IGF-1 düzeylerindeki artışla sonuçlanır. IGF-1 artışı teka androjen sentezinin artması ile hiperandrojenizm ve endometriyumda büyümeye ve endometriyum kanserine yol açar (75).

2.1.4.4. Steroidogenez değişiklikleri

PKOS'da over/adrenal bez steroidogenezinde pek çok değişiklik bulunmuştur. Artmış LH düzeyi overlerde cAMP artışı ile steroidogenez androjenlerin üretimi yönünde etkiler ki bu da follikül gelişiminde duraklama ile sonuçlanmaktadır. Klinik olarak GnRH agonistlerinin PKOS'lu hastalarda kullanılması ile normal kadınlara göre teka hücrelerinde artmış androstenedion ve 17 (OH)progesteron saptanması bu hücrelerde de novo steroidogenez farklılığını (sitokrom P450c17 gen overekspresyonu) düşündürmektedir. Bu sistemi LH'nın selektif olarak etkiliyor olması da muhtemeldir (76).

Teka hücrelerinde insülin, IGF-1, IGF-2 reseptörleri bulunmaktadır ve bu reseptörlerin uyarılmasının over androjen üretiminde etkileri olduğu saptanmıştır (77). İnsülinin etkisi tam olarak bilinmemekle beraber hiperinsülineminin düzeltilmesi ile LH'de değişiklik olmaksızın serum androjen düzeylerinde azalma gösterilmiştir. PKOS'lu hastaların %20-50'sinde artmış DHEA-S ve 11 β (OH)Androstenedion seviyeleri adrenal bezin artmış androjen üretimini göstermektedir (78). Ancak ACTH seviyeleri normal kadınlardakine benzer düzeylerde tespit edildiğinden, farklılığın ACTH'ye yanıtta kaynaklanabileceği ya da ACTH dışı faktörler ile adrenal bezin uyarıldığı düşünülmektedir. PKOS'da DHEAS düzeyleri, bazal ve ACTH uyarısına artmış adrenal androjen sekresyon yanıtında genetik faktörler önemlidir (79). Adrenal artmış androjen sentezinin PKOS patogenezindeki yeri tam olarak bilinmemektedir. (80).

2.1.4.5. Obezite

Polikistik over sendromlu kadınlarda vücut kitle indeksi genelde normal kabul edilen sınırın üzerindedir. PKOS'da obezitenin görülme sıklığı %40-60 olarak bildirilmektedir (81,82). Obezite genelde santral /android obezite şeklindedir. Santral obezitede bel/kalça oranı daha fazladır. Bu tip obezitede karın duvarında, visceral mezenterik bölgelerde yağ doku birikimi olur. Bu yağ dokusu katekolaminlere karşı duyarlı, insüline karşı ise daha duyarsız olduğundan metabolik olarak daha aktiftir. Kilo artışı ve santral yağ dağılımı ile birlikte, hiperinsülinemi, glikoz intoleransı, diyabetes mellitus ve androjen yapım hızında artış olur. Androjenlerdeki artış, SHBG düzeyini azaltarak serbest testosteron ve östrodiol düzeylerinde artışa neden olmaktadır (34,83,84). Ayrıca vücutta android obezite varlığında, hipertansiyon, olumsuz lipid ve lipoprotein profilleri gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin olduğu görülmektedir.

Polikistik over sendromlu hastalarda obezitenin üç mekanizma üzerinden etki ederek ovulasyonu engellediği tahmin edilmektedir:

- 1) Androjenlerin periferde östrojenlere aromatisasyonunun artması ve bu yüzden overdeki lokal androjen seviyelerinin düşmesi.
- 2) Seks hormon bağlayan globulin seviyelerinin düşmesi ve bunun da serbest östrodiol ve testosteron seviyelerini artırması.

- 3) İnsülin direnci nedeniyle ortaya çıkan hiperinsülinemi nedeniyle overdeki stromal androjen yapımının artması (2).

2.1.4.6. Genetik faktörler

PKOS, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan ve bireysel farklılıklardan dolayı heterojen görünüm sergileyen ailesel, kompleks bir hastalıktır. PKOS gelişiminde rol oynayabilecek olası genetik defektlerin incelendiği değişik çalışmalar sendromunkompleks, poligenik bir bozukluk olduğunu göstermektedir (85). Tek başına herhangi bir genetik defekt tanımlanmamıştır. Çevresel faktörlerle birlikte çeşitli genetik defektlerin aşırı androjen üretimi ve insülin ile ilgili bozukluklara neden olduğu düşünülmektedir (3). Etiyopatogeneizde en çok androjen sentezi ve metabolizması, gonadotropin salınımı ve düzenlenmesi, insülin salınım ve sinyalizasyon kaskadındaki genler üzerinde durulmaktadır (86).

Ailesel polikistik over sendromuile ilişkili geniş çaplı çalışmalar az sayıdadır. Cooper 1968, Ferriman 1979, Lunde 1989 ve Carey 1993'te yaptıkları aile çalışmalarında otozomal dominant geçiş tanımlamışlardır. Givens 1988'deki çalışmasında X'e bağlı geçiş tanımlarken, Hague 1988'de otozomal dominant geçiş modeli ile açıklamıştır (3).

İnsülin geni ile ilgili çalışmalarda 11. kromozomun uzun kolunun 15.5 bölgesinde yerleşimli VNTR (farklı sayıda tekrarlı tandemler)'ler araştırılmıştır. Bu tekrar sayısı farklılıkları insülin sentezi ile ilişkilidir. İnsülin geni insülin sekresyon ve rezistansı ile ilişkilidir. VNTR'deki varyasyonların insüline bağımlı olmayan diyabet ve insülin regülasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bennett 1995'te VNTR'lerin bimodal dağılımı olduğunu söylemiştir. Bu tekrarlı alanların klas1 ve klas3 allelleri vardır. Klas1 allelleri 40, klas3 allelleri ise 157 kez tekrarlanmaktadır. Klas3 allellerin daha güçlü olarak polikistik over sendromu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. İlginç olan bir sonuç da klas3 allellerinin daha çok babadan aktarılmasıdır (87).

Polikistik over hastalarından alınan teka hücreleri ile yapılan çalışmada, CYP 11A, 3BHSD2 (3 β -hidroksisteroid dehidrojenaz-2), CYP17 genlerinden artmış miktarda mRNA üretimi ve bununla bağlantılı artmış testosteron, 17-OH progesteron ve progesteron üretimi tespit edilmiştir (88). İnsülin direncinin ise insülin reseptör

substrat-1 (IRS-1), IRS-2, Calpain-10 ve insülin reseptörü lokusu yakınındaki genlerden biri olan fibrillin-3 geni ile (19p13.2) ilişkilendirilebileceği, bunların iştah ve yeme alışkanlıklarını etkileme yoluyla çevresel yönden de etkili olabileceği belirtilmiştir (89). Postreseptör sinyalizasyon bozuklukları üzerine yapılan bir çalışmada PIK3R1, SLC2A4, SLC2A4RG ve MEF2A genleri çalışılmış, fakat PKOS grubu ile normal kontrol grubu arasında bu genlerde tek gen polimorfizmi açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (90).

Follistatin birkaç şekilde hiperandrojenizm ve anovulasyona katkıda bulunduğu düşünülen bir moleküldür. Aktivin bağlaması sayesinde FSH aktivitesinin azalmasını sağlayıp, folliküler duraklamaya neden olurken aynı zamanda aromataz antagonizması yaparak artmış ovaryan androjen üretimine katkıda bulunmaktadır. Bir bilimsel araştırmada Follistatin genine ait 7 adet tek nükleotid polimorfizmi (SNP) çalışılmış olup, bunlardan bir tanesinin SHBG seviyeleri ve FAI (free androjen index) ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (91).

Follikülogenez ile ilgili genlerden GDF9, BMP15, AMH ve AMHR2 tek nükleotid polimorfizmi açısından değerlendirilmiş, fakat bu genlerin PKOS'na genetik yatkınlıkta majör belirleyici genler olmadığı sonucuna varılmıştır (92).

Genetik faktörler sendromun gerek reproduktif gerekse metabolik fenotiplerinin gelişmesinde önemli katkıda bulunmaktadır. PKOS'li hastaların anne ve kız kardeşlerinde hiperandrojenizm ve menstrüel disfonksiyonun artmış sıklıkta bulunmasının yanı sıra, baba ve erkek kardeşlerde de serum androjen düzeyleri artmış gibi görünmektedir. Ayrıca, tüm birinci derece yakınlarda insülin direnci ve değişik derecelerde glukoz homeostaz bozukluklarının görülme riski, yaş ve beden kitle indeksi (BKİ) eşleştirilmiş sağlıklı kontrollere göre artmıştır (93).

2.1.4.7. İntraovaryan faktörler

Polikistik over sendromunda overde enzimatik veya hormonal mekanizmalarda defekt olabileceği öne sürülmüştür. Histolojik incelemelerde polikistik over sendromunda overde; yüzey alanı, ortalama hacim ve atretik follikül sayısı artmıştır. Tunika albuginea kalınlığı %50, kortikal stroma kalınlığı 5 kat ve over hilus hücre sayısı 4 kat artmıştır. Bu değişikliklerin polikistik over sendromunda primer mi sekonder mi olduğu tartışılmıştır. Belli süre anovulasyon olan

kadınlardada bu görüntü oluşabilmektedir (oral kontraseptif kullanımı sonrası gibi). Bu nedenle bu değişikliklerin sekonder olduğu düşünülmektedir. Folikül mikroçevresindeki androjen hakimiyetinin östrojen hakimiyetine dönüştürülememesi oositlerde yeterli matürasyonun olmasını engeller. Granüloza hücrelerinde bazal ve FSH ile stimüle edilmiş aromataz aktivitesinin normal olması fakat aromatzasyonun olmaması bu konuda çeşitli büyüme faktörlerinden kaynaklanan bozukluk olabileceğini düşündürmektedir. Teka hücrelerinden sentezlenen testosteron ve androstenedionun, granüloza hücrelerinde aromataz aktivitesi ile östradiol ve östrona dönüştürülememesi, oositlerde yeterli maturasyonun olmasını engeller (94).

Androjenler düşük konsantrasyonlarda aromataz etkisi ile östrojene dönüştürülür. Yüksek düzeylerde androjenler, aromatzasyon yerine 5-alfa redüktaz yoluna kayarlar. Serbest östrodiol ve androstenedionun periferik dönüşümünden oluşan östronun negatif “feedback” etkisi ile FSH düzeyi düşer. PCOS’lilerde FSH’nın tam baskılanamaması nedeniyle yeni folikül gelişimi sürekli olarak uyarılır, fakat foliküller tam maturasyon ve ovulasyon safhasına ulaşamazlar. Foliküller 2-8 mm çapında küçük foliküler kistler şeklinde kalıp birkaç ay devamlılık gösterirler. Bir kısım foliküller atreziye giderken, başka bir folikül grubu gelişim gösterir. Foliküler atrezi ovaryen stromal dokuyu artırır. Stromal dokuda artış, LH uyarımı ile androstenedion ve testosteron sentezini artırır. Androjen düzeyinde artma normal foliküler gelişmeyi önlerken, prematür foliküler atreziyi indükler. Overlere “wedge” rezeksiyon veya laparoskopik koterizasyon yapılarak stromal dokunun azaltılması, normal ovulatuvar siklusları geri döndürülebilmektedir (34,83).

2.1.5. Klinik Bulgular

Hastalık genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstruel düzensizlikler (oligo-amenore, disfonksiyonel uterus kanaması), hiperandrojenizm bulguları (hirsutizm, akne, ciltte yağlanma, androjenik alopesi) ve infertilite ile karşımıza çıkar (95).

Tablo2.3.PKOS belirti ve bulguları (95).

SEPTOMLAR	SIKLIK
Oligomenore	%50-90
Hirsutizm	%60-90
İnfertilite	%55-75
Polikistik over	%50-75
Obezite	%40-60
Amenore	%25-50
Akne	%25-30
DUK	%30
Normal menstruel patern	%22

PKOS'ta en sık görülen hiperandrogenizm bulgusu hirsutizmdir. Hirsutizm; androjene duyarlı bölgelerde terminal kılların erkek tipi kalın, uzun kıllar haline dönüşmesidir ve modifiye Ferriman–Gallwey (F/G) yöntemi ile değerlendirilir (96). Bu yöntemde üst dudak, çene, göğüs bölgesi, sırtın alt ve üst kısımları, alt ve üst abdomen, kol ve bacakların üst kısımları olmak üzere toplam 9 alanda kıl dağılımı 0-4 arasında skorlandırılır. Toplam Ferriman-Gallwey skoru ≥ 8 ise hirsutizm olarak tanımlanır. Akne, ciltte yağlanma ve androjenik alopesi de hiperandrojenizme bağlı olarak karşımıza çıkabilmektedir. Ancak tanı için bu klinik bulguların olması şart değildir (73).

Oligo-amenoreik periodlar veya düzensiz uterin kanamalar olabilir. Oligo-ovulasyon için kabul edilen kriter, yılda altı veya daha az adet görmektir. Amenorenin nedeni kronik anovulasyon halidir ve hastalara progesteron desteği verilirse çekilme kanaması sağlanabilir. Düzensiz uterin kanamanın nedeni de sürekli anovulasyona bağlı östrojen miktarının artması ve östrojenin progesteron ile karşılanamamasıdır. Yüksek ve sabit östrojen düzeyleri endometriumda aşırı proliferasyon ve damarlanma artışına neden olur. Progesteron olmadığı için endometrium stromal desteği sağlanamaz, kanamaya meyilli ve çok kanayabilen endometrium tabakası meydana gelir (3).

PKOS, infertilite nedeni ile başvuran hastalarda anovulasyona bağı infertilitenin en sık sebebidir (anovulatar kadınların %75'i) (97). Bu hastaların spontan ve yardımcı gebelik oranları azalmıştır. Gebe kalanlarda spontan abortus riski, gestasyonel diabetes mellitus ve gebelikte hipertansif durumlara yatkınlık artmıştır (98).

PKOS'de obezite görölme sıklığı %40-60 olarak bildirilmektedir (82,95). Obezite sıklıkla bel/kalça oranının arttığı santral obezite tipinde olup, PKOS'li hastalara ek riskler getirmektedir (99). Kalp-damar hastalıklarından korunmada en etkin HDL (yüksek dansiteli lipoprotein) komponenti olan HDL-2 düzeyi ile en iyi uyum gösteren değişkenin, bel/kalça oranı olduğu belirlenmiştir (ters orantılı şekilde). Normal vücut ağırlığına sahip PKOS olgularında da ağırlık yönünden eşleştirilmiş sağlıklı kontrollere göre bel/kalça oranı artmıştır (100).

Bazı hastalarda akantozis nigrikans denilen hiperpigmente, verrüköz cilt lezyonları olabilir. En sık meme altı, boyun arkası, axilla ve vulvada görölürler. Artmış pigmentasyona rağmen melanosit sayısında artma veya melanosit depolanması yoktur. Hiperandrojenizm ve insülin rezistansına eşlik ediyorsa HAİR-AN sendromu olarak adlandırılır (101).

Hastaların ultrasonografik görüntölmesinde 2-9 mm çaplı, 12 veya daha fazla folikül olması ve/veya artmış over volümü (>10 ml) polikistik over olarak tanımlanır (36). Bu bulgunun bir overde olması yeterlidir ve değerdendirme foliküllerin dağılımı dikkate alınmaz. Ultrasonografik polikistik over görüntüsü sağlıklı kadınlarda da %20'lere varan oranlarda bulunabilir (102).

2.1.6. Laboratuvar Bulguları

PKOS'ta tek başına tanı koyduracak biyokimyasal bir belirteç yoktur. Hiperandrojenemi laboratuvar bulgularının en önemlisidir ve hastaların yaklaşık yarısında hiperandrojenizm vardır. LH'nın teka hücrelerinden androjen sentezini uyarması ve insülin rezistansı androjen sentezini artırır. Seks hormon bağlayıcı protein (SHBG) azalması serbest androjenleri artırır. Total ve serbest testosteron düzeyi artar. Bu ovaryan hiperandrojenizmi gösterir. Androstenedion düzeyleri genelde artmıştır (103). Androstenedion ovaryan orjinlidir ve androjenik potansiyeli testosteronun %10'u kadardır (103). Dehidroepiandrostenedion (DHEA) ve

dehidroepiandrostenedion sülfat (DHEA-SO₄) ise adrenal kökenli androjenlerdir ve bazı hastalarda yükselebilirler. Periferde testosteron ve dehidrotestosterona dönüşürler. Kadında testosteronun %75'i over kaynaklıdır ve testosteron overden en fazla salgılanan androjendir. Polikistik overde yapılan çalışmalarda androjen seviyelerinin %14-25 oranında daha yüksek olduğu bulunmuştur (103). Androjenlerin periferik dönüşümü ile östrojen artar. Artan östrojen formu östrondur (103). Hastaların yaklaşık %20-30'unda östrojen artışına bağlı olarak gelişen hiperprolaktinemi mevcuttur. Serum LH/FSH oranı hastaların %75'inde yüksek olsa da kesin tanıda şart değildir. Yaklaşık %25-60 olguda hiperinsülinemi ve insülin direnci saptanabilir (104,105).

Tablo 2.4.PKOS'ta görülen hormon değişiklikleri (106).

PKOS'daki serum hormon değişiklikleri
Artmış androjenler: Testosteron, Androstenedion, DHEA-S
Artmış Lüteinizan Hormon
Azalmış Seks Hormon Bağlayıcı Protein
Artmış Östradiol
Artmış insülin

American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) tarafından 2009 yılında yayınlanan klinik rehberde ayırıcı tanı ve takip açısından izlenecek algoritmayı belirleyen bir rehber hazırlanmıştır (Tablo 2.5). Amaç uzun dönem risklerinin risk grubunda taranması bu sayede önleyici önlemlerin alınması ve erken tedavinin gereken durumlarda başlatılmasıdır.

Tablo 2.5.ACOG 2009 PKOS klinik rehberi değerlendirme önerileri

Fizik Muayene • Kan basıncı • VKİ (kg birimi olarak ağırlık/ m2 birimi olarak boy) 25-30: Kilolu, >30: Obez • Bel Çevresi (Vücut yağ dağılımını belirlemek için) >35inç (88 cm) : anormal • Hiperandrojenizm ve insülin direnci işaretlerinin varlığı (Akne, hirsutizm, androjenik alopesi, akantosis nigrikans)
Laboratuvar • Biyokimyasal hiperandrojenemi (Total testosteron ve SHBG veya serbest Testosteron) • Hiperandrojenizmin diğer nedenlerinin dışlanması (Tiroid disfonksiyonu: TSH, Hiperprolaktinemi: Prolaktin, konjenital adrenal hiperplazi: 17-OHP, Cushing sendromu ve akromegali için tarama) • Metabolik değerlendirme (75 g 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 hastada 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

2.1.7. PKOS'da Ayırıcı Tanı

Polikistik over sendromunun ayırıcı tanısında androjen yüksekliği ve anovulasyonla giden durumlar vardır. Bunlar arasında androjen salgılayan tümörler, dışarıdan androjen alımı, kongenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu, hiperprolaktinemi, ovaryan yetmezlik gibi durumlar vardır (107).

Androjen salgılayan tümörlerde kanda androjen seviyeleri çok yüksektir. DHEA ve DHEA-SO₄ seviyeleri çok yüksektir. Sürrenal bezin tomografi ve magnetik rezonans ile görüntülenmesi ile tanı konulabilir. Hastalarda çok hızlı gelişen virilizasyon bulguları vardır. Ayrıca hipogonadotropik hipoöstrojenemik amenore vardır (107).

Ekzojen androjen alımı veya bazı ilaçların uzun süre kullanımı ile de hiperandrojenemik değişiklikler oluşur. Pekçok ilaç buna neden olabilir. Fenitoin, steroidler, ACTH, progesteron, anabolik ajanlar, andojenlerin kendileri hirsutismusa ve virilizasyona neden olabilir (107).

Kongenital adrenal hiperplazi durumlarında genetik olarak steroid sentezinde görevli enzimlerde eksiklik ya da işlevsel bozukluk vardır. Başlangıç zamanına göre klasik veya geç başlangıçlı kongenital adrenal hiperplazi denir. En sık 21-hidroksilaz eksikliği görülür. İntrauterin dönemde kız bebeklerde iç genital organlar normaldir, dış genitalerde erkek yönünde değişiklikler olur. Geç başlangıçlı tipte ise belirtiler puberte döneminde başlar, genelde erken puberte olur. Klinik tablo polikistik over sendromuna benzer. Virilizasyon bulguları görülmez. Ayırıcı tanı kanda 17-hidroksiprogesteron düzeylerinin yüksekliğinin gösterilmesi ile olur.

Cushing sendromunu düşündüren klinik bulguların varlığında, 24 saatlik idrarda serbest kortizol düzeyinin ölçülmesi tarama amaçlı kullanılabilir (107).

Hiperprolaktinemi de polikistik over sendromu ile karışabilir. Polikistik over sendromunda %3-12 sıklıkta hafif-orta düzeyde hiperprolaktinemi olabilmektedir. Fakat aşırı yüksek prolaktin düzeyleri asıl nedenin prolaktin sentezi ile ilişkili olduğunu düşündürmelidir. Prolaktinin yüksek olması pek çok mekanizma ile menstrüel siklusları etkiler. GnRH pulsasyonlarını azaltır, gonadotropin salgısını etkiler, östrojenlerin LH üzerine (+) feedback etkisini engeller. Adrenal kaynaklı androjenlerin salgısını uyarır. Hipotalamo-hipofizer nedenli amenoreler de ayırıcı tanıda göz önüne alınmalıdır. İzole GnRH eksikliği, kilo ile ilişkili amenore,

hipotalama-hipofiz tümörleri, enfeksiyonlar, hipofiz yetmezliği bunlar arasındadır. Bu hastalarda gonadotropin düzeylerinin düşük olması ile tanı konur (107).

Primer ovaryan yetmezlik durumunda ki amenore de polikistik over sendromunun ayırıcı tanısında düşünülmelidir. 40 yaştan önce over fonksiyonlarının azalması ve kaybı prematür ovaryan yetmezlik olarak tanımlanır. Genetik, otoimmün, cerrahi, enfeksiyöz, radyasyon, kemoterapi nedeniyle gelişebilir. En sık neden genetikdir. Gonadotropinlerin yüksek, östrojenin düşük olması ile ayırıcı tanı sağlanır (107).

Hipertekozis, polikistik over sendromu ile klinik ve patolojik özellikleri benzer olan nadir bir durumdur. Over stromasında lüteinize olmuş teka hücreleri vardır. Hastalardaki klinik bulgular polikistik over sendromu ile benzer olup anovulasyon, amenore, hiperandrojenizm vardır. Hirsutismus ve zamanla gelişen virilizasyon bulguları olur. Testosteron düzeyleri çok yüksek, DHEA-SO4 düzeyleri normaldir. Polikistik over sendromu ile ayırıcı tanısı LH düzeyinin normal olması ile yapılır. Bu hastalarda ovulasyon indüksiyonuna cevap ve fertilizasyon şansı çok azdır

Akromegali, tiroid fonksiyon bozuklukları, insülin rezistansı ile ilişkili genetik defektler de ayırıcı tanıda düşünülmelidir (107).

Tablo 2.6.PKOS ile ayırıcı tanısı yapılması gereken klinik durumlar (107).

-
- Androjen salgılayan tümörler
 - Ekzojen androjen alımı
 - Cushing Sendromu
 - Nonklasik konjenital adrenal hiperplazi
 - Akromegali
 - Primer hipotalamik amenore
 - Primer ovaryan yetmezlik
 - Hipertekozis
 - Tiroid patolojileri
 - Hiperprolaktinemi durumları
-

Tablo 2.7.PKOS hiperandrojenizm ayırıcı tanısı (108).

Diferansiyel Programlar	Klinik Özellikler	Test
Klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi	Aile öyküsü; Aşkenazi Yahudileri arasında daha yaygındır	17-hidroksiprogesteron
Androjen salgılayan tümörler	Rapid virilizasyon	DHEA-S (adrenal) Testosteron (over)
Hipotiroidizm	Yorgunluk, kuru cilt, soğuk intoleransı, kilo artışı, kabızlık, guatr	Tiroid uyarıcı hormon
Hiperprolaktinemi	Galaktore	Prolaktin (PKOS hafif yüksek olabilir)
Cushing sendromu (nadir)	Ay yüz, buffalo kamburu, karın stria, merkezci yağ desen, hipertansiyon, kolay morarma	24 saatlik idrarda serbest kortizol deksametazon supresyon testi (doğrulayıcı)
Akromegali	Akral genişlemesi, kaba özellikler, prognatizm	İnsülin benzeri büyüme faktörü

2.1.8. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Uzun Dönem Sağlık Riskleri

2.1.8.1. Glukoz İntoleransı ve Tip 2 Diyabet

Polikistik over sendromlu hastalar diyabet gelişimi yönünden artmış risk altındadırlar. Yaş, VKİ, artmış bel çevresi, artmış bel/kalça oranı ve birinci dereceden yakınlar diyabet öyküsü PKOS’de diyabet risk faktörleri arasında sayılabilir (109). PKOS hastalarında bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diyabet kombine prevelansı değişik çalışmalarda %35-40 arasında bulunmuştur (109). Anovulatuvar, hiperinsülinemik kadınlarda genel popülasyona göre insüline bağımlı olmayan diyabet riski 5-10 kat fazladır ve başlangıç yaşı yaklaşık 30 yıl daha

erkendir (110). Bu nedenle PKOS, tip 2 diyabet gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmekte ve tüm PKOS hastalarında diyabet yönünden tarama yapılması önerilmektedir. PKOS ta glukoz homeostaz anormalliklerinin belirlenmesinde klinik uygulanabilirlik açısından en iyi metod oral glukoz tolerans testidir (62). PKOS hastalarının yanında, anne, baba, kız kardeş ve erkek kardeş olmak üzere tüm birinci dereceden yakınlarında glukoz homeostaz bozuklukları yönünden yüksek risk taşıdıkları gösterilmiştir (93).

2.1.8.2. Dislipidemi-Disfibrinojenemi-Koroner Arter Hastalığı

Hiperandrojenizm ve obezite nedeni ile dislipidemi riski artar, insülin direnci de bu duruma katkıda bulunur. Tipik lipid bulgusu olan yüksek serum trigliserid seviyeleri ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL)/HDL oranında artış gözlenir. Obez olmayan olgularda dahi HDL ve HDL-2'nin düştüğü saptanmıştır. HDLc kardiyovasküler mortaliteye karşı koruyucu etkisi en güçlü olan lipiddir. Bu nedenle HDL/LDL oranının azalması kardiyovasküler hastalık riskini artırır. (111,112)

Hiperandrojenizm, insülin direnci, glukoz intoleransı, tip 2 diyabet, obezite ve santral yağlanma nedeniyle polikistik over sendromlu hastaların kardiyovasküler hastalık için yüksek risk altında oldukları düşünülmektedir (113). Aynı zamanda metabolik sendrom gelişme riski de artmıştır (114,115). Metabolik sendrom tanısı için aşağıdaki kriterlerden üç veya daha fazlasının görülmesi gerekir:

- Hipertansiyon: 130/85 mmHg veya daha yüksek
- Artmış trigliserid düzeyi: 150 mg/dl veya daha fazla
- Azalmış HDLc düzeyi: 50 mg/dl den az
- Abdominal obezite: Bel çevresi 88 cm den fazla
- Artmış açlık kan şekeri düzeyi: 110mg/dl veya daha fazla

Polikistik over sendromunda fibrinolitik aktivite de bozulur, plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) düzeyi artar. Bu artış IR'ye bağlıdır. Kilo kaybı ve insülin duyarlılığını artıran ajanlar PAI-1 düzeyini azaltır. Bu da kardiyovasküler sistem hastalığı riskini azaltır (116). Bir çalışmada kontrol grubuna göre PKOS'lularda subklinik aterosklerozun 45 yaş üzerinde arttığı bildirilmiştir (64).

2.1.8.3. Hipertansiyon

Polikistik over sendromlu hastalarda hipertansiyon sıklığı artmıştır. Özellikle sistolik kan basıncı artar ve hipertansiyon sıklığındaki artışın insülin razistansı nedeniyle olduğu düşünülmektedir. 20-40 yaş aralığındaki hastalarda 24 saat kan basıncı takibi ile tansiyon değerlerinin yüksek olduğu ve sol ventrikül duvar kalınlığının arttığı bulunmuştur (117).

2.1.8.4. Jinekolojik Maligniteler

2.1.8.4.1. Endometriyal karsinom

PKOS'lu hastalarda kronik karşılanmamış östrojen etkisi, kronik anovulasyon, obezite ve hiperinsülinemi endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom riskini artıracak özelliklerdir (2). Anovulasyon, endometriumun östrojenin mitojenik etkilerine maruz kalmasına ve progesteronla karşılanamayan bu etkinin sürekli olmasına neden olur, sonuçta atipili veya atipisiz endometrial hiperplazi ve kanser sıklığı artar (3). Endometrium kanserlerinin % 5 kadarı 40 yaş altında görülür ve PKOS bu popülasyonda sık görülen bir predispozan faktördür. Ancak PKOS hastalarında endometriyal kanser sıklığının ya da endometriyal kansere bağlı mortalitenin artmış olduğu gösterilememiştir (2, 118).

Transvajinal ultrasonografinin endometrial patolojileri değerlendirmede yol gösterici olması polikistik over sendromu olan kadınlarda da endometrial kalınlığın değerlendirilip gerekirse örnekleme yapılmasını sağlamaktadır. Cheung ve ark. 2001 yılında 56 polikistik over sendromlu kadında yaptıkları bir çalışmada yaş, menstruel sıklık ve endometrium kalınlığını baz alarak endometrial patolojileri değerlendirmişlerdir. Endometrium kalınlığı 7 mm ve altında olan ve menstrüel aralığı 3 aydan kısa olan 36 kadında proliferatif endometrium tespit edilmiştir. Endometrium kalınlığı 9 mm'nin üzerinde olan ve menstrüel aralığı 5 aydan uzun olan 20 kadında ise endometrial hiperplazi bulunmuştur. Bunların 5'inde atipi de bulunmuştur. Atipili hiperplazi olan ve tedavi edilmeyen kadınların %23'ünde, atipisiz hiperplazi olan kadınların ise %2'sinde endometrium kanseri gelişmektedir (119).

PKOS'lu hastalarda endometrial kanser riskini değerlendiren çok az sayıda çalışma vardır. Ramzy ve Nisker, 40 yaşından küçük endometrium kanserli

hastaların %11,1'inin yumurtalıklarında PKO düşündüren histolojik özellikler olduğunu bulmuştur (120). Gallup ve Stock, 111 serilik endometrium kanseri vakasının %14,4'ünün 40 yaşın altında ve bunların %31,2'sinin PKOS olduğunu yayınlamışlardır (121).

Relatif endometriyal kanser riski 12 yaşından önce menarş görmüş kadınlarda 1.6 ve 52 yaşından sonra menapoza giren kadınlarda 2.4'tür (122). Endometriyal kanserli hastalarda doğum sayısı kontrol grubuna göre daha azdır (122) ve bu aynı zamanda infertilitenin 2 puan relatif risk ilave ettiğini gösterir (123). HT ve Tip 2 DM'un uzun dönemde sırayla 2.1 ve 2.8'lik relatif risk ilavesiyle endometriyal kanser ile ilişkisi saptanmıştır (122) ve bu durumların ayrıca PKOS ile de ilişkisi saptanmıştır.

PKOS ve endometriyal adeno Ca arasındaki ilişki yıllardır bildirilmektedir. 27 ila 48 yaş aralığında uzamış amenore, obesite, HT ve 15'inin evli ancak 13'ünün çocuk sahibi olmadığı gibi faktörleri işaret eden 16 vaka bildirilmiştir (124). Başka bir çalışmada (125) kronik anovulasyon sendromu olan 1270 hastanın endometriyal Ca geliştirme riski değerlendirilmiştir. Bu grubun karakteristiklerinin belirlenmesinde Stein-Levental sendromunun patolojik ya da makroskopik kanıtları ya da kronik anovulasyonun klinik bulguları dahil edilmiştir. Bu çalışma endometrial ca riskini 3.1 olarak tanımlamıştır ve karşılanmamış östrojenin anormal konsantrasyonu ile açıklamayı önermişlerdir. Otörler bu teoriyi SHBG, IGF-1 ve dolaşan östrojen üzerindeki etkilerini göz önüne alarak hiperandrojenizm ve hiperinsulinemi teorileriyle genişletmişlerdir (126,127).

PKOS'lu olgularda endometrial kanser geliştirme riskinin normal kontrollere göre ne oranda arttığı kesin bilinmemekle birlikte, populasyonun üç katı olduğu hesaplanmıştır. Amenoresi veya oligomenoresi olan bu bayanlarda endometrial hiperplazinin önüne geçmek için suni sikluslarla çekilme kanamaları sağlamak günümüzde kabul gören yaklaşımdır. PKOS'lu olgularda en azından 3 ayda bir endometriumun dökülmesini sağlamak gerekir. Oligomenore/amenoresi olan ve siklik hormon tedavisi almak istemeyen kadınlarda menstrüel öyküye göre her 6-12 ayda bir endometrial kalınlık ve morfoloji değerlendirmesi için ultrasonografi yapılmalıdır. 10 mm'nin üzerinde endometrial kalınlık ölçülmesi durumunda

progesteron kullanılarak endometrial dökülme sağlanmalıdır. Kanama olmaması durumunda ultrasonografi tekrarı ve endometrial biyopsi yapmak gerekir (50).

2.1.8.4.2. Over kanseri

Daha önceleri kabul gören infertil kadınlarda, over kanseri riski artışının, ovulasyon indüksiyonuna bağlı olduğu düşüncesi yerini, bu risk artışının nulliparite, erken menarş, geç menopoz durumlarından ileri geldiği görüşüne bırakmaktadır. Ovulasyon indüksiyonunun riski artırdığı görüşü henüz kanıtlanamamıştır. PKOS ve over kanseri arasında ilişki olup olmadığını araştıran çok az sayıda çalışma vardır ve olanlar çelişkili sonuçlar içermektedir (128).

Anovulatuvar infertiliteyi düzeltmek için ovulasyon indüksiyonu unifoliküler ovulasyonu amaçlar ki teorik olarak PKOS'lu hastaların riski normal ovulasyonlu kadınlarla aynı seviyeye yükselmelidir. Polikistik over herkesin bildiği gibi stimülasyona duyarlıdır, buna rağmen son yıllarda yüksek rezolusyonlu transvaginal USG'nin geliştirilmesiyle unifoliküler ovulasyon oranı elde edilmiştir. Klomifen sitrat ve gonodotropin terapisi ile indüksiyonla 1960, 70 ve 80'lerde çok miktarda multiple ovulasyon oluşmuş (ve tabii multiple gebelik de) bunedenle bu kadınlar en yüksek ovarian ca riskine ulaşmışlardır (129).

Ovarian kanser ve polikistik over sendromu arasındaki olası ilişkiyle ilgili az sayıda çalışma vardır. Sonuçlar çelişkili ve genellemeler çalışma dizaynlarındaki problemler nedeni ile sınırlıdır. Bir grup (125) anovulatuvar kadınlarda artmış over Ca riski olmadığını göstermiş oysa diğerleri (130) PKOS'un epitelial over kanseri için 2.5 relatif risk saptamıştır.

2.1.8.4.3. Meme kanseri

Obezite, hiperandrojenizm ve infertilite gibi PKOS'un özellikleri arasında yer alan durumlar meme kanseri patogenezi de yer alır. Ancak yapılan çalışmalarda PKOS'da belirgin bir risk artışı saptanmamıştır (131).

2.1.9. PKOS'da Tedavi

PKOS'un etyopatogenezi net olarak bilinmediği için günümüzde mevcut tedavi seçenekleri genellikle semptomatiktir. Bu anlamda, tedavi hedefleri

hiperandrojenizmin kontrol edilmesi, menstrüel disfonksiyonun düzeltilmesi ve fertilitenin sağlanması şeklinde sıralanabilir. Son yıllarda insülin direncinin PKOS gelişimi üzerinde önemli etkisinin olduğu anlaşıldıktan sonra, insülin duyarlılığını arttırıcı ajanlar tedavi seçenekleri içinde yerini almıştır (132). PKOS’da uzun dönem sağlık risklerine yönelik yaşam tarzı değişiklikleri de son yıllarda önem kazanmaktadır.

2.1.9.1. Hiperandrojenizm Tedavisi

Hiperandrojenizm ve hirsutizm tedavisinde farmakolojik ve non-farmakolojik yöntemler uygulanabilir. Farmakolojik tedavi başlıca 4 şekilde olur:

a) Ovaryan supresyon: Bu amaçla oral kontraseptifler, siproteron asetat ve GnRH agonistleri kullanılabilir.

Oral kontraseptifler, hipofizer LH sekresyonunu inhibe ederek overyan androjen üretimini azaltırlar. Tedavi sonuçları en erken altı ay sonunda ortaya çıkar. Ayrıca başarılı tedavi için farmakolojik ajanlarla, mekanik-kozmetik yöntemler birlikte kullanılmalıdır. Bu tedavi ile yeni kıl folikülü oluşumu engellenmekte, daha önceden oluşmuş kıllar ise kaybolmamaktadır. Mevcut kıllar traş edilerek, epilasyon yapılarak ya da diğer yöntemlerle geçici olarak ortadan kaldırılabilir (133). Oral kontraseptif kullanımı kontrendike olan ya da istenmeyen hastalarda, 3 ayda bir intramusküler 150 mg ya da günde 10-20 mg medroksiprogesteron asetat ile iyi sonuçlar elde edilebilir. Medroksiprogesteron asetat LH’yı baskılayarak testosteron üretimini azaltır (134).

Siproteron asetat, kuvvetli bir progestasyonel ajandır. Gonadotropin sekresyonunu inhibe eder, androjen reseptörlerine bağlanarak androjen etkisini bloke eder (135).

GnRH agonistleri hipofiz supresyonu ile hirsutizmin gerilemesini sağlar fakat bu tedavi komplike ve pahalıdır (73).

b) Adrenal supresyon: Bu amaçla glukokortikoidler kullanılır. Endojen ACTH sekresyonunun deksametazonla supresyonu, adrenal enzim eksikliği olan kadınlarda kullanılabilir (73).

c) Androjen reseptör blokörleri: Flutamid ve spironolakton bu amaçla kullanılan ilaçlardır.

Flutamid, reseptör düzeyinde etki gösteren nonsteroid yapıda antiandrojenidir. Kıl folikül büyümesini belirgin bir yan etki olmadan baskılar (136).

Spironolakton, aldosteron antagonisti olan bir diüretiktir. Hirsutizm tedavisinde 5-a redüktaz aktivitesini baskılayarak etki gösterir (137). Etkinliği doza bağımlı olup, günde 200 mg ile daha iyi sonuçlar alınır (138). Bir süre sonra doz azaltılarak idame dozu olan 25-50 mg ile tedavi sürdürülür. Maksimal etki tedavinin altıncı ayında görülür. Oral kontraseptif kullanmak istemeyen kadınlarda ya da oral kontraseptifin yetersiz olduğu durumlarda oral kontraseptiflerle birlikte kullanılır.

d) 5-a redüktaz inhibitörleri: Finasterid 5-a redüktazı inhibe ederek testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü engeller (73).

Nonfarmakolojik olarak tıraş, kimyasal tüy dökücüler, kremler, elektrolizis ve lazer yöntemleri tercih edilebilir. Kilo verilmesi de androjenlerin azalmasını sağlayarak, kıl büyümesini yavaşlatabilir (2,73).

2.1.9.2. Menstrüel disfonksiyon tedavisi

Polikistik over sendromlu hastalarda menstrüel düzeni sağlamak ve endometrium kanser riskini azaltmak amacıyla oral kontraseptifler kullanılabilir. PKOS hastalarında karşılanamayan östrojen nedeniyle endometrial hiperplazi ve uzun dönemde endometrium kanseri gelişimini önlemek için, en az 3 ayda bir endometrial dökülme sağlanmalıdır. Bu amaçla oral kontraseptifler fertilite arzusu olmayan hastalarda uzun dönem güvenle kullanılabilir. Oral kontraseptifleri kullanamayan hastalarda medroksiprogesteron asetat kullanılabilir (73).

2.1.9.3. İnsülin duyarlılığını artırıcı ajanlar

İnsülin duyarlılığını artırmak amacıyla en sık kullanılan ajan metformindir. Metformin bir biguanid analogudur ve etkisini esas olarak karaciğerde insülin duyarlılığını artırarak ve glukoneogenezi inhibe ederek gösterir. Ayrıca kas ve yağ dokusunda insülin aracılı glukoz alımını artırır. PKOS'da metformin tedavisi ile androjen düzeylerinde azalma, spontan ovulasyon hızında artma ve klomifene artmış yanıt klinik çalışmalarla gösterilmiştir (73).

2.1.9.4. İnfertilite tedavisi

Gebelik isteği olan infertil hastalarda ovulasyon indüksiyonunda ilk seçenek klomifen sitrattır. Bu ajanla hastaların % 80'inde ovulasyon, % 40'ında gebelik sağlanır (2). Klomifen sitrata yanıtızsız hastalarda ikinci basamak ajanlar olarak ekzojen gonadotropinler kullanılabilir (139). PKOS'da laparoskopik ovaryan drilling gibi cerrahi ovulasyon indüksiyon metotları, küçük hasta gruplarında belli düzeyde başarıyla denenmiştir. Bu metodların postoperatif adezyon gelişimi gibi riskleri mevcuttur, bu nedenle yalnızca klomifene dirençli ve gonadotropin tedavisi almak istemeyen seçilmiş olgularda kullanılmalıdır (140).

2.1.9.5. Uzun dönem sağlık risklerine yönelik tedavi

Uzun dönem sağlık risklerine yönelik yaşam tarzı değişiklikleri son yıllarda giderek önem kazanmaktadır. Kilo kaybının (vücut ağırlığının %5'inden daha fazla) androjen düzeylerini düşürdüğü ve bazı olgularda ovulasyonun spontan geri dönmesini sağladığı bilinmektedir. Kilo kaybı insülin ve androjen düzeylerini azaltmakta, IGFBP-1 düzeylerini ise artırmaktadır (141). Ayrıca kilo kaybı ile SHBG düzeyi yükselir ve insülin direnci azalır (73). Diyet ve egzersiz uygulamaları ile sağlanan çok düşük düzeydeki kilo kayıplarının bile metabolik, endokrin ve reproduktif parametreler üzerinde olumlu etkileri gözlenmiştir (142). Diyetin yararlı etkileri kompozisyon değişikliğinden ziyade kalori kısıtlamasına bağlıdır (143). Ayrıca, düzenli fiziksel aktivite kilo kaybı sağlanamadığında dahi insülin direncinde düzelmeye neden olabilmektedir (80).

Randomize bir çalışmada, kilo kaybı ve fiziksel aktivite ile diabetes mellitus insidansında %58 azalma olduğu, metformin tedavisi ile bu oranın %31 de kaldığı saptanmıştır (144). Anovulatuvar aşırı kilolu kadınlarda kilo kaybı olmasa da uygun bir diyet ile birlikte yaşam tarzı düzenlemesi ve egzersiz programı uygulanması, insülin direncini azaltarak ovulasyonun başlamasını sağlayabilir (145).

PKOS hastalarında artmış glukoz intoleransı ve tip 2 diyabet riskine yönelik olarak tanı aşamasında oral glikoz tolerans testi (OGTT) uygulanmalı ve glukoz homeostazı değerlendirilmelidir. PKOS'de normal glukoz toleransı durumunda bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diyabete ilerleme hızı da artmış olduğundan, normal glukoz toleransı bulunan hastalarda OGTT her yıl tekrarlanmalıdır (146).

Böylelikle bozulmuş glukoz toleransı olan yüksek riskli bireylerde yaşam tarzı değişikliği ve metformin gibi erken tedavi seçenekleriyle tip 2 diyabete progresyon geciktirilebilir ya da önlenabilir (80).

Gerek tip 2 diyabet gerekse kardiyovasküler hastalık gibi uzun dönem sağlık riskleri yönünden kilo kontrolünün önemi hastaya vurgulanmalıdır. 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 (80).

2.2. PKOS ve Oksidatif Stres

Son yıllarda oksidatif stres ile PKOS ilişkisini araştıran çalışmalara göre oksidatif stresin PKOS patofizyolojisinde potansiyel faktör olduğu ileri sürülmüştür.

Hipergliseminin reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak, antioksidan seviyelerinde düşüşe neden olabileceği söylenmiştir. Yapılan çalışmalardan birinde serum MDA (malondialdehit) ve PC (protein karbonil) düzeyleri yüksek bulunmuştur, ancak GSH (glutatyon), vitamin C ve vitamin E düzeyleri ve GST (glutatyon s-transferaz) enzim aktivitesi insülin direncinden bağımsız olarak sağlıklı kontrollere göre daha düşük bulunmuştur. Sonuç olarak oksidatif stres, oksidanların artışı ve antioksidanların azalışıyla karakterizedir ve insülin direncinden bağımsız olarak PKOS patogenezinde yer alabileceği söylenmiştir (147).

Başka bir çalışmada, PKOS grubunda anlamlı derecede düşük serum TAS (total antioksidan düzeyi) ve artmış PC (protein karbonil), protein oksidasyon biyobelirteçleri, yüksek serum açlık insülini, C-reaktif protein, LH seviyeleri ve LH/FSH oranı saptanmıştır. Buna ek olarak açlık insülini, protein karbonil ile pozitif, antioksidanlar ile negatif ilişkilidir (148).

Dinçer ve ark. PKOS’lu kadınlarda H₂O₂ ile indüklenen DNA yıkımını incelemişlerdir. Sonuçlar göstermektedir ki, DNA yıkımı ve H₂O₂ ile indüklenen DNA yıkımı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PKOS’lularda daha yüksektir. Buna ek olarak tam kan GSH (glutatyon) seviyeleri sağlıklı kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Böylece, PKOS ile over ca arasındaki ilişkinin DNA’nın oksidatif stress duyarlılığı ile açıklanabileceği öne sürülmüştür (149).

Serum LPO (lipidperoksidaz), MDA (malonildialdehit), SOD (süperoksit dismutaz), VE (vitamin E) ve VC (Vitamin C) düzeylerinin, 30 PKOS (grup1) ve 30 kontrol hastasında karşılaştırıldığı bir çalışmada; ilk ölçümler yapıldıktan sonra PKOS1 grubuna 3 ay süreyle VE 0.1 qd, VC 0.2 bid ve Diane-35 (ethinylestradiol ve cyproterone asetat) 1 qd x 21d/ay verilmiştir. 3 ay sonra LPO, MDA, SOD, VE ve VC düzeyleri ölçülmüştür. Diğer 30 PKOS hastasına (PKOS grup 2), 3 ay boyunca sadece Diane-35 (ethinylestradiol ve cyproterone asetat) 1 qd x 21d/ay verilmiştir. PKOS1 ve PKOS2 gruplarının menstruel siklusları 3 ay boyunca gözlemlenmiştir. PKOS grubunda serum LPO ve MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ölçülmüştür ($p<0,05$). PKOS grubunda serum VE, VC ve SOD düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha düşük ölçülmüştür ($p<0,05$). LPO ve MDA değerleri, Diane-35, VE ve VC aldıktan sonra öncesine göre daha düşük; VE, VC ve SOD değerleri ise daha yüksek saptanmıştır. PKOS1 grubunda menstruel siklus düzeni PKOS2 grubuna göre daha iyi bulunmuştur. Sonuç olarak PKOS oksidatif stres (reaktif oksijen türlerinin metabolizması dengesizliği) ile ilişkili olabilir ve antioksidanlar PKOS prognozunu iyileştirebilir kanısına varılmıştır (150).

2.2.1. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

2.2.1.1. Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (151,152).

2.2.1.2. DNA Hasarı

Spontan DNA hasarları başta olmak üzere endojen ve ekzojen genotoksik bileşenlerin neden olduğu DNA hasarları genetik materyalin bütünlüğünün

bozulmasına neden olabilir (153,154). Aerobik organizmada oksijen kullanımına bağlı olarak meydana gelen reaktif oksijen türleri DNA hasarına yol açan hücrel metabolizma ürünleridir. ROS (reaktif oksijen molekülleri) ile oluşan oksidatif stres lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olmaktadır (155). Oksidatif stres tek ve çift zincir kırıklarına, şeker fosfat omurgasında ve bazlarda oksidatif hasara sebep olmaktadır. Oksidatif stresin neden olduğu 20 farklı baz hasarı tanımlanmıştır (156). DNA hasarının yoğunluğuna bağlı olarak hücre siklusunun durdurulması, gen ekspresyonunun değişmesi, DNA tamirinin uyarılması ve programlanmış hücre ölümünün (apoptosis) artması başta olmak üzere birçok hücrel yanıt tetiklenir (153).

2.3. DNA Tamir Mekanizmaları

Prokaryotik ve ökaryotik organizmalar DNA'larını korumak için çeşitli DNA tamir mekanizmalarına sahiptir. Memeli hücrelerinde farklı DNA hasarları farklı DNA tamir yolları ile tamir edilmektedir (157). Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından düzeltilirken, yüksek düzeydeki hasarlar apoptozisi uyarak hücre ölümüne yol açar (158). DNA hasarı oluştuğunda aktive olan bazı genler, hücrenin apoptozisinden olabilir. Bu genlerden en önemlisi p53 genidir. Normalde inaktif durumda bulunan p53 geni, DNA hasarı oluştuğunda aktive olarak p21 genini harekete geçirir. p21 geni hücrenin geç G1 fazında kalmasını sağlar ve S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre siklusu durdurularak oluşmuş olan DNA hasarlı hücrenin çoğalması engellenir. p53 geni DNA tamiri yapan proteinlerin transkripsiyonunu sağlar. Bu proteinler DNA hasarını tamir edebilirse, hücre siklusundaki blok kalkar ve hücre döngüsüne devam eder (159).

DNA onarım genleri iki alt gruba ayrılabilir:

- a) DNA onarımında sinyal iletimi ve onarımın düzenlenmesi ile ilgili genler,
 - b) Hatalı eşleşme onarımı, baz ve nükleotid çıkarma onarımı ile ilgili genler
- (160,161,162).

Bu genlerin yer aldığı onarım mekanizmaları başlıca beş grupta incelenebilir (163).

1. Direkt Tamir ya da hasarın geri döndürülmesi (reversal of damage)

- O6-metilguanin tamiri (Alkilasyon hasarın tamiri)

- Fotoreaktivasyon
- Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu

2. Eksizyon (kesip-çıkarma) Tamiri

- Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair)
- Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair)
- Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon onarımı (MER)

3. Rekombinasyon Tamiri

4. SOS Tamiri

5. DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

- Serbest Uçların Non-homolog Bağlanması (NHEJ)
- Homolog Rekombinasyon (HR)

Bu tamir mekanizmalarının en önde gelenleri eksizyon tamir mekanizmalarıdır. Bunlar; Nükleotid eksizyon tamiri (nucleotide excision repair- NER), Baz eksizyon tamiri (base excision repair-BER) ve Yanlış eşleşme tamiri (mismatch repair-MMR)'dir (157).

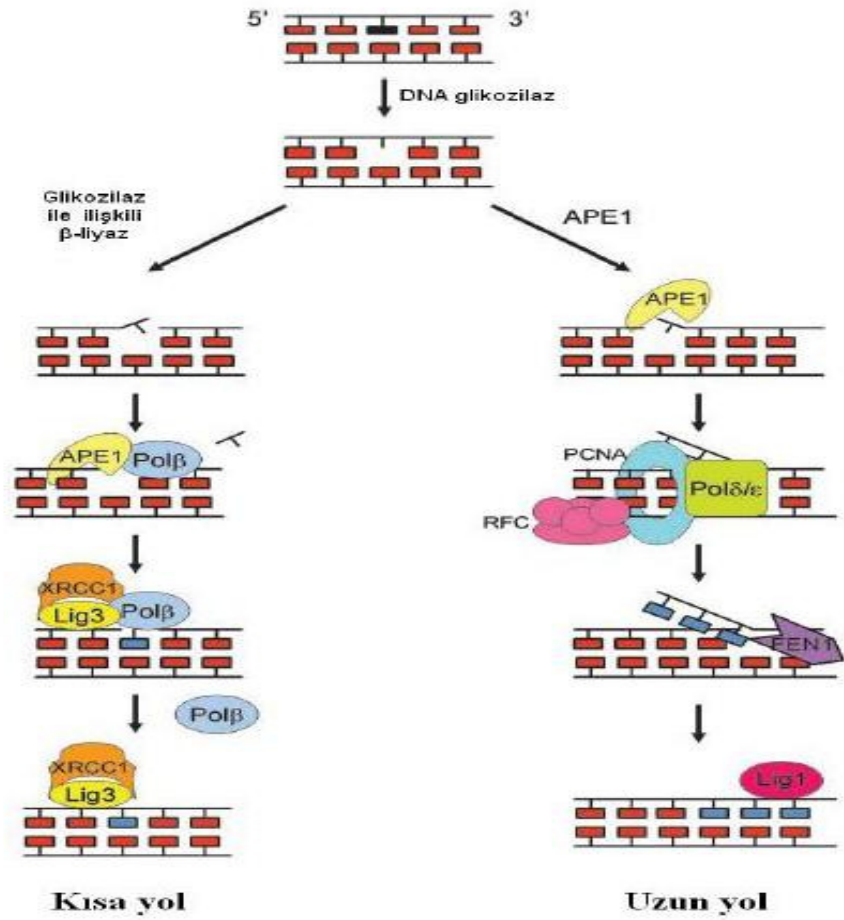
Eksizyon tamiri sırasında kimyasal olarak değişmiş, yanlış eşleşmiş veya uygun olmayan bazlar genomdan kesilerek yerlerine doğru dizideki bazlar konur. BER sırasında hasarlı bazlar serbest baz olarak kesilir ve çıkartılır, NER'de ise hasarlı bazlar oligonükleotid parçaları olarak kesilir. NER mekanizması daha çok ultraviyole ışığı ve polisiklik hidrokarbonlara bağlı DNA hasarında, BER mekanizması X-ışınları, oksijen radikalleri ve alkilleyici ajanlara bağlı DNA hasarında, MMR ise replikasyon hatalarının tamirinde görev alır (158).

2.3.1. Baz Kesip Çıkarma Tamiri (Base Excision Repair-BER)

Reaktif oksijen türlerinin DNA'da oluşturduğu tek zincir kırıklarının ve baz hasarlarının tamirinde en sık kullanılan mekanizma BER tamir mekanizmasıdır (164,165,166).

Baz kesip çıkarma tamirinde rol alan anahtar enzimler DNA glikozilazlardır. İnsanda yapıları birbirine benzeyen yaklaşık 10 tane DNA glikozilaz enzimi tanımlanmıştır (OGG1, MPG, UNG) (166,167). Bu yolağın ilk basamağı hasara karşı özgül olan DNA glikozilazlar tarafından hasarlı bazın tanınmasıdır (166,168). Bu enzim, bazın N-glikozidik bağını kırarak, bazı şekerden ayırır ve baz DNA'dan

ayrılır. Oluşan bazsız bölge (şeker+fosfat),apurinik veya aprimidinik bölge (AP bölgesi) olarak adlandırılır. AP bölgesi AP endonükleazlar (insanda APE1) tarafından tanınır (169). XRCC1 enzimi (X-ray cross complementing enzim), hasarlı bölgede DNA glikozilaz enziminin APE1 ile yer değiştirmesini sağlayarak hasarlı bazın çıkarılmasını hızlandırır (170,171,172). AP bölgesindeki fosfodiester bağları fosfodiesteraz enzimleri tarafından kırılır. Böylece AP bölgesinin 3' ucunda hidroksil grubu ve 5' ucunda deoksiriboz fosfat bulunan bir çentik oluşur (173,174). AP bölgesindeki fosfodiester bağlarının APE1 tarafından yıkılmasından sonra poli (ADP-riboz)polimeraz-1 (PARP-1) enzimi kırık DNA uçlarına bağlanarak onları yıkımdan korumaktadır (173,175,176). PARP-1 kendisini poli(ADP-riboz)ilasyonla aktifleştirdikten sonra BER mekanizmasında görevli diğer enzimlerin aktivasyonunu sağlamaktadır (177). PARP-1 tarafından aktivasyonu sağlanan XRCC1 enzimi, APE1 enziminin polimeraz ile bağlantısını düzenleyerek polimerizasyon ve ligasyon basamağını hızlandırır. Bu aşama sonrasında BER yolağı temel olarak iki türlü gerçekleşir; Kısa BER yolağı (1 nükleotid onarımı) ve uzun BER yolağı (2-6 nükleotid onarımı)'nın her ikisi de AP endonükleazlara ihtiyaç duyar ancak DNA sentezinde ve ligasyonda görev alan enzimler farklılık gösterir (13, 178). AP bölgesinin bağlanması kısa yolda DNA polimeraz- β tarafından gerçekleştirilir (177,179,180). Uzun yolda ise ilk nükleotidin sentezi DNA polimeraz- β , ondan sonrakilerin sentezi ise DNA polimeraz δ ve ϵ tarafından gerçekleştirilir. Uzun tamir yolağında polimerizasyon aşamasında PCNA (proliferating cell nuclear antigen) ve RPC (replikasyon proteini C) adı verilen iki protein daha senteze katılmaktadır (177,179,180). BER'in en son basamağında ise oluşan boşluk DNA polimeraz- β ile doldurulur ve DNA ligaz enzimi tarafından fosfodiester bağları oluşturulur (178). Kısa BER yolağında LIG3a, uzun BER yolağında ise LIG1 adı verilen DNA ligaz enzimleri iş görmektedir (177).



Şekil 2.1.Baz Eksizyon Onarımı (181).

APE1: Aprürinik/aprimidinik endonükleaz 1; Pol β: Polimeraz β; PCNA: Poliferatif hücre çekirdek antijeni; RFC:Replikasyon faktörü; Pol δ/ε: Polimeraz δ/ε; XRCC1: X-ray repair cross-complementing group 1; Lig3: Ligaz 3;Lig1: Ligaz 1; FEN1: Flap endonükleaz 1.

2.3.2. Nükleotid Eksizyon Onarımı (NER)

NER, DNA bazları üzerinde büyük eklentiler oluşturan birçok çeşit hasarı tanıyabilen bir onarım mekanizmasıdır (182). Genom bütünlüğünü koruyucu ve hayatın devamlılığını sağlayıcı görevleri vardır (183). Mikoplazmadan memelilere kadar geniş bir yelpazedeki organizmalar tarafından kullanıldığı belirlenmiştir. Birçok DNA hasarının özellikle de heliks distorsiyonuna neden olanların onarımında etkindir. İnsanlarda güneşten gelen UV ışığının karsinojenik etkilerine (dimerler) ve cisplatin, 4-nitrokuinolin oksit gibi etkenlerle reaksiyon sonucu oluşan büyük eklentili hasarlara karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır (184).

NER, çok basamaklı işlemleri içeren ve en az 20-30 proteinin görev aldığı bir DNA tamir mekanizmasıdır.

NER mekanizmasının işleyişi:

1. Hasarın tanınması ve sınırların belirlenmesi
2. Protein kompleksinin hasarlı bölgeye bağlanması
3. ~24-32 nükleotid uzunluğunda bir fragment içinde bırakacak şekilde lezyonun her iki tarafından hasarlı zincirin kesilmesi (insizyon)
4. Hasarı içeren oligonükleotidin uzaklaştırılması (degradasyon)
5. DNA sarmalı üzerinde meydana gelen boşluğun DNA polimeraz tarafından doldurulması (polimerizasyon)
6. Ligasyon, aşamalarından oluşmaktadır (185).

İnsanda NER yolağındaki bozuklukların önemi, otozomal çekinik (resesif) hastalıklardan olan Kseroderma Pigmentozum (XP) ve Cockayne Sendromu (CS) ile dikkat çekmiştir. Bu hastalıklardan herhangi birine sahip kişiler UV ışınlarına karşı aşırı duyarlılık gösterirler. XP hastalığı, XP (XPA-XPG) genlerindeki, CS sendromu ise CS (CSA, CSB) genlerindeki mutasyonlar sonucunda meydana gelir (186). XP gen ürünleri, hasarın tanınması ve DNA'nın kesilmesinde çok çeşitli fonksiyonlara sahiptirler (186). CS gen ürünleri ise, NER baz onarımında gereklidir (187).

XP genlerindeki mutasyonlar, büyük karsinojenik DNA eklentilerinin çıkartılmasını engelleyebilir.

NER genomda, hem transkripsiyonda sessiz kalabilir, hem de aktif olan bölgelerin onarımını yapabilir. Ancak, her iki durumda da farklı mekanizmaları kullanır. Bu farklılıklar temelde, baz hasarının bulunduğu yerin tanınmasından kaynaklanır (154,188).

NER'in iki ayrı formu bulunmaktadır;

1. Global genomik NER (GG-NER); transkripsiyon açısından sessiz olan bölgelerde meydana gelen hasarı onarır.
2. Transkripsiyonla ilişkili NER (TC-NER); DNA'da aktif olarak transkripsiyona uğrayan zincirde meydana gelen hasarları onarır.

Transkripsiyonel olarak aktif durumdaki DNA'da meydana gelen hasarlar transkripsiyon mekanizmasının etkilenmesine neden olmaktadır (187).

Polimorfizmlerin prevalansı, etnik gruplara göre büyük ölçüde farklılık gösterebilir. Bir polimorfizm için en sık görülen allel 'vahşi tip' (wild type) allel olarak isimlendirilir. Vahşi tip allel, en sık görülen, diğer bir deyişle 'normal' allel olarak kabul edilir; ancak populasyonlar arasındaki farklılıklardan dolayı bu durum her zaman geçerli değildir (191).

Genetik polimorfizm, kodlayan veya kodlamayan DNA dizilerinde meydana gelebilir. İntronlarda ve genler arasındaki DNA dizilerinde meydana gelen değişikliklerin genellikle etkisi yoktur, ancak genlerin kodlayan bölgelerindeki (ekzon) polimorfizmler, protein fonksiyonuna etki edebilir. Promotor bölgede meydana gelen polimorfizmler ise transkripsiyon düzeyinde değişikliğe neden olabilir (190).

Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism=SNP) insan genomundaki en basit ve en yaygın genetik polimorfizm şeklidir. İkinci sıklıkta görülen polimorfik değişiklikler ise genomda ardışık olarak tekrarlayan DNA dizilerinin sayısında görülen değişikliklerdir (VNTR (variable number of tandem repeats) ve STR (short tandem repeat)). Bu dizilerin tekrar sayıları her bireyde farklıdır. SNP'leri; aminoasit değişimine neden olan veya aminoasit değişimine neden olmayan SNP'ler olarak ikiye ayırabiliriz. Aminoasit değişimine neden olan SNP'ler, protein işlevini azaltabilir veya tümünden ortadan kaldırabilir. Aminoasit değişimine neden olmayan SNP'ler ise protein işlevinde kendi başlarına bir değişiklik yapmazlar, fakat işlev değişikliği yapan başka bir genomik yapıda değişikliğe yol açabilirler (192).

Genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle genlerde oluşan bir çok hasar spesifik DNA tamir mekanizmaları ile saptanarak tamir edilmekte ve genomik stabilitenin devamı sağlanabilmektedir. Genetik polimorfizmler, DNA tamir enzimlerinin katalitik aktivitesini, yapısını veya ekspresyon düzeyini etkileyebilir. Polimorfizmin özellikle DNA tamir mekanizmasında rol alan proteinlerde meydana gelmesi, DNA hasarının onarımını bozarak kanser oluşumuna neden olabilmektedir (193).

2.4.1. Polimorfizmleri Araştırılan DNA Tamir Genleri

DNA hasarının onarımı, mutasyonların genomdan uzaklaştırılmasını ve mutajenik transformasyonun önlenmesini sağlar. DNA tamir genlerindeki fonksiyonel polimorfizmler toplumdaki bireylerin DNA tamir kapasiteleri arasındaki farklılığın sorumlusu olabilirler. Bu çalışmada ikisi BER, diğeri NER mekanizmasında önemli roller üstlenen XRCC1, APE1 ve XPD genlerine ait toplam üç polimorfizm bölgesi incelenmiştir.

2.4.2. XRCC1 (X-ray repair cross complementing group 1)

X-ray repair complementing group 1 (XRCC1) DNA tamir genlerinden olup, 19. kromozomun q13.31 bölgesinde yer alan 17 ekzonu olan, 2087 baz çifti (bç) transkripsiyon ürünü olan bir gendir. XRCC1 gen ürünü, DNA polimeraz- β ve DNA ligaz III gibi DNA proteinleri ile BER ve tek iplik kırılmalarının tamirinde görev almaktadır. BERDNA tamir mekanizmasının görev aldığı hasarlar iyonize radyasyon, alkilleyici ajanlar ve oksidasyondur (194).

XRCC1 DNA tamir geninde yaygın üç polimorfizm vardır. Bunlar kodon 194 (Arg→Trp), kodon 280 (Arg→His) ve kodon 399 (Arg→Gln)'dur. XRCC1 kodon 399 evrim sürecinde türlerde korunmuştur. XRCC kodon 399'da, poly(ADP-riboz)polimeraz (PARP) ile BRCT (BRCA1 C-ucu) proteini ile ilişkilidir. BER yolunda PARP, DNA iplik kırılmalarını ortaya çıkaran bir çinko parmak tipinde enzim olup, endojen oksidatif DNA hasarının tamirinde büyük öneme sahiptir (194,195,196).

XRCC1 geni polimorfizmleri birçok hastalıkta ve dokuda çalışılmıştır. Özellikle kolorektal kanserlerde, meme kanserlerinde (197,198,199), pankreas kanserinde (200), mesane kanseri (201),baş ve boyun kanserlerinde (202), akciğer kanserleri (203,204), prostat kanserinde (205), lökosit hastalıklarında (195), ve hematolojik malignansilerde DNA tamir geni XRCC1 geni polimorfizmleri incelenmiştir (206).

2.4.3. APE1 (apurinic/apyrimidinic endonuclease)

APE1 geni 14. kromozomun uzun kolunun 11.2 bölgesinde (14q11.2) lokalizedir ve 318 aminoasit uzunluğundaki APE proteinini kodlamaktadır (207).

APE1 proteini, DNA tamir mekanizmasının önemli enzimlerinden biridir. Purin ve/veya pirimidin bazını yitirmiş bir deoksiriboz şekeri APE1 enzimi tarafından tanınır, enzim fosfodiester omurgayı keser ve hasarlı bölgeyi çıkartır. Daha sonra bir fosfodiesterazın yardımıyla hasar onarılmaya başlanır. Tek nükleotidlik boşluk, DNA polimeraz ile DNA ligaz tarafından doldurulur (208). Ayrıca endonukleaz aktivitesine ek olarak 3'-5' DNA ekzonükleaz, 3' fosfataz, 3' fosfodiesteraz aktivitelerine sahiptir. Yapılan son çalışmalar kodon 148'deki Asp148Glu polimorfizminin APE1 aktivitesiyle doğrudan ilişkili olduğunu göstermiştir (209).

2.4.4. XPD (xeroderma pigmentosum group D)

Xeroderma pigmentosum group D (XPD) geni, nükleotid kesipçikarma tamirinde görev alan bir tamir genidir. XPD tamir geni 19. kromozomun q kolunun 13.32 bölgesinde (19q13.32) bulunur. XPD, 23 ekzonu, 22 intronu ve transkripsiyon ürünü 760 aminoasit olan bir gendir (210). Transkripsiyon faktörü II H (TFIIH)'nin bazal transkripsiyon kompleksinin bir alt ünitesidir. DNA tamirinde, ATP'ye bağımlı 5'→3' helikaz aktivitesi göstermektedir. Bu helikaz aktivitesi sayesinde DNA tamiri esnasında hasarlı bölgenin etrafını açarak tamirde büyük rol oynar. XPD tamir geninde birçok polimorfizm tanımlanmış olup, en önemli polimorfizmler 156, 312 ve 751 kodonlarındadır. Bu polimorfizmler aminoasit değişikliklerine neden olur. Kodon 751'de oluşan polimorfizm, lizin (Lys)'in glutamin (Gln) aminoasidine dönüştürür. XPD geninde oluşan polimorfizmler DNA tamir kapasitesi ve kanser riski ilişkisinde bilgi vericidir. Bu polimorfizmlerin özellikle kanser, Xeroderma pigmentosum, Cockayne sendromu ve çeşitli nörolojik bozukluklara sebep olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (210,211).

XPD kodon 751 polimorfizmi birçok hastalıkta çalışılmıştır. Özellikle kolorektal bezler ve kanserlerinde (212,213), meme kanserlerinde (194,214,215) pankreas kanserlerinde (216), mesane kanserleri (217), akciğer kanserleri (204), lökosit hastalıklarında (218,219), prostat kanserinde (205), deri kanserlerinde (220), ve hematolojik malignansilerde DNA tamir geni XPD polimorfizmleri incelenmiştir (221,222).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kontrol ve Çalışma Grubu

Kontrol grubu, 15-49 yaş aralığında, PKOS tanı kriterlerine uymayan, herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 90 sağlıklı bireyden oluşturuldu.

Çalışma grubu, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvurup, klinik olarak PKOS tanısı konmuş 105 olgudan oluşturuldu.

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

1. Oligo-amenore
2. Hiperandrojenizm klinik ve/veya biyokimyasal belirteçleri
3. USG'de polikistik over görünümü ile diğer sebeplerin dışlanması (en az tek taraflı 2-9 mm'lik 12 adet follikül varlığı veya en az 10 cm³'lük over hacmi esas alınmıştır).

PKOS tanısı için tanımlanan 3 kriterden ikisinin varlığı gerekmektedir.

Tüm olguların ayrıntılı anamnezlerinin alınmasını takiben kilo ve boyları ölçülerek VKİ (Vücut ağırlığı (kg)/boy (m²)) formülüne göre hesaplandı. Bel ve kalça çevresi ölçülerek WHR (Bel Kalça Oranı'Waist-Hip Ratio') hesaplandı. Klinik hirsutizmin tanı ve derecelendirilmesi için F/G metodu kullanıldı (223). Bu sisteme göre 9 anatomik bölge (bıyık ve sakal bölgesi, göğüs, meme areolası, linea alba, sırtın üst kısımları, sırtın aşağı kısımları, kalçalar, uyluk iç kısımları ve dış genital) değerlendirildi; her bölge için 0 (terminal kıl gelişimi yok) ile 4 (maksimum kıl gelişimi) arasında puan verildi. Sekizin altındaki skor normal kabul edilirken, 8-36 arasındaki skor patolojik olarak değerlendirilerek hirsutizm derecesiyle doğru orantılı kabul edildi. Polikistik over sendromlu hastalarla kontrol grubunun demografik, antropometrik ölçümleri ve laboratuvar değerleri karşılaştırıldı.

Overler Pelvik USG ile değerlendirilmiş olup görünümüne göre normal veya polikistik over olarak gruplandırıldılar.

Tüm hastalardan bir gecelik açlığı takiben sabah saat 08-09 arasında istirahat halinde biyokimyasal tetkikler için venöz kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde rutin biyokimyasal parametrelere bakıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm

olgularda açlık kan glukozu, açlık insülini, total kolesterol, trigliserid, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, VLDL-kolesterol, beyaz kan hücresi (WBC), hemoglobin, hematokrit değerleri ve spontan veya progesteronla indüklenmiş menstürasyonun ilk 5 günü içerisinde FSH, LH, E2, progesteron, total testosteron, prolaktin, DHEAS ve fT3, fT4, TSH düzeylerine bakıldı.

Çalışmaya katılan her birey ‘Gönüllü Olur Formu’nu imzalayıp, çalışmaya katılmayı kabul etti. Ayrıca, her olgudan EDTA’lı tüplere 3’er ml olmak üzere toplam 2 tüp kan örneği alındı.

Çalışma protokolümüz Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu tarafından 26.10.2011 tarihli ve 2011/27 sayılı kararı ile onaylandı. Ayrıca çalışmamızın finansal desteği Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından karşılandı.

3.2. APEX1, XRCC1 ve XPD gen polimorfizmlerinin analizi

Araştırmadaki amacımıza uygun olarak seçilen kontrol ve çalışma grubu olgularının DNA’ları izole edildikten sonra, APE1, XRCC1 ve XPD gen polimorfizm analizi için Real Time-PCR (Eş-Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) gerçekleştirildi.

RT-PCR reaksiyonları için ilgili gen bölgelerine uygun primer ve problemler seçildi. Reaksiyon karışımlarına gerekli dNTP, Mg^{2+} ve enzim eklenerek uygun çalışma protokolleri ile erime noktası (T_m) analiz edilerek mutasyonlar saptandı. Analiz sonuçlarına göre genotipler yapıldı.

3.3. APE1, XRCC1 ve XPD Genlerinin Polimorfizminin Analizi **Aşamaları ve Kullanılan Kimyasallar**

3.3.1. DNA izolasyonu için kullanılan kimyasallar

1. Bağlanma Çözeltisi (Binding Buffer)
2. Proteinaz K
3. İnhibitör Uzaklaştırıcı Çözelti (Inhibitor Removal Buffer)
4. Yıkama Çözeltisi (Wash Buffer)
5. Elüsyon Çözeltisi (Elution Buffer)
6. Filtre tüpleri

7.Toplama (Collection) tüpleri

3.3.2. RT-PCR Hibridizasyon Problemleri

APE1, XRCC1 ve XPD gen polimorfizmini RT-PCR (real time-PCR) ile saptamak için Hibridizasyon Problemleri kullanıldı.

1. Prob
2. MgCl₂ (25mM)
3. H₂O: saf su
4. Reaksiyon karışımı (her bir ilgili gen bölgesi için spesifik karışım)

3.4. APE1, XRCC1 ve XPD genlerinin Polimorfizmi için Çalışma Protokolü

3.4.1. 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 ayarlanan kuru ısı bloğunda 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
3. Inkübasyon sonunda, karışım üzerine 100 µl izopropanol eklendi ve pipetaj ile iyice karıştırıldı.
4. 1.5ml'lik pastik tüp içinde bulunan örneğin tamamı, toplama tüpü içine yerleştirilmiş filtreli tüpün içine pipetlendi.
5. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrasında filtreli kısım yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
7. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı çözelti eklendi.
8. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
9. Santrifüj sonrasında filtreli kısım yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
10. 500 µl yıkama çözeltisi eklenerek, 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
11. Filtreli tüpler yeni toplama tüplerine aktarıldı ve üzerlerine ikinci kez 500 µl yıkama çözeltisi eklendi.
12. 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.

13. Santrifüj bittikten sonra, tüplerin üst kısmında biriken üstnatant uzaklaştırıldı ve kalan miktar tekrar 17.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi.
14. Filtreli tüpler temiz birer 1.5ml'lik pastik tüpün içine yerleştirildi ve 72°C'ye ayarlanmış kuru ısı bloğunda ısıtılmış olan elüsyon çözeltisinden 200 µl ilave edilerek 2-3 dakika oda ısısında bekletildi ve sonrasında 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi
15. Santrifüj sonrasında filtreli kısım atıldı. 1.5ml'lik tüpte kalan çözelti genomik DNA'yı içermektedir.
16. DNA konsantrasyonu spektrofotometre ve/veya konsantrasyon jeli ile tespit edildi ve gerekirse çalışmaya uygun olan 50pm/µl konsantrasyona ayarlandı.

3.4.2. Real Time PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'da, dizisi bilinen belirli bir bölgenin çoğaltılmasına (amplifikasyon) olanak veren in vitro DNA sentez yöntemidir.

Genel olarak PCR, 3 ana basamaktan oluşur:

1. Denatürasyon
2. Bağlanma
3. Uzama

PCR karışımında bulunan bileşenler;

1. Genomik DNA
2. Bir çift primer
3. DNA zincirinin uzama reaksiyonunu gerçekleştiren ısıya dayanıklı polimeraz enzimi
4. Enzimin çalışması için gerekli kofaktör olarak görev yapan Mg iyonunu sağlayan $MgCl^2$
5. Yapılan amplifikasyona göre değişik miktarlarda hazırlanan dNTP karışımı (dATP, dCTP, dGTP, dTTP).
6. Deiyonize veya steril su

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

3.5. APE1, XRCC1 ve XPD Mutasyonlarının RT-PCR için Termal Profili

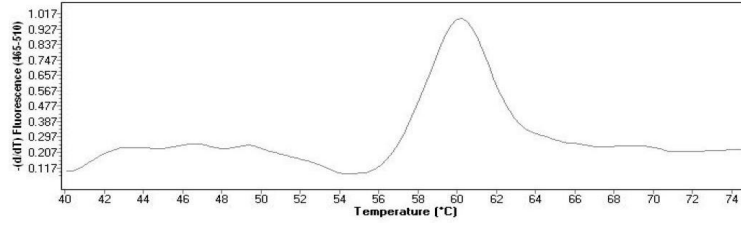
APE1, XRCC1 ve XPD mutasyonlarını belirlemek için kullanılan termal profil; denatürasyon, kantifikasyon, erime eğrisi ve soğutma parametreleri olarak belirlendi ve ayarları kaydedildi.

3.6. APE1, XRCC1 ve XPD Mutasyonlarının Sonuçlarının Değerlendirilmesi

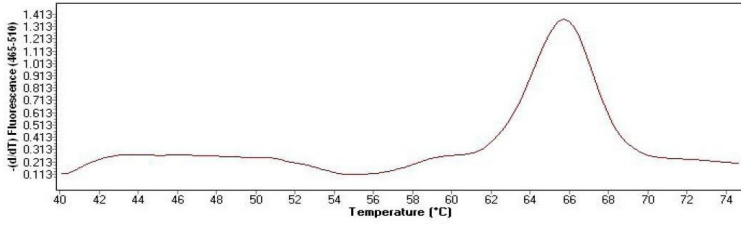
RT-PCR çalışması sonunda, erime eğrisi analizinde oluşan piklerin erime derecelerine göre homozigot yabanıl (wt=wild type), homozigot mutant ve heterozigot genotipler ayırt edildi. Heterozigot genotipler iki farklı erime derecesinde iki pike sahipken, homozigot mutant ve homozigot yabanıl genotipler aynı erime derecesinde iki pike sahiptir.

XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi için G (Arg) alleli T_m (erime) değeri 61.8°C, A (Gln) alleli T_m değeri 67.1°C.

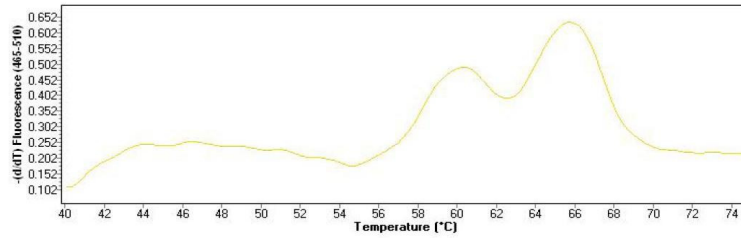
GG genotipi homozigot yabani, AA genotipi homozigot mutant, GA genotipi de heterozigot mutant genotiplerdir.



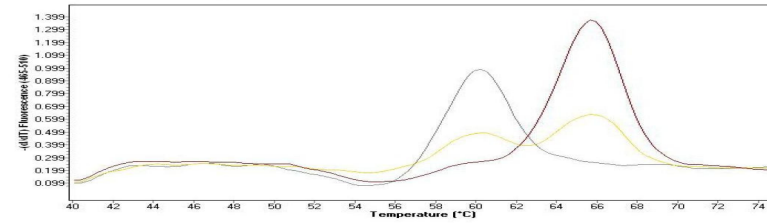
Grafik 3.1. XRCC1-GG (homozigot yabani)



Grafik 3.2. XRCC1-AA (homozigot mutant)



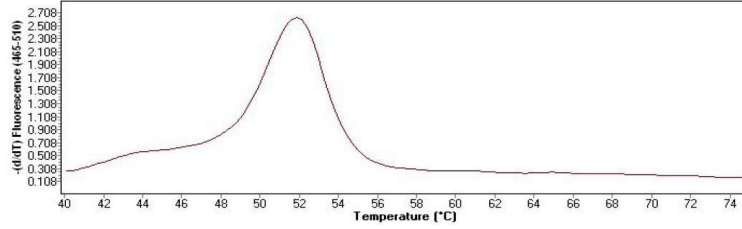
Grafik 3.3. XRCC1-GA (heterozigot mutant)



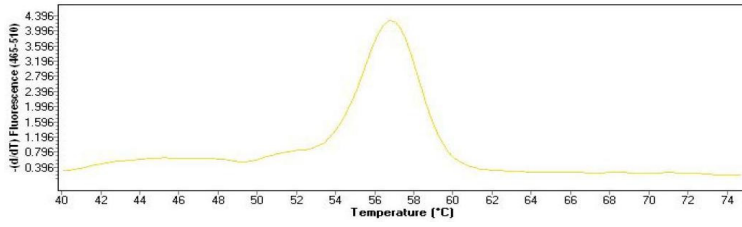
Grafik 3.4. XRCC1-GG,AA,GA

APE1 Asp148Glu polimorfizmi için C (Asp) alleli T_m (erime) değeri 53.8°C, A (Glu) alleli T_m değeri 59.0°C.

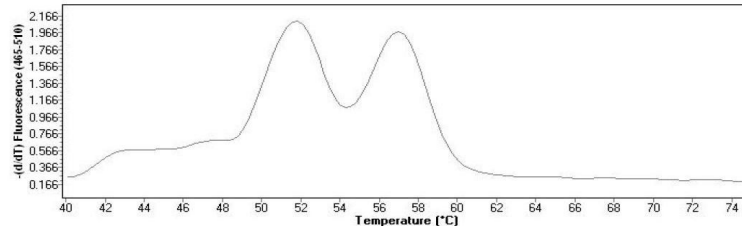
CC genotipi homozigot yabanıl, AA genotipi homozigot mutant, CA genotipi de heterozigot mutant genotiplerdir



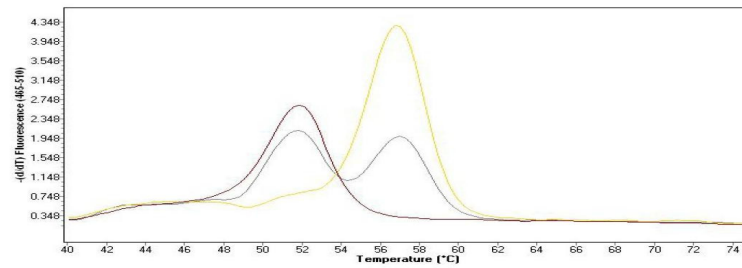
Grafik 3.5. APE-CC (homozigot yabanıl)



Grafik 3.6. APE-AA (homozigot mutant)



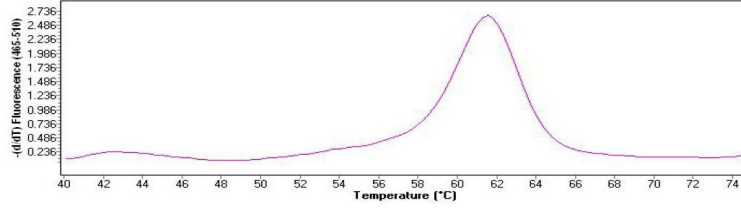
Grafik 3.7. APE-CA (heterozigot mutant)



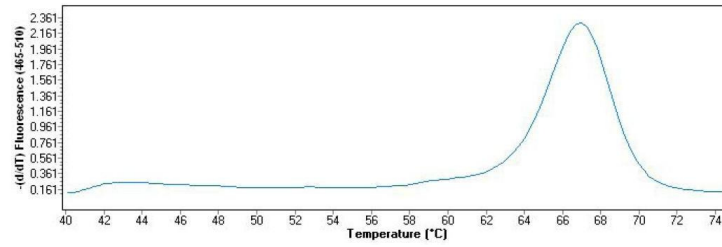
Grafik 3.8. APE-CC, AA, CA

XPB Lys751Gln polimorfizmi için T (Lys) alleli T_m (erime) değeri 63.0°C, C (Gln) alleli T_m değeri 68.5°C.

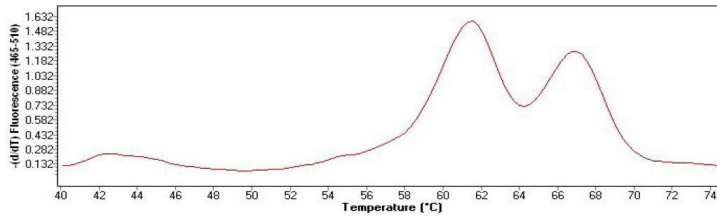
TT genotipi homozigot yabani, CC genotipi homozigot mutant, TC genotipi de heterozigot mutant genotiplerdir



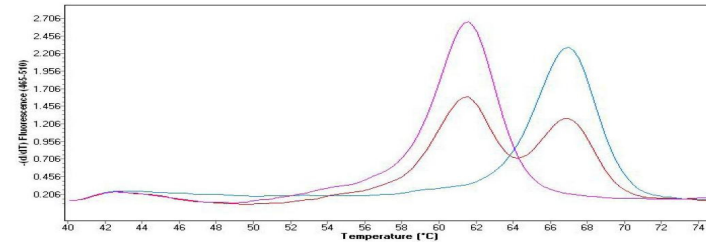
Grafik 3.9. XPD-TT (homozigot yabani)



Grafik 3.10. XPD-GG (homozigot mutant)



Grafik 3.11. XPD-TG (heterozigot mutant)



Grafik 3.12. XPD-TT, GG, TG

3.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin (demografik özellikler ve laboratuvar sonuçları) analizi SPSS for Windows 11. 5 paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma veya ortanca (çeyrekler arası genişlik) olarak kategorik değişkenler ise olgu sayısı ve (%) şeklinde

gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği Student's t testi ile ortanca değerler yönünden farkın önemliliği ise Mann Whitney U testi ile incelendi. Kategorik değişkenler Pearson'un Ki-Kare testiyle değerlendirildi. $P \leq 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışmanın genotip analizi sonucunda elde edilen veriler Epi İnf 3.5.3 istatistik programı yardımıyla hesaplandı. $p \leq 0,05$ olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Laboratuvar bulguları ve demografik özellikler

Çalışmaya Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda PKOS teşhisi konulan 105 olgu ve 90 normal olgu dahil edildi.

Araştırmaya dahil edilen olguların fiziksel özellikleri Tablo 4.1'de gösterildi. Gruplar arası olguların yaş ($p<0,001$), vücut ağırlığı ($p<0,001$), vücut kitle indeksleri (VKİ) ($p<0,001$) bel çevresi ($p<0,001$), kalça çevresi ($p<0,001$) ve bel/kalça çevresi oranları ($p<0,001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken, boy uzunluğunda ($p=0,316$) fark bulunmadı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Olguların fiziksel özellikleri.

Fiziksel Özellikleri	Kontrol Grubu (n=90) X±SS	PKOS Grubu (n=105) X±SS	p
Yaş (yıl)	25,3±5,0	23,0±4,9	<0,001
Vücut ağırlığı (kg)	57,3±7,3	64,8±14,2	<0,001
Boy uzunluğu (m)	162,8±6,5	161,9±5,6	0,316
VKİ (kg/m^2)	21,7±2,8	24,7±5,5	<0,001
Bel Çevresi (cm)	73,3±9,0	80,2±13,4	<0,001
Kalça Çevresi (cm)	97,8±6,8	102,6±11,1	<0,001
Bel/Kalça Oranı	0,75±0,06	0,78±0,07	<0,001

Olguların menstrüel sikluslarının gruplara göre dağılımı sayı (n) ve yüzde (%) olarak Tablo 4.2'de gösterildi. Menstrüel siklus düzenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Olguların menstrüel siklus düzenleri.

	Kontrol Grubu (n=90)	PKOS Grubu (n=105)	p
Menstrüel Siklus			<0,001
Oligo-Amenore	1 (%1,1)	87 (%82,9)	
Düzenli Siklus	89 (%98,9)	18 (%17,1)	

Olguların hirsutizm, sigara öyküsü ve polikistik USG’lerinin gruplara göre dağılımı sayı (n) ve yüzde (%) olarak Tablo 4.3’de gösterildi. Hirsutizm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Olguların hirsutizm, sigara öyküsü ve polikistik USG sonuçları.

	Kontrol Grubu (n=90)	PKOS Grubu (n=105)	p
Hirsutizm	7 (%7,8)	72 (%68,6)	<0,001
Sigara Öyküsü	18 (%20,0)	18 (%17,1)	0,608
Polikistik USG	23 (%25,6)	105 (%100,0)	

Araştırmaya dahil edilen olguların kan şekeri özellikleri Tablo 4.4’de gösterildi. Gruplar arası olguların açlık kan şekeri (AKŞ) ($p=0,007$), insülin ($p<0,001$), ve AKŞ/İnsülin oranları ($p<0,001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Olguların kan şekeri sonuçları.

	Kontrol Grubu (n=90)	PKOS Grubu (n=105)	p
AKŞ	86,0 (7,0)	90,0 (9,0)	0,007
İnsülin	2,0 (2,0)	3,9 (5,7)	<0,001
AKŞ/İnsülin	41,1 (22,6)	22,5 (30,8)	<0,001

Olguların lipit profilleri Tablo 4.5’da gösterildi. Gruplar arası trigliserid ve VLDL ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (<0,001).

Tablo 4.5. Olguların lipit profili sonuçları.

Lipit Profili	Kontrol Grubu (n=90)	PKOS Grubu (n=105)	p
Total Kolesterol	158,0 (29,2)	166,0 (42,0)	0,355
Trigliserid	70,5 (27,0)	83,0 (55,0)	<0,001
HDL	52,1±9,6	50,0±11,8	0,198
LDL	93,7 (26,9)	95,7 (35,0)	0,879
VLDL	14,1 (5,4)	16,6 (10,3)	<0,001

Olguların FSH, DHEAS ve Testosteron hormonlarında ve LH/FSH oranlarında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (<0,001) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Olguların hormon paneli.

Hormon Paneli	Kontrol Grubu (n=90)	PKOS Grubu (n=105)	p
FSH	6,5 (2,8)	5,3 (2,0)	<0,001
LH	5,1 (3,7)	6,1 (5,3)	0,151
LH/FSH	1,2 (0,9)	0,8 (1,0)	<0,001
E2	37,4 (22,3)	42,3 (24,7)	0,085
P	0,33 (0,22)	0,30 (0,27)	0,603
PRL	14,0 (10,5)	13,0 (11,0)	0,306
DHEAS	181,0 (108,7)	225,0 (126,0)	<0,001
Testosteron	20,0 (8,3)	32,6 (24,7)	<0,001

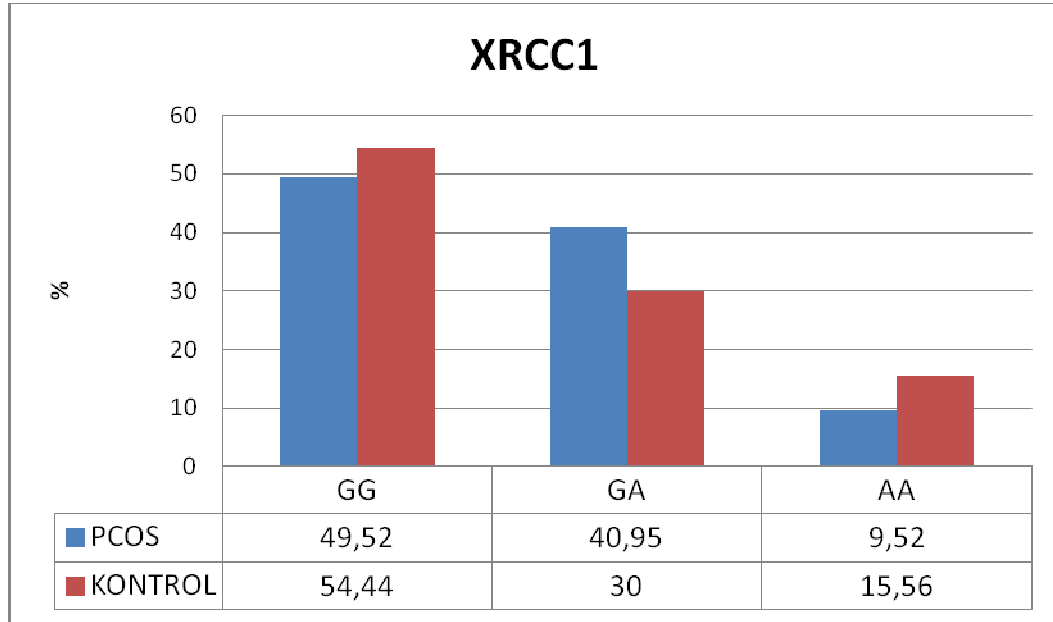
4.2. XRCC1 (Arg399Gln)

XRCC1 geninin Arg399Gln polimorfizm bölgesinin PKOS ve kontrol grubu için genotip ve allel dağılımı Tablo 4.7’de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi PKOS hastalarının XRCC1 geninin 399. kodonu ile ilgili 52’sinin yabancıl tip homozigot, 10’unun mutant tip homozigot ve 43’ünün heterozigot genotipte olduğu görüldü. Kontrol grubunun ise 49’unun yabancıl tip homozigot, 14’ünün mutant tip homozigot ve 27’sinin heterozigot genotipte olduğu görüldü. Buna göre, GG (Arg/Arg) genotipi PKOS grubunda %49.52, kontrol grubunda %54.44; GA (Arg/Gln) genotipi PKOS grubunda %40.95, kontrol grubunda %30; AA (Gln/Gln) genotipi PKOS grubunda %9.52, kontrol grubunda %15.56 oranında görüldü. G (Arg) allel frekansı PKOS grubunda %70, kontrol grubunda %69.44; A (Gln) allel frekansı PKOS grubunda %30, kontrol grubunda %30.56 olarak belirlendi.

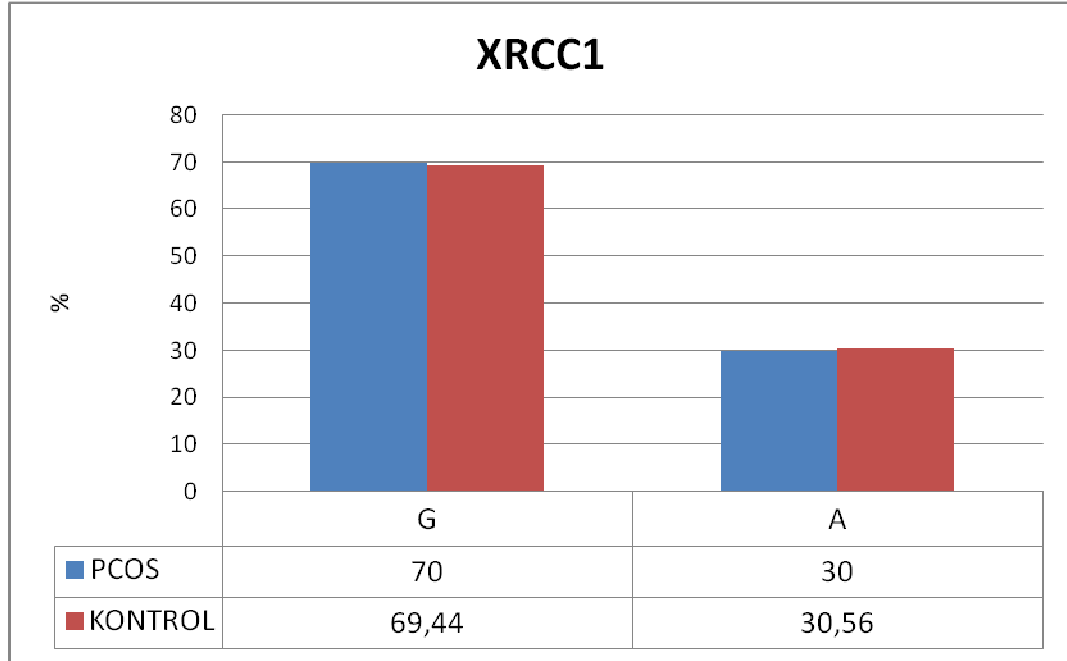
PKOS ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.90).PKOS ve kontrol grubu arasında homozigot yabancıl (GG) ve homozigot mutant (AA) genotip dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.3872).

Tablo 4.7. Çalışma Gruplarına Ait XRCC1 Genotip ve Allel Dağılımı

	HASTA (n=105)	KONTROL (n=90)	p
XRCC1 genotipi			P>0,05
GG	52 (%49,52)	49 (%54,44)	
GA	43 (%40,95)	27 (%30,0)	
AA	10 (%9,52)	14 (%15,56)	
Allel frekansı			
G	147 (%70)	125 (%69,44)	P>0,05
A	63 (%30)	55 (%30,56)	



Grafik 4.1. XRCC1 Arg399Gln için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri



Grafik 4.2. XRCC1 Arg399Gln için PKOS ve kontrol gruplarında G (Arg) ve A (Gln) allel frekansları

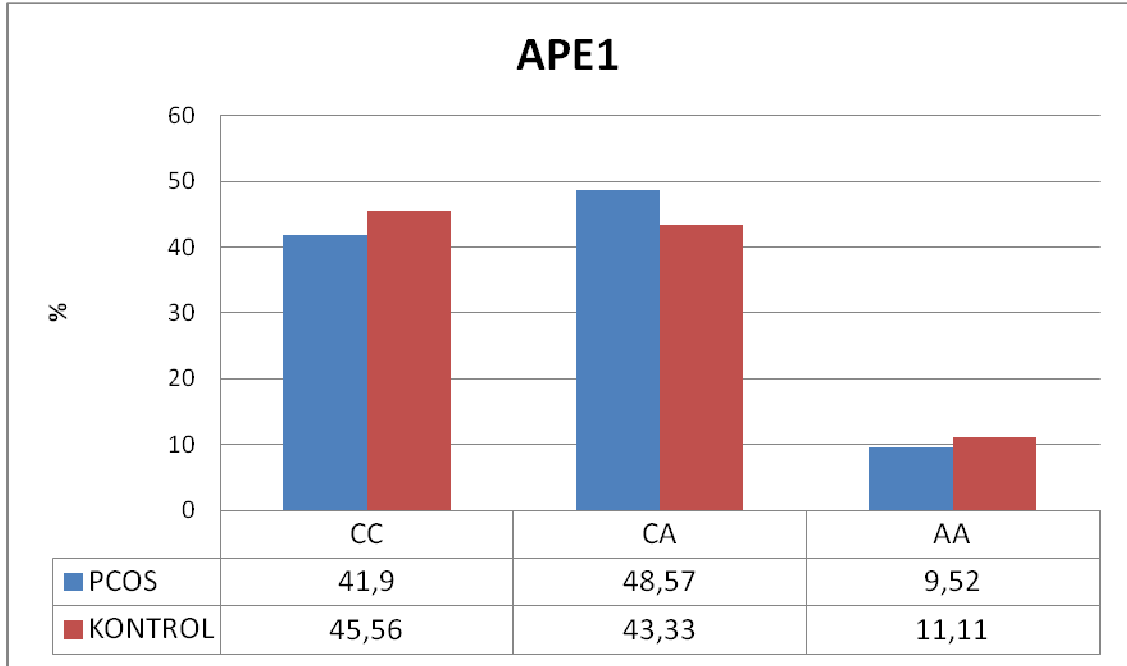
4.3. APE1 (Asp148Glu)

APE1 geninin Asp148Glu polimorfizm bölgesinin PKOS ve kontrol grubu için genotip ve allel dağılımı Tablo 4.8’de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi PKOS hastalarının APE1 geninin 148. kodonu ile ilgili 44’ünün yabancı tip homozigot, 10’unun mutant tip homozigot ve 51’inin heterozigot genotipte olduğu görüldü. Kontrol grubunun ise 41’inin yabancı tip homozigot, 10’unun mutant tip homozigot ve 39’unun heterozigot genotipte olduğu görüldü. Buna göre, CC (Asp/Asp) genotipi PKOS grubunda %41.9, kontrol grubunda %45.56; CA (Asp/Glu) genotipi PKOS grubunda %48.57, kontrol grubunda %43.33; AA (Glu/Glu) genotipi PKOS grubunda %9.52, kontrol grubunda %11.11 oranında görüldü. C (Asp) allel frekansı PKOS grubunda %66.19, kontrol grubunda %67.22; A (Glu) allel frekansı PKOS grubunda %33.81, kontrol grubunda %32.78 olarak belirlendi.

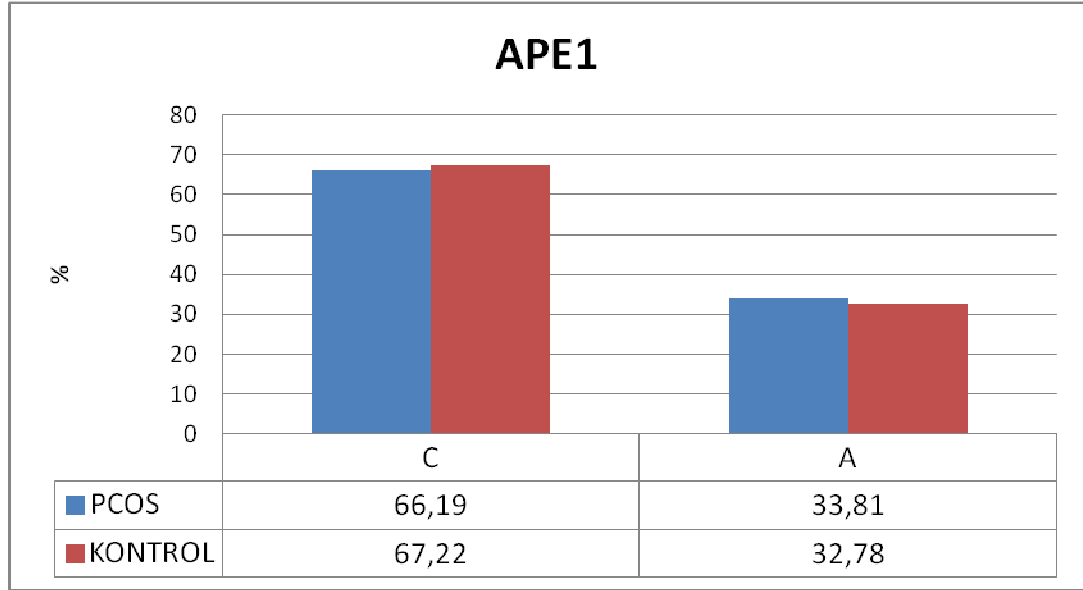
PKOS ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.83$).Yine PKOS ve kontrol grubu arasında homozigot yabancı (CC) ve homozigot mutant (AA) genotip dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.8870$).

Tablo 4.8. Çalışma Gruplarına Ait APE1 Genotip ve Allel Dağılımı

	HASTA (n=105)	KONTROL (n=90)	p
APE1 genotipi			P>0,05
CC	44 (%41,9)	41 (%45,56)	
CA	51 (%48,57)	39 (%43,33)	
AA	10 (%9,52)	10 (%11,11)	
Allel frekansı			P>0,05
C	139 (%66,19)	121 (%67,22)	
A	71 (33,81)	59 (%32,78)	



Grafik 4.3.APE1 Asp148Glu için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri



Grafik 4.4. APE1 Asp148Glu için PKOS ve kontrol gruplarında C (Asp) ve A (Glu) allel frekansları

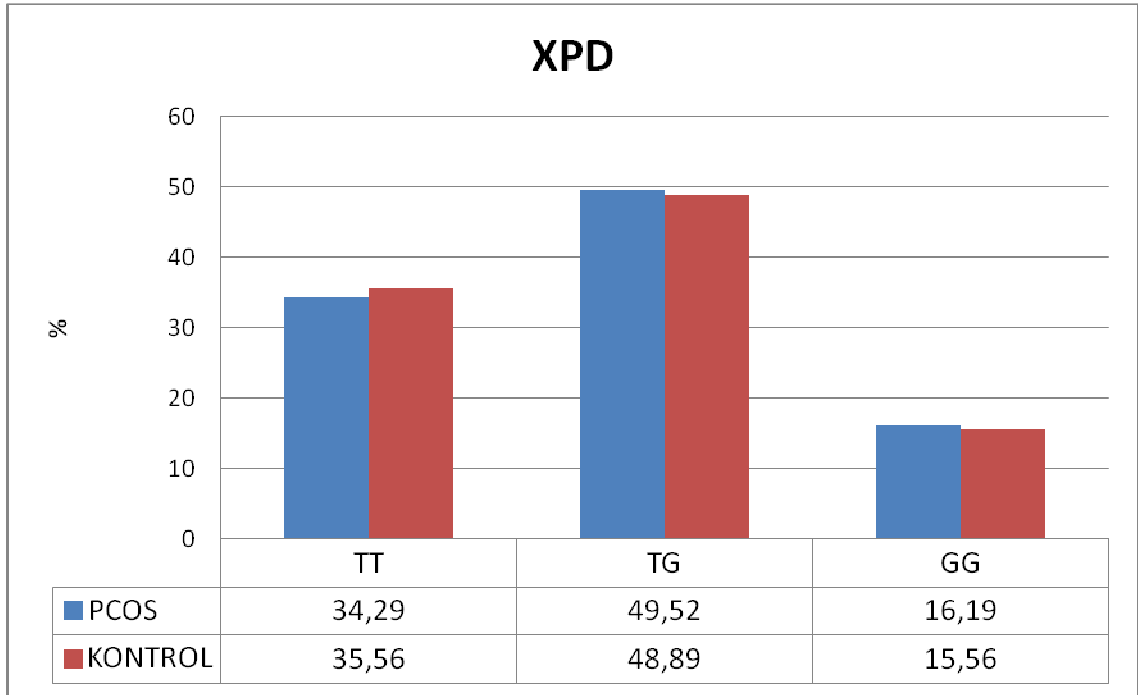
4.4. XPD (Lys751Gln)

XPD geninin Lys751Gln polimorfizm bölgesinin PKOS ve kontrol grubu için genotip ve allel dağılımı Tablo 4.9’da verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi PKOS hastalarının XPD geninin 751. kodonu ile ilgili 36’sının yabancı tip homozigot, 17’sinin mutant tip homozigot ve 52’sinin heterozigot genotipte olduğu görüldü. Kontrol grubunun ise 32’sinin yabancı tip homozigot, 14’ünün mutant tip homozigot ve 44’ünün heterozigot genotipte olduğu görüldü. Buna göre, TT (Lys/Lys) genotipi PKOS grubunda %34.29, kontrol grubunda %35.56; TG (Lys/Gln) genotipi PKOS grubunda %49.52, kontrol grubunda %48.89; GG (Gln/Gln) genotipi PKOS grubunda %16.19, kontrol grubunda %15.56 oranında görüldü. T (Lys) allel frekansı PKOS grubunda %59.05, kontrol grubunda %60; G (Gln) allel frekansı PKOS grubunda %40.95, kontrol grubunda %40 olarak belirlendi.

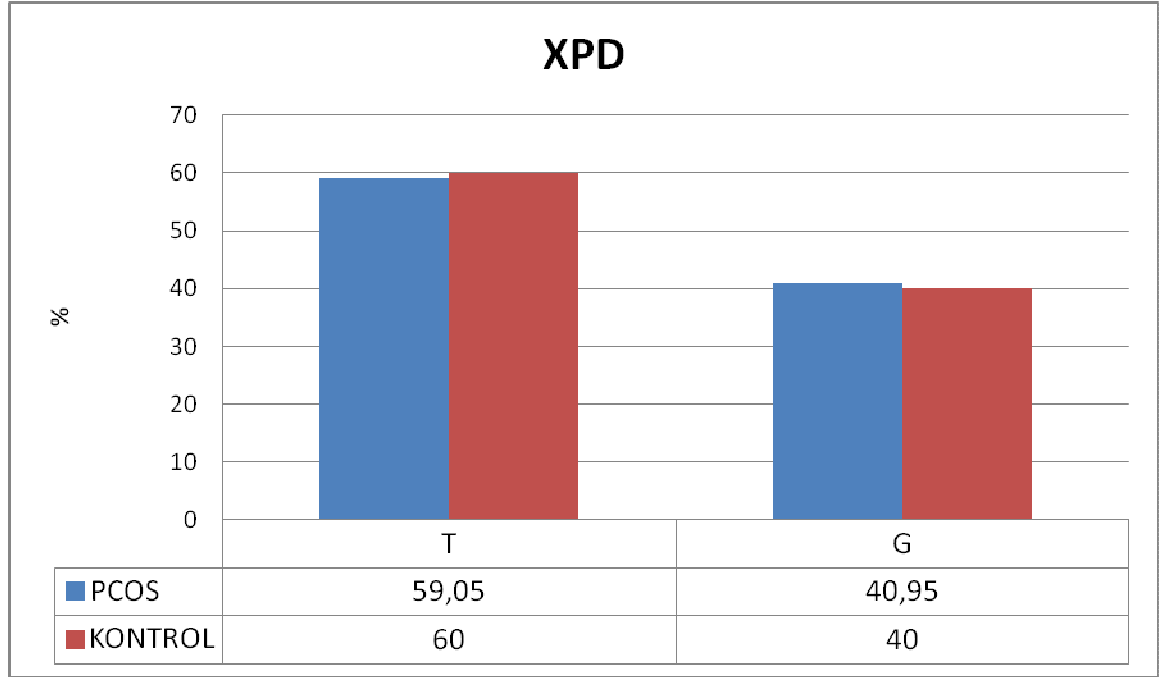
PKOS ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.85$). Yine PKOS ve kontrol grubu arasında homozigot yabancı (TT) ve homozigot mutant (GG) genotip dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.8606$).

Tablo 4.9. Çalışma Gruplarına Ait XPD Genotip ve Allel Dağılımı

	HASTA (n=105)	KONTROL (n=90)	p
XPD genotipi			P>0,05
TT	36 (%34,29)	32 (%35,56)	
TG	52 (%49,52)	44 (%48,89)	
GG	17 (%16,19)	14 (%15,56)	
Allel frekansı			P>0,05
T	124 (%59,05)	108 (%60)	
G	86 (%40,95)	72 (%40)	



Grafik 4.5. XPD Lys751Gln için PKOS ve kontrol gruplarında genotip dağılım yüzdeleri



Grafik 4.6. XPD Lys751Gln için PKOS ve kontrol gruplarında T (Lys) ve G (Gln) allel frekansları

5. TARTIŞMA

PKOS'lu hastalarda kronik karşılanmamış östrojen etkisi, kronik anovulasyon, obezite ve hiperinsülinemi endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom riskini artırabilecek özelliklerdir (2). Anovulasyon, endometriumun östrojenin mitojenik etkilerine maruz kalmasına ve progesteronla karşılanamayan bu etkinin sürekli olmasına neden olur, sonuçta atipili veya atipisiz endometrial hiperplazi ve kanser sıklığı artar (3). Östrojen ve deriveleri, metabolik reaksiyonlar süresince üretilen ROS (Reaktif oksijen deriveleri) ile DNA hasarını indükler. DNA hasarı sonuç olarak DNA tamir sürecini başlatır (225,226).

Son yıllarda yapılan pek çok çalışma, PKOS'un, serbest radikallerin oluşumundaki artışla ve antioksidan potansiyelindeki düşüş ile ilişkili olduğunu ve hücrede oksidatif hasara sebebiyet verdiğini göstermektedir (147,148,149,150).

ROS'un çok fazla üretilip birikmesinin, oksidatif strese yol açarak, hücrel biyomoleküllerin fizyolojik fonksiyonunu ve bütünlüğünü bozduğu ve aynı zamanda hücrelerin canlılığına, işlevselliğine zarar verdiği bildirilmektedir (226).

Oksidatif stres, vücudun antioksidan mekanizmasını bozarak; DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna, protein modifikasyonlarına ve beraberinde kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, ateroskleroz, nörolojik hastalıklar (Alzheimer, Parkinson), kronik inflamasyon gibi pek çok rahatsızlığa sebep olmaktadır (227).

Oksidatif hasarın sebep olduğu mutasyonlar tamir edilemezse seçilmiş hücrelerde tümörleşme hızlanır (228).

Alkilleme, deaminasyon ve oksidatif hasar sonucu oluşan DNA hasarı, temel olarak BER (Baz eksizyon tamiri) yolu ile onarılır (229,230). APE1 (Aprürinik/aprimidinik endonükleaz 1) ve XRCC1 (X-ray repair cross-complementing 1) genleri BER yolunda görevli genlerdir (231, 232). Östrojen ve bazı deriveleri genotoksiktir ve karsinogenezi etkiler (225,233). Bu tip hasarlar genellikle NER (Nükleotid eksizyon tamiri) yolu ile tamir edilirler. XPD (Xeroderma pigmentosum group D), NER mekanizması ile DNA tamirinde görev alan bir gendir (234).

BER ve NER yolundaki aksaklıklar DNA hasar onarımında bozukluklara ve dolayısıyla tümörleşmenin kontrolünde bozukluğa ve tümör oluşumuna sebep

olacağı düşünülerek, bu yollarda görevli olan XRCC1, APE1, XPD genlerini, over ve endometrium kanser riskini arttırdığından dolayı PKOS'da araştırdık.

APE1 ile 18 polimorfizm ilişkilendirilmiş olmakla beraber, bunların içerisinde en çok çalışılanı Asp148Glu polimorfizmidir (235). XRCC1 kodon 194 (Arg/Trp) ve 399 (Arg/Gln), XPD kodon 312 (Asp/Asn) ve 751 (Lys/Gln) polimorfizmleri, fonksiyonel önemlerinden dolayı çeşitli kanser grupları ile ilişkileri araştırılan polimorfizmlerdir (236, 237).

Çalışmamızda XRCC1 (Arg399Gln), APE1 Asp148Glu ve XPD (Lys751 Gln) polimorfizmlerinin PKOS oluşumuna muhtemel etkisini araştırdık.

5.1. XRCC1 (Arg399Gln)

Bizim çalışmamızda XRCC1 (Arg399Gln) polimorfizm bölgesindeki genotip dağılımları ve allel frekansları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

327 leiomyom ve 197 kontrol grubunun dahil edildiği bir çalışmada; hasta grubunda Arg/Arg genotipi %46.2, Arg/Gln %53.2, Gln/Gln genotipi %0.6, kontrol grubunda ise Arg/Arg genotipi %85.8, Arg/Gln %13.7 ve Gln/Gln genotipi %0.5 oranında bulunmuştur ($p < 0.001$). Arg/Gln genotipinin Arg/Arg genotipine kıyasla uterin leiomyomda önemli bir risk artışı gösterdiği bulunmuştur (OR 6.79; 95% CI 4.20-10.99; $p < 0.001$). Ancak homozigot 399Gln alleli için uterin leiomyomda risk artışı bulunmamıştır ($p = 0.384$). Bu çalışmada Kore'li kadınlarda, XRCC1'in 399Gln polimorfizminin uterin leiomyomda artmış riskle ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (20).

Çin halkında, 136 uterin leiomyom ve 140 kontrol grubu arasında yapılan bir çalışmada ise; XRCC1 Arg399Gln, Arg194Trp ve Arg280His polimorfizmleri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre kodon 399 ve 194 genotipleri için hasta ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu iki kodon için allel frekansları da iki grupta aynı sonuçları göstermiştir. Kodon 280'in genotip ve allel frekansları hasta ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık göstermiştir. Sonuç olarak XRCC1 kodon 280'in uterin leiomyom için risk faktörü olabileceği, kodon 399 ve 194'ün bir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır (19).

Endometriozis ile XRCC1 Arg399Gln polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada hasta (n=140) ve kontrol (n=100) grupları arasında genotip ve allel frekansı anlamlı olarak farklıydı ($p<0.05$). Hasta grupta (%41.9) “GG” homozigot olanlar kontrol grubundan (%30) fazlaydı ve bunun anlamı bu allele sahip kişilerin daha yüksek endometriozis riskine sahip olmalarıydı. Hasta grupta G aleli sıklığı (%68) kontrol grubundan (%57.5) daha fazla bulundu. Sonuçlar gösterdi ki; XRCC1 Arg399Gln polimorfizminin G aleli yüksek endometriozis duyarlılığı ile ilişkilidir (18).

Türk toplumunda endometriozisde XRCC1 (Arg399Gln) polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada hasta (n=52) ve kontrol (n=101) grupları arasında XRCC1 Arg399Gln genotip ve allel frekansları açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Hasta grupta GG genotipi %76.9, GA genotipi %23.1, kontrol grubunda ise GG genotipi %85.1, GA genotipi %14.9 oranında saptanmıştır. Her iki grupta da AA genotipine rastlanmamıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında bu genin endometriozis derecesiyle de ilişkisi saptanmamıştır ($p>0.05$) (23).

Yine Türk toplumunda XRCC1 (Arg399Gln) polimorfizmi ile pre-eklampsi riski araştırılmış, genotip ve allel sıklığı açısından hasta (n=101) ve kontrol (n=107) grupları arasında ilişki bulunmamıştır. Kontrol grubunda GG %41.1, GA %49.5, AA %9.4 oranında, pre-eklampsi grubunda ise GG %38.6, GA %47.5 ve AA %13.9 oranında bulunmuştur (21).

Sağlıklı Türk populasyonunda XRCC1 (Arg399Gln) polimorfizminin sıklığını inceleyen 2006 tarihli bir çalışmada Arg/Arg genotipi %37.3, Arg/Gln genotipi %45.2, Gln/Gln genotipi ise %17.5 olarak bildirilmiştir (238). Allel frekansları 399Arg için %60, 399Gln için %40 olarak bildirilmiştir.

XRCC1 (Arg399Gln) polimorfizminin endometrium kanseri ile ilişkisi araştırılmış ve Gln/Gln genotipi endometrium kanser (n=104) hastalarında kontrol grubuna (n=148) göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($P,0.009$). Genotip dağılımları hasta grubunda Arg/Arg %82.7, Gln/Gln %4.8, Arg/Gln %12.5 ve kontrol grubunda Arg/Arg %87.3, Gln/Gln %0, Arg/Gln %12.7 oranında bulunmuştur. Bu gendeki polimorfizmin endometrium kanseri artmış riskiyle ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (22).

Romanowicz-Makowska ve ark. XRCC1 (Arg399Gln) polimorfizminin Gln/Gln genotipi ve endometrial kanser arasında ilişki olduğunu bulmuşlardır (239).

İdiopatik POF (Prematür Over Yetmezliği) ile XPD ve XRCC1 polimorfizmlerinin ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada POF ve kontrol grubunda XPD (Lys751Gln), XRCC1 (Arg194Trp) ve XRCC1 (Arg399Gln) polimorfizmlerinin sıklığı analiz edilmiştir. Çalışmada araştırılan polimorfizmlerin genotip dağılımları ve allel frekansları açısından POF ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (240).

5.2. APE1 (Asp148Glu)

Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında APE1 genotip dağılımı açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p:0,8870$, $\chi^2:0.02$). APE1, C (Asp) ve A (Glu) taşıma açısından da hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p:0.8293$ $\chi^2:0.05$).

Türk toplumunda endometriozisle APE1 (Asp148Glu) polimorfizminin araştırıldığı bir çalışmada hasta ($n=52$) ve kontrol ($n=101$) grupları arasında APE1 (Asp148Glu) genotip ve allel frekansları açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Endometriozis derecesiyle de ilişkisi saptanmamıştır (23).

Pre-eklampside APE1 kodon 148 için homozigot varyant genotip (Glu/Glu), kontrol grubunda (%19.6) hasta grubuna (%9.9) göre daha fazlaydı fakat bu fark istatistiksel olarak anlam taşımamakta ($p=0.08$) ve APE1 kodon 148 için PE riskiyle ilişkili olmadığını göstermektedir. Asp/Asp, Asp/Glu genotipleri ve Glu allel frekansları arasında da fark bulunmamıştır (21).

Endometrium Ca ile kontrol grubu arasında, APE Glu+ genotipi hastalarda (%61.5) kontrollere (%44.9) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ve Glu+ genotip taşıyıcılarında endometrial kanser riski 1.9 kat artmıştır ($p=0.009$) (χ^2 , 6.92; OR, 1.96; %95CI, 1.18–3.24). Asp/Glu genotipi hasta grupta kontrollere göre yüksek bulunmuştur (%52.8'e %34.8) ve bu taşıyıcıların endometrial kanser riski 2 kat artmıştır ($p=0.004$) (22).

Pieretti ve ark. APE 148Glu polimorfizmindeki somatik mutasyonların şunu düşündürdüğünü bulmuşlardır: BER yolunun inaktivasyonu, en azından vakaların bir kısmında endometrial kanser gelişiminde önemlidir (241).

APE1 148Glu polimorfizminin değişik etnik gruplarda sıklıkla akciğer, kolorektal, mesane ve meme kanseri ile ilişkisi araştırılmıştır. Gu ve arkadaşlarının Ape148Glu polimorfizmiyle çeşitli kanser hastalıklarının ilişkisini araştırdıkları bir meta-analiz çalışmasında, Glu allelinin grlme sıklığı Avrupa ırkında %43.7, Asya ırkında da %41.4 olarak gösterilmiştir (235).

Ji ve arkadaşlarının APE1 Asp148Glu polimorfizmi ile akciğer kanserinin ilişkisini inceledikleri çalışmada, APE1 Asp148Glu polimorfizminin Asyalı ve beyaz ırkta görülen akciğer kanseriyle önemli bir ilişkisinin bulunmadığı fakat Glu allelinin sigara içen bireylerde akciğer kanserini oluşturma riskini önemli oranda arttırdığı belirtilmiştir (242). Yapılan pek çok çalışma, akciğer kanseri ve APE1 Asp148Glu polimorfizminin ilişkili olduğunu ve Glu allelinin akciğer kanserine yakalanma riskini arttırdığını göstermiştir (243, 244, 245, 246).

5.3. XPD (Lys751Gln)

XPD gen mutasyonu sonuçlarına baktığımızda, çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda XPD (Lys751Gln) genotip dağılımı açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p:0.8606, x^2:0.03$). XPD, T (Lys) ve G (Gln) taşıma açısından da hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p: 0.8485, x^2:0.04$).

Endometriozis'te XPD (Lys751Gln) genotip dağılımı ve allel frekansları, hasta ve kontrol grupları arasında fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Endometriozis derecesiyle de ilişki saptanmamıştır (23).

XPD (Lys751Gln) polimorfizmi ile pre-eklamps riski araştırılmış, genotip ve allel sıklığı açısından hasta ($n=101$) ve kontrol ($n=107$) grupları arasında ilişki bulunmamıştır. Kontrol grubunda TT %40.2, TG %48.6, GG %11.2 oranında, pre-eklamps grubunda ise TT %36.6, TG %46.6 ve GG %16.8 oranında bulunmuştur (21).

Endometrium kanser hastaları ile kontrol grupları arasında XPD Gln+ genotipi hastalarda (%80) kontrol grubuna göre (%61.4) artmıştır ($P, 0.001; x^2, 11.02; OR, 2.64; \%95CI, 1.47-4.73$) ve Lys+ genotipi kontrol grubunda (%86.1) hasta grubundan (%66.3) daha fazladır ($P, 0.000; x^2, 14.342; OR, 0.319; \%95 CI, 0.174-0.585$). XPD Gln/Gln genotipi hastalarda anlamlı olarak yüksek ve Lys/Lys

genotipi kontrol grubunda anlamlı olarak yüksektir. Sonuç olarak Gln/Gln genotipi 3 kat artmış endometrium kanser riskiyle ilişkili bulunmuştur (22).

Weiss ve meslektaşları, Western Washington State’te yapılan vaka-kontrol çalışmasında ERCC1, ERCC2 (XPD), ERCC4 (XPF), ve ERCC5 (XPG) ile endometrium kanseri arasında bir ilişki olmadığını göstermişlerdir (233,234).

Yapılan bir çalışmada, XPD (Lys751Gln) polimorfizmi için Gln/Gln+Lys/Gln genotipi sıklığı POF grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmada 751Gln allelinin POF’a karşı koruyucu bir rolü olduğu saptanmıştır (240).

Endometrium kanseri ile XRCC1, APE1 ve XPD gen polimorfizmleri arasında yapılan bir çalışmada bu genlerdeki polimorfizmle endometrium kanseri arasında artmış risk bulunmuştur. Başka bir çalışmada, Nükleotid Eksizyon Tamir genleri ve endometrium kanseri insidansı araştırılmış ve XPD gen polimorfizmi ile endometrium kanseri arasında bir ilişki bulunmamıştır. Çelişkili olmalarına rağmen alınan sonuçlara göre, çalışmalarda kullanılan örnek sayıları ve seçilen örneklerdeki popülasyon farklılıkları da göz önüne alındığında, söz konusu genlerin endometrium kanseri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, endometrium kanser riskinin artmış olduğu PKOS’da da bu genlerle beklenen ilişki gözlenmemiştir. Bunun sebebi olarak seçilen örneklem gruplarının sayıları ve örnek popülasyonundaki farklılıklar dikkati çekmektedir.

Çalışmamızda ovulatuvar ve anovulatuvar PKOS’lular ayrı ayrı değerlendirilmemiştir. Karşılanmamış östrojenin hakim olduğu oligo-amenoreik PKOS’lularda benzer bir çalışmanın planlanması ile daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi beklenebilir. Ayrıca DNA onarım gen polimorfizmlerinin PKOS hasta grubunda oksidatif stres belirteçleri ile birlikte çalışılmasının sonuçların yorumlanmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

1. XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve XPD (ERCC2)-Lys751Gln polimorfizm bölgelerinin genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından PKOS ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.
2. XRCC1 Arg399Gln, APE1 Asp148Glu ve XPD (ERCC2)-Lys751Gln polimorfizmlerinin PKOS ile ilişkili olmadığı tespit edildi.
3. Çalışmamız pubmed veri tabanına polikistik over sendromu, XPD, XRCC1, APE1 anahtar kelimeleri ile girildiğinde bu gen polimorfizmleri ile polikistik over sendromu arasındaki ilişkiyi inceleyen literatürdeki ilk çalışmadır. Bu alanda hasta sayısı yüksek olan çalışmalara ihtiyaç vardır.
4. Genetik polimorfizm allel sıklığının ve maruz kalınan kanserojen maddelerin toplumdan topluma değişiklik göstermesi nedeniyle farklı etnik gruplarda benzer çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Speroff L. Anovulation and Polycystic ovary. Speroff L Fritz M.A. (editors). Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 6th ed. Philadelphia Pa, Lippincott Williams & Wilkins, 2005:465-491.
2. Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürgan T, Önderoğlu L, Yaralı H, Yüce K (editörler). Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, 2008: 1577-1588.
3. Çiçek N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2004 baskı. Güneş Tıp Kitabevi. Bölüm 101. S:1138-1152
4. Zhu BT and Conney AH (1998). Functional role of estrogen metabolism in target cells: review and perspectives. Carcinogenesis 19: 1-27.
5. Wang MY and Liehr JG (1995). Induction by estrogens of lipid peroxidation and lipid peroxide-derived malonaldehyde- DNA adducts in male Syrian hamsters: role of lipid peroxidation in estrogen-induced kidney carcinogenesis. Carcinogenesis 16: 1941-1945.
6. Cavalieri E, Frenkel K, Liehr JG, Rogan E, et al. (2000). Estrogens as endogenous genotoxic agents - DNA adducts and mutations. J. Natl. Cancer Inst. Monogr. 27: 75-93.
7. Marnett LJ (2000). Oxyradicals and DNA damage. Carcinogenesis 21: 361-370.
8. Wood RD, Mitchell M, Sgouros J and Lindahl T (2001). Human DNA repair genes. Science 291: 1284-1289.
9. Krokan HE, Nilsen H, Skorpen F, Otterlei M, et al. (2000). Base excision repair of DNA in mammalian cells. FEBS Lett. 476: 73-77
10. Hazra TK, Das A, Das S, Choudhury S, et al. (2007). Oxidative DNA damage repair in mammalian cells: a new perspective. DNA Repair 6: 470-480.
11. Wang Y, Spitz MR, Zhu Y, Dong Q, Shete S, Wu X. From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphisms with mutagen sensitivity, DNA Repair (Amst). 2003 Aug 12;2 (8):901-8.

12. Ramana CV, Boldogh I, Izumi T and Mitra S (1998). Activation of apurinic/aprimidinic endonuclease in human cells by reactive oxygen species and its correlation with their adaptive response to genotoxicity of free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95: 5061-5066.
13. Hu JJ, Smith TR, Miller MS, Mohrenweiser HW, Golden A, Case LD. Aminoacid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis*. 2001; 22 (6):917-922.
14. Li C, Hu Z, Lu J, Liu Z, Wang LE, El-Naggar AK ve ark. Genetic Polymorphisms in DNA Base-excision Repair Genes ADPRT, XRCC1, and APE1 and the Risk of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *American Cancer Society* 2007; 110 (4):867-875
15. Friedberg EC, Walker GC and Siede W (1995). DNA Repair and Mutagenesis. Vol. 17. ASM Press, Washington.
16. Costa RM, Chigancas V, Galhardo RS, Carvalho H, et al. (2003). The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. *Biochimie* 85: 1083-1099.
17. Hanawalt PC, Ford JM and Lloyd DR (2003). Functional characterization of global genomic DNA repair and its implications for cancer. *Mutat. Res.* 544: 107-114.
18. Da-Tian Bau^{1,4,#}, Yao-Yuan Hsieh^{2,#}, Lei Wan^{1,4}, Rou-Fen Wang¹, Chiu-Chu Liao¹, Cheng-Chun Lee¹, Cheng-Chieh Lin³, Chang-Hai Tsai¹, and Fuu-Jen Tsai^{1,4} Polymorphism of XRCC1 Codon Arg 399 Gln Is Associated with Higher Susceptibility to Endometriosis *Chinese Journal of Physiology* 50 (6): 326-329, 2007
19. Yang Yang • Xian Dun Zhai • Lin Bo Gao • Shi Liu Li • Zheng Wang • Guo Di Chen Genetic polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 and risk of uterine leiomyoma *Mol Cell Biochem* (2010) 338:143–147.
20. Yong-Tark Jeon^{1,2}, Jae Weon Kim^{1,2,3,4}, Noh-Hyun Park^{1,2}, Yong-Sang Song^{1,2}, Soon-Beom Kang^{1,2} and Hyo-Pyo Lee^{1, 2} DNA repair gene XRCC1 Arg399Gln polymorphism is associated with increased risk of uterine leiomyoma *Human Reproduction* Vol.20, No.6 pp. 1586–1589, 2005.

21. Pervin Vural, Sevgin Değirmencioğlu, Semra Doğru Abbasoğlu, Neslihan Y. Saral, Cemil Akgül, Müjdat Uysal. Genetic polymorphisms in DNA repair gene APE1, XRCC1 and XPD and the risk of pre-eclampsia European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 146 (2009) 160–164
22. Cincin ZB, Iyibozkurt AC, Kuran SB, Çakmakoğlu B . DNA repair gene variants in endometrial carcinoma. Med Oncol. 2012 Dec;29 (4):2949-54. doi: 10.1007/s12032-012-0162-7. Epub 2012 Jan 22.
23. Attar R, Cacina C, Sozen S, Attar E, Agachan B. DNA repair genes in endometriosis. Genet Mol Res. 2010;9 (2):629–36.
24. Pabuşcu R. *Polikistik Ovaryan Sendrom*. 1.Baskı, Atlas kitapçılık: Barışcan Ofset, 2001.
25. Speroff L, Glass RH, Kase NG; Clinical Gyneacologic Endocrinology and Infertility. Williams &Wilkins, Baltimore. First Edition, 1973; 256-257
26. Imani B, Eijkemans MJC, Velde ER, et ali. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oliaoamenorrheic infertility. Clin Endocrinol Metab 1998; 83: 2361-2365.
27. McArthur JW, Ingersoll Fm, Worcester J. The urinary excretion of interstitial-cell and follicle-stimulating hormone activity by women with diseases of the reproductive system J Clin Endocrinol Metab 1958;18 (11):1202-15.
28. Yen SS. The polycystic ovary syndrome. Clin Endocrinol (Oxf) 1980; 12:177-207.
29. Taylor Ann E. Polycystic Ovary Syndrome Endocrinol Metab Clin North Am 1998; 27: 877-903
30. Barnes R, Rosenfield R L. The Polycystic Ovary Syndrome: Pathogenesis and Treatment. Ann intern Med 1989; 110: 386-399.
31. Adams J, Polson DW, Franks S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. Br Med J (Clin Res Ed). 1986 Aug 9;293 (6543):355-9.

32. Doğan S. Polikistik Over Sendromlu İnfertil Olgularda IVF/ICSI Uygulamalarında GnRH agonist ve GnRH Antagonist Protokollerinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2011: 5
33. Speroff L, Fritz M. A. Anovulasyon ve polikistik over (çeviri: Üstün M.). Erk 7. Baskı, Güneş Tıp Kitapevi. 2007;465-498
34. Taylor AE. Polycystic Ovary Syndrome. Endocrinol Metab Clin North Am 1990; 27: 877-902.
35. Dunaif A, Givens Jr, Haseltine FP, Marriam GR. Polycystic Ovary Syndrome. Curr Endocrinol Metab. Boston, Blackwell, 1992.
36. 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
37. Franks S. Morphology of the polycystic ovary syndrome. In Dunaif A, Given JR, Haseltine FP, Polycystic ovary syndrome. Boston Blackwell 1992; 19-28.
38. Orsini LF, Venturolli S, Lorusso R, et al. Ultrasonic findings in polycystic ovarian disease. Fertil Steril 1985; 43: 320-26.
39. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. Fertil Steril. 2009;91 (2):456-88. Epub 2008 Oct 23.
40. Azziz R: Controversy in clinical endocrinology: diagnosis of polycystic ovarian syndrome: the Rotterdam criteria are premature, J Clin Endocrinol Metab 2006, 91: 781-785
41. Franks S: Controversy in clinical endocrinology: diagnosis of polycystic ovarian syndrome: in defense of the Rotterdam criteria, J Clin Endocrinol Metab 2006, 91: 786-789
42. Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG, et al. A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. J Clin Endocrinol Metab. 1999 Nov;84 (11):4006-11.

43. Michelmore KF, Balen AH, Dunger DB, Vessey MP. Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999 Dec;51 (6):779-86.
44. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod*. 2010 Feb;25 (2):544-51.
45. Azziz R. The Polycystic ovary syndrome: current concepts on pathogenesis and clinical care: Springer Verlag; 2007.
46. Franks S. Polycystic ovary syndrome. A changing perspective. *Clinical Endocrinology*. 1989; 31:87-120.
47. Çiçek N. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Günes Kitabevi. Ankara, 2006.
48. Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1976; 57:1320-1329.
49. 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 USA* 1995; 92:12280-12284.
50. Gomel V. Polikistik Over Sendromu (çeviri: Demirtaş E, Yarı H). Attar E, Ata B (Editörler). Gomel'in Jinekolojisi Nobel Tıp kitab evleri 2007.s.293-304
51. Ibanez , L, Potau, N, Carrascosa , A. Insulin rezistance , premature adrenarche , and a risk of the PCOS. *FEM* 1998, 9: 72-77
52. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. *Fertil Steril* 2002;77:1095-1105
53. Kusari J, Takata Y, Hatada E, Freidenberg G, Kolterman O, Olefsky JM. Insulin resistance and diabetes due to different mutations in the tyrosine kinase domain of both insulin receptor gene alleles. *J Biol Chem* 1991; 15; 266: 5260-5267
54. Salehi M, Bravo-Vera R, Sheikh A, Gouller A, Poretsky L. Pathogenesis of polycystic ovary syndrome: What is the role of obesity? *Metabolism* 2004;53:358-76.

55. Zhang LH, Rodriguez H, Ohno S, Miller WL. Serine phosphorylation of human P450c17 increases 17-20 lyase activity: implications for adrenarche and the polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:619-23.
56. Tsilchorozidou T, Overton C, Conway S.G. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2004;60:1-28.
57. Lobo AR, Carmina E. The importance of diagnosing the polycystic ovary syndrome. *Ann Intern Med* 2000;132:989-93.
58. Geisshovel F. A comment on the European Society of Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine consensus of the polycystic ovarian syndrome. *Reprod Biomed Online* 2003;7:602-5
59. Acien P, Queredo F, Matallin P, Villarroja E, López-Fernández JA, Acien M et al. Insulin, androgens and obesity in women without polycystic ovary syndrome: a heterogeneous group of disorders. *Fertil Steril* 1999;72:32-40.
60. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18:774-800
61. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 50:113-6.
62. Yildiz BO, Gedik O. Assessment of glucose intolerance and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2004; 8:649-56
63. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. İnsülin, oral ve diğer antidiyabetik ilaçlar ve glukagon. 9. Baskı. Cilt 2. Feryal Matbaacılık Ankara 2000; 1252-72.
64. Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Zborowski JV, Remsberg KE, Kuller LH. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20 (11): 2414-21.
65. Corbould A, Kim YB, Youngren JF, Pender C, Kahn BB, Lee A, Dunaif A. Insulin resistance in the skeletal muscle of women with PCOS involves intrinsic and acquired defects in insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288 (5): 1047-54.

66. Li M, Youngren JF, Dunaif A, Goldfine ID, Maddux BA, Zhang BB, Evans JL. Decreased insulin receptor (IR) autophosphorylation in fibroblasts from patients with PCOS: effects of serine kinase inhibitors and IR activators. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (9): 4088-93.
67. Bollag GE, Roth RA, Beaudoin J, et al. Protein kinase C directly phosphorylates the insulin receptor in vitro and reduces its protein-tyrosin kinase activity. *Proc Nad Acad Sci USA* 83:5822-5824, 1986.
68. Karasik A, Rothenberg P, Yamada K, et al. Increased protein kinase C activity is linked to reduced insulin receptor autophosphorylation in liver of starved rats. *J Biol Chem* 265:10226-10231, 1990.
69. Chin JE, Roth RA. Activation of protein kinase C α inhibits insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate-1. *Mol Endocrinol* 8:51-58, 1994.
70. Dunaif A. Insulin action in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1999; 28: 341-359.
71. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Reamer P, Gunn RD, Allan G. Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in PCOS. *N Engl J Med* 1999; 340: 1314-1320.
72. Dunaif A, Finegood DT. B-cell dysfunction independent of obesity and glucose intolerance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 942
73. Yılmaz M, İsaoglu Ü, Kadanali S. Polikistik Over Sendromuna Güncel Yaklaşım. *Haseki Tıp Bülteni.* 2009
74. Nestler HE, Powers LP, Matt DW, et al. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 83
75. San Roman GA, Magoffin DA. Insulin-like growth factor binding proteins in ovarian follicles from women with polycystic ovarian disease: cellular source and levels in follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1010
76. Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1158-65.

77. Nahum R, Thong KJ, Hillier SG. Metabolic regulation of androgen production by human thecal cells in vitro. *Hum Reprod* 1995; 10:75-81.
78. Moran C, Knochenhauer E, Boots LR, Azziz R. Adrenal androgen excess in hyperandrogenism: relation to age and body mass. *Fertil Steril* 1999; 71:671-4.
79. Yildiz BO, Woods KS, Stanczyk F, Bartolucci A, Azziz R. Stability of adrenocortical steroidogenesis over time in healthy women and women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5558-62.
80. Pişkinpaşa S, Yıldız B. Polikistik Over Sendromu. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2005; 36:168-174
81. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106 (2): 171-6.
82. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2745-9
83. Speroff L, Fritz M. A. Anovulation and polycystic ovary syndrome. Speroff L, Glass RH, Kase NG (Eds). *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 6th ed, Williams & Wilkins, Baltimore; 1999:487-522, 1013-132
84. Futterweit W. Polycystic ovary syndrome: clinical perspectives and management. *Obstet Gynecol Surv* 1999; 18:403-13.
85. Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update* 2001; 7:3-7.
86. Escobar-Morreale HF, Luque-Ramirez M, San Millan JL. The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome, *Endocr Rev* 2005, 26:251-282
87. Bennett ST, Todd JA, Waterworth DM, et al. 1997. Association of the insuline gene VNTR with polycystic ovary syndrome. *Lancet* 349: 1771-1772
88. Urbanek M, Legro RS, Driscoll DA, Azziz R, Ehrmann DA, Norman RJ, Strauss JF, 3rd, Spielman RS, Dunaif A: Thirty-seven candidate genes for polycystic ovary syndrome: strongest evidence for linkage is with follistatin, *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999, 96:8573-8578
89. Carmina E: Genetic and environmental aspect of polycystic ovary syndrome, *J Endocrinol Invest* 2003, 26:1151-1159

90. Jones MR, Wilson SG, Mullin BH, Mead R, Dudbridge F, Watts GF, Stuckey BG: Polymorphism in postinsulin receptor signaling pathway is not associated with polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril* 2008, 90:2298-2303
91. Jones MR, Wilson SG, Mullin BH, Mead R, Watts GF, Stuckey BG: Polymorphism of the follistatin gene in polycystic ovary syndrome, *Mol Hum Reprod* 2007, 13:237-241
92. Sproul K, Jones MR, Mathur R, Azziz R, Goodarzi MO: Association study of four key folliculogenesis genes in polycystic ovary syndrome, *BJOG* 2010, 117:756-760
93. Yildiz BO, Yarali H, Oguz H, Bayraktar M. Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2031-6
94. Mason H.D, Willis D.S, Beard R. Estradiol production by granulosa cells of normal and polycystic ovaries. Relation ship to menstrual cycle history and concentrations of gonadotropins and sex steroids in follicular fluid. *J. Clin Endocrinol and Metabol.* 1994; 79:1355-1360
95. Goldzieher JW, Green JA. The polycystic ovary L Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab* 1961; 22: 325-38.
96. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, et al. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140: 815-30.
97. Hull MGR. Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and Demographic studies. *Gynecol endocrinol* 1987;1:235
98. Anttila L, Karjala K, Penttinen RA, Ruutianen K, Ekblad U. Polycystic ovaries in women with gestational diabetes. *Obstet Gynecol* 1998; 92:13-16
99. Bjorntorp P. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand Suppl* 1988; 723:121-34
100. Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S, et al. Insulin and androgen relationships with abdominal body fat distribution in women with and without hyperandrogenism. *Horm Res* 1993; 39: 179-87
101. Rager KM, Omar HA. Androgen excess disorders in women: the severe insulin-resistant hyperandrogenic syndrome, HAIR-AN. *Scientific World Journal* 2006; 6: 116-21.

102. Polson DW, Adams J, Wadsworth J, et al. Polycystic ovaries- a common finding in normal women. *Lancet* 1988; 1: 870-2
103. Robinson S, Rodin DA, Deacon A, et al. Which hormone tests for the diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome? . *Br J Obstet Gynecol* 1992; 99:232-238
104. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989; 38:1165-74
105. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2694-8.
106. Farquhar C, Johnson N Understanding polycystic ovary syndrome www.bpac.org.nz keyword:pcos.
107. Çiçek N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Güneş Tıp Kitabevi, 2. Baskı, 2004: 1140-1141.
108. Chang uyarlanan *J Obstet Gynecol Am* 2004. Chang RJ. A practical approach to the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:713–717.
109. Legro RS, Kunselman 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; 84:165-9.
110. Dunaif A. Hyperandrogenic anovulation (PCO): a unique disorder insülin action associated with an increased risk of non-insülin-dependent diabetes melitus. *Am J Med* 1995; 98: 33.
111. Talbott E ,Guzick D, Clerici A, et al. Coronary heart disease risk factors in women with Polycystic Ovary Syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15: 821-826
112. Dahlgren E, Janson PO, Johansson S, Lapidus L, Oden A. Polycystic ovary syndrome and risk for myocardial infarction. Evaluated from a risk factor model based on a prospective population study of women. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1992; 71: 599-604

113. Tsilehorozidou T, Overton C, Conway GS. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004; 60: 1-17
114. Apridonidze T, Essah PA, Iuorno MJ, et al. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1929-35.
115. Wild R. Polycystic ovary syndrome: A risk for coronary artery disease. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 35-43
116. Curry TE, Dean DD, Sanders SL. The role of ovarian proteases and their inhibitors in ovulation. *Steroids* 1989; 54 (5):501-21.
117. Cibula D, Cifkova R, Fanta M, et al. 2000. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus, arterial hypertension and coronary artery disease in perimenopausal women with a history of the polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 15: 785-789
118. Hardiman P, Pillay OC, Atiomo W. Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma. *Lancet* 2003; 361: 1810-2 ve temel kitap sayfa 1584.
119. Cheung A. P. 2001. Ultrasound and menstrual history in predicting endometrial hyperplasia in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 98: 325-331
120. RamzyI and Nisker JA (1979) Histologic study of ovaries of young women with endometrial carcinoma. *Am J Clin Pathol* 71,253–256.
121. Gallup DG, Stock RJ. Adenocarcinoma of the endometrium in women 40 years of age or younger. *Obstet Gynecol.* 1984 Sep;64 (3):417-20.
122. Elwood, J. M., Cole, P. , Rothman, K.J. et al. (1977) Epidemiology of endometrial cancer. *J. Natl cancer Inst.* , 59, 1055-1060.
123. MacMahon, B. (1974) Risk factors for endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.*, 2, 122-129.
124. Jackson, R.L. and Dockerty, M.B. (1957) The Stein-Leventhal syndrome: analysis of 43 cases with special reference to association with endometrial carcinoma. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 73, 161-173.
125. Coulam C.B., Annegers J.F., and Kranz J.S., (1983) Chronic anovulation syndrome and associated neoplasia. *Obstet. Gynecol.* 61, 403-407.
126. Gibson M. (1995) Reproductive health and polycystic ovary syndrome. *Am. J. Med.* 98, 67s-75s

127. Meirow D. and Schenker JG. (1996) The link between female infertility and cancer: epidemiology and possible aetiologies. *Hum. Reprod. Update*, 2, 63-75
128. Ferriman D, Purdie AW. The inheritance of polycystic ovarian disease and a possible relationship to premature balding. *Clin Endocrinol* 1979;129: 291-300.
129. Balen A. Polycystic ovary syndrome and cancer. *Human Reproduction Update*, Vol.7, No.6 pp. 522-525, 2001.
130. Schildkraut, J.M., Schwingl, P.J., Bastos, E. et al., (1996) Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome. *Obstet. Gynecol.*, 88, 554-559.
131. Gammon MD Polycystic ovaries and the risk of breast cancer *Am J Epidemiol.* 1991;134:818
132. Yildiz BO. Recent advances in the treatment of polycystic ovary syndrome. *Expert Opin Investig Drugs* 2004; 13:1295-305.
133. Richards RN, Uy M, Meharg G. Temporary hair removal in patients with hirsutism: a clinical study. *Cutis* 1990; 45: 199.
134. Wortsman J. Khan MS. Rosner W. Supression of testosterone-estradiol binding globulin by medroxyprogesterone acetate in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1986; 67: 705.
135. Belisle S. Love EJ. Clinical efficacy and safety of cyproterone acetate for severe hirsutizm: results in a multicentered Canadian study. *Fertil Steril* 1986; 46: 1015.
136. Wallace C, Lalor EA, Chik CL. Hepatotoxicity complicating flutamide treatment of hirsutism. *Ann Intern Med* 1993; 119: 1150.
137. Young RL, Goldzieher JW, Elkind-Hirsch K. The endocrine effects of spironolactone used as an antiandrogen. *Fertil Steril* 1987; 48: 223.
138. Lobo RA, Shoupe D, Serafini P, et all. The effects of two doses of spironolactone on serum androgens and anagen hair in hirsute women. *Fertil Steril* 1985; 43: 200.
139. Yarali H, Zeyneloğlu HB. Gonadotrophin treatment in patients with polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2004; 8:528-37.
140. Gomel V, Yarali H. Surgical treatment of polycystic ovary syndrome associated with infertility. *Reprod Biomed Online* 2004; 9: 35-42

141. Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Seppala M, et al. Diet-induced changes in sex hormone binding globulin and free testosterone in women with normal or polycystic ovaries; correlation with serum insulin and insulin-like growth factor-1. *Clin Endocrinol* 1989; 31: 757.
142. Pasquali R, Casimirri F, Venturoli 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
143. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Tomlinson L, Norman RJ. Dietary composition in restoring reproductive and metabolic physiology in overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:812-9.
144. Diabetes Prevention Program Research Council. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New England J Med* 2002; 346: 393).
145. Huber-Bucholz M-M, Carey DGP, Norman RJ. Restoration of reproductive potential by lifestyle modification in obese polycystic ovary syndrome: role of insulin sensitivity and luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1470.
146. 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
147. Kurdoglu Z, Ozkol H, Tuluce Y, Koyuncu I. Oxidative status and its relation with insulin resistance in young nonobese women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2012 Mar; 35 (3): 317-21.
148. Human Reproduction Update, Vol.14, No.4 pp. 345–357, 2008 Advance Access publication June 4, 2008 Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility.
149. Dincer Y, Akcay T, Erdem T, Ilker Saygili E, Gundogdu S. DNA damage, DNA susceptibility to oxidation and glutathione level in women with polycystic ovary syndrome. *Scand J Clin Lab Invest* 2005;65:721-728.

150. Zhang D, Luo WY, Liao H, Wang CF, Sun Y. The effects of oxidative stress to PCOS. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2008 May; 39 (3): 421-3.
151. Atlan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi* 2006; 31 (2):51-56.
152. Serafini M, Del Rio D (2004) Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox Report* 9 (3), 145- 152.
153. Mohrenweiser HW, Jones IM. Variation in DNA repair is a factor in cancer susceptibility: A paradigm for the promises and perils of individual and population risk estimation. *Mutat Res* 1998; 400:15-24
154. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 1993; 362:709-15.
155. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1996; 273:59-63.
156. Slupphaug G, Kavly B, Krokan HE. The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage. *Mutat Res* 2003; 531:231-251.
157. de Boer J, Hoeijmakers J. (2000) Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis* 21, 453-460.
158. Bohr VA. DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. *Carcinogenesis* 1995;16:2885-2892.
159. Ferri KF, Kroemer G. Mitochondria-the suicide organelles. *BioEssays* 2001;23:111-115.
160. Griffiths A, Wessler S, Lewontin R, Gelbart W, Suzuki D, Miller J. Introduction to Genetic Analysis. 8th Edition, Chapter 14: Mutation 2005, W.H. Freeman & Company
161. Tu Y, Tor naletti S, Pfeifer GP. DNA repair domains within a human gene: Selective repair of sequences near the transcription initiation site. *EMBO J* 1996; 15: 675-83. [PubMed: 8599951].
162. William S. Klug, Micheal R. Cummings. Genetik Kavramlar. Altıncı Baskıdan Tıkrak ,eviri. Palme Yayınları. Ankara, 2002, 477-481.
163. Ece Onur. Berrin Tuğrul. Ferda Bozyiğit. DNA Damage and Repair Mechanisms. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2009; 7 (2): 61-70)

164. Weinsteck R, Leong GB, Silva JA. Competence to terminate life sustaining care ethical and legal consideration. *Am J Geriatric Psychiatry* 1994; 2:169-176.
165. Work PA, Gibson PG, Fakes K. Induced sputum eosinophils in the assesment of asthma chronic cough. *Respiratory* 2000; 5:51-57.
166. Yıldız F, Basyigit __, Boyacı H. Frecuency of acute exacerbations in closely followup asthmatic patients. *Solunum Hastalıkları* 2003; 14-1:1-4.
167. Bork PK, Hofmann P, Bucher AF. A Superfamily of Conserved Domains in DNA Damage Responsive Cell Cycle Checkpoints Proteins. *FASEBJ* 1997; 11:68-76.
168. Marsin S, Vidal AE, Sossou M. Role of XRCC1 in the coordination and stimulation of oxidative DNA damage repair initiated by the DNA glycosylase hOGG1. *J Biol Chem* 2003; 278:44068-44074.
169. Doetsch PW, Cunningham RP. The enzymology of apurinic/apyrimidinic endonucleases. *Mutant Res* 1990; 236:173-201.
170. Türktas H. Türktas __. Astım. Ankara, Bozkır Matbaacılık; 1998
171. Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA Repair Genes. *Mutant Res* 2005; 577:275-283.
172. Srivasta DK, Vande BBJ, Prasad R. Mammalian abasic site base excision repair. Identification of the reaction sequence and rate-determining steps. *J Biol Chem* 1998; 273:21203-21209.
173. Mourgues S, Lomax ME, Neill P. Base excision repair processing of abasic site/single-strand break lesions within clustered damage sites associated with XRCC1 deficiency. *Nucleic Acids Research* 2007; 35 (22):7676-7687.
174. Sossou M, Flohr-Beckhaus C, Schulz I. Daboussi F, Epe B, Radicella JP. APE1 overexpression in XRCC1 deficient cellscomplements the defective repair oxidative single strand breaks but increases genomic instability. *Nucleic Acids Res* 2005; 33:298-306.
175. Leppard JB, Dong Z, Mackey ZB. Tomkinson AE. Physical and functionalinteraction between DNA ligase III alpha and poly (ADP-ribose)polymerase I inDNA single strand break repair. *Mol Cell Biol* 2003; 23 (16):5919-5927.

176. Schreiber V, Ame JC, Dolle P, Schultz I, Rinaldi B, Fraulob V, ve ark. Poly (ADPribose) polymerase-2 (PARP-2) is required for efficient base excision DNA repair in association with PARP-1 and XRCC1. *J Biol Chem* 2002; 277 (25):23028-23036.
177. Tudek B, Swoboda M, Kowalczyk P, Olinski R. Modulation of oxidative DNA damage repair by the diet, inflammation and neoplastic transformation. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2006; 57 (7):33-39.
178. Griffiths AJF, Gelbart WM, Miller JH, Lewontin RC. *Modern Genetic Analysis. New York, W.H. Freeman & Co.; 1999*
179. Horton JK, Watson M, Stefanick DF, Shaughnessy DT, Taylor JA, Wilson SH. XRCC1 and DNA polymerase in cellular protection against cytotoxic DNA singlestrand breaks. *Cell Research* 2008; 18:48-63.
180. Kamiya H, Kasai H. 2-Hydroxy-dATP is incorporated opposite G by Escherichiacoli DNA polymerase III resulting in high mutagenicity. *Nucleic acids Res* 2000; 28:1640-1646.
181. Sancar A, Laura A, Boltz L, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu. Rev. Biochem.* 2004; 73:39-8
182. Hanawalt PC. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene* 2002; 21: 8949-56.
183. Kulaksız G, Sancar A. Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007; 32 (3); 104-11.
184. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2009; 7 (2): 61-70, *Ankara Ecz. Fak. Derg. J. Fac. Pharm, Ankara* 35 (2) 149 - 170, 2006.
185. Debeleş Bütüner B, Kantarcı G. Mutasyon, DNA Hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kanserle ilişkisi. *J Fac Pharm* 2006; 35 (2); 149-70).
186. Lindahl T, Wood RD. Quality control by DNA repair. *Science* 1999; 286 (5446): 1897-905.
187. Friedberg EC. Cockayne syndrome--a primary defect in DNA repair, transcription, both or neither? *Bioessays* 1996; 18 (9): 731-8.

188. Friedberg EC, McDaniel LD, Schultz RA. The role of endogenous and exogenous DNA damage and mutagenesis. *Curr Opin Genetics & Develop* 2004; 14: 5–10.
189. Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. Mechanisms of human DNA repair: an update. *Toxicology* 2003; 193:3-34
190. Nussbaum L, McInnes RR, Willard HF. Genetic variation in individuals and populations: mutation and polymorphism. In: Nussbaum L, McInnes RR, Willard HF, eds. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. 7 th edition. Philadelphia: Saunders; 2005: 175–205.
191. Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. Güneş Tıp Kitabevi 2005, ISBN: 975-277-031-2.
192. Barış S. XRCC1 ve XPD DNA Tamir Gen Polimorfizmleri İle Burkitt Lenfoma Arasındaki İlişki. Uzmanlık Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2008: 10
193. Wang DG, Fan J, Siao C, et al. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 1998; 280: 1077–82.
194. Chacko, P., Rajan, B., Joseph, T., Mathew. And Pillai, M. R., 2005, Polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and increased genetic susceptibility to breast cancer, *Breast Cancer Research and Treatment*, 89, 15-21..
195. Duell, E. J., Wiencke, J. K., Cheng, T-J., Varkonyi, A., Zuo, Z. F., Ashok, T. D. S., Mark, E. J., Wain, J. C., Christiani, D. C. And Kelsey, K., 2000, Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2 and biomarkers of DNA damage in human blood mononuclear cells, *Carcinogenesis*, vol. 21, no. 5, 965-971.
196. Lei, Y-C., Hwang, S-J., Chang, C-C., Kuo, H-W, Luo, J-C., Chang, M. J. W. and Cheng, T-J., 2002, Effect on sister chromatid Exchange frequency of polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 in smokers, *Mutation Research* 519, 93-101.

197. Duell, E. J., Millikan, R. C., Pittman, G. S., Winkel, S., Lunn, R. M., Tse, C-K. J., Aeton, A., Mohrenweiser, H. W., Newman, B. And Bell, D. A., 2001, Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and breast cancer, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 10, 217-122.
198. Moullan, N., Cox, D. G., Angele, S., Romestaing, P., Gerard, J-P. and Hall, J., 2003, Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1, breast cancer risk, and response to radiotherapy, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 12, 1168-1174.
199. Smith, T. R., Levine, E. A., Perrier, N. D., Miller, M. S., Freimanis, R. I., Lohman, K., Case, L. D., Xu, J., Mohrenweiser, H. W. And Hu, J. J., 2003, DNA-repair genetic polymorphisms and breast cancer risk, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 12, 1200-1204.
200. Duell, E. J., Holly, E. A., Bracci, P. M., Wiencke, J. K. and Kelsey, K. T., 2002, A population-based study of the Arg399Gln polymorphism in x-ray repair cross complementing group 1 (XRCC1) and risk of pancreatic adenocarcinoma, *Cancer Research*, 62, 4630-4636.
201. Stern, M. C., Umbach, D. M., van Gils, C. H., Lunn, R. M. And Taylor, J. A., 2001, DNA repair gene XRCC1 polymorphisms, smoking, and bladder cancer risk, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 10, 125-131.
202. Tae, K., Lee, H. S., Park, B. J., Park, C. W., Kim, K. R., Cho, H. Y., Kim, L. H., Park, B. L. and Shin, H. D., 2004, Association of DNA repair gene XRCC1 polymorphisms with head and neck cancer in Korean population, *Int. J. Cancer*, 111, 805-808.
203. David-Beabes, G. L. and London, S. J., 2001, Genetic polymorphism of XRCC1 and lung cancer risk among African-American and Caucasians, *Lung Cancer*, 34, 333-339.
204. Sreeja, L., Syamala, V. S., Syamala, V., Hariharan, S., Raveendran, P. B., Vijayalekshmi, R. V., Madhavan, J. and Ankathil, R., 2007, Prognostic importance of DNA repair gene polymorphisms of XRCC1 Arg399Gln and XPD Lys751Gln in lung cancer patients from India, *J Cancer Res Clin Oncol*, 135, 1432-1435.

205. Rybicki, B. A., Conti, D. V., Moreira, A., Cicek, M., Casey, G. And Witte, J. S., 2004, DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and risk of prostate cancer, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 13, 23-29.
206. Seedhouse, C., Faulkner, R., Ashraf, N., Das gupta, E. and Russell, N., 2004, Polymorphisms in genes involved in homologous recombination repair interact to increase the risk of developing acute myeloid leukemia, *Clinical Cancer Research*, vol.10, 2675-2680.
207. OMIM 107748 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=107748>
208. Chessels JM, Bailey C, Richards SM. Intensification of treatment and survival in children with lymphoblastic leukemia: results of UK Medical Research Council trial UKALL X. Medical Research Council Working Party on Childhood Leukemia. *Lancet* 1995; 345: 143-8.
209. Chou KM, Cheng YC. An exonucleolytic activity of human apurinic/apyrimidinic endonuclease on 30 mispaired DNA. *Nature* 2002; 415:655-659.
210. Kumar, R., Angelini, S. and Hemminki, K., 2003, Simultaneous detection of the exon 10 polymorphism and a novel intronic single base insertion polymorphism in the XPD gene using single strand conformation polymorphism, *Mutagenesis* vol.18 no.2 pp.207–209.
211. Taylor, E. M. and Lehmann, A. R., 1998, Conservation of eukaryotic DNA repair mechanisms, *Int. J. Radiat. Biol.*, vol.74, no. 3, 277- 286.
212. Yeh, C-C., Sung, F-C., Tang, R., Chang-Chieh, C. R. and Hsieh, LL., 2005, Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3, & XPD genes, and colorectal cancer risk: a case-control study in Taiwan, *BMCCancer*, 5,12.
213. Skjelbred, C. F., Sæbø, M., Wallin, H., Nexø, B. A., Hagen, P. C., Lothe, I. M. B., Aase, S., Johnson, E., Hansteen, I-L., Vogel, U. and Kure, E. H., 2006, Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3 and XPD genes and risk of colorectal adenoma and carcinoma, in Norwegian cohort: a case control study, *BMC Cancer*, 6, 67.

214. Metsola, K., Kataja, V., Sillanpää, P., Siiviola, P., Heikinheimo, L., Eskelinen, M., Kosma, V-M., Uusitupa, M. and Hirvonen, A., 2005, XRCC1 and XPD genetic polymorphisms, smoking and breast cancer risk in a Finnish case-control study, *Breast Cancer Research*, vol. 7, no, 6, 987-997.
215. Shi, Q., Wang, L-E., Bondy, M., Brewster, A., Singletary, S. E. And Wei, Q., 2004, Reduced DNA repair of benzo[a]pyrene diol-epoxide-induced adduct and common XPD polymorphisms in breast cancer patient, *Carcinogenesis*, vol.25, no.9 pp. 1695-1700.
216. Jiao, L., Hassan, M. M., Bondy, M. L., Abbruzzese, J. L., Evans, D. B. and Li, D., 2007, The XPD Asp312Asn and Lys751Gln polymorphisms, corresponding haplotype, and pancreatic cancer risk, *Cancer Lett*, 8, 245 (1-2), 61-68.
217. Shen, M., Hung, R. J., Brennan, P., Malaveille, C., Donato, F., Placidi, D., Carta, A., Hautefeuille, A., Boffetta, P. and Porru, S., 2003, Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1, XRCC3, XPD, interaction with environmental exposures, and bladder cancer risk in a case-control study in Northern Italy, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 12, 1234-1240.
218. Seker, H., Butkiewicz, D., Bowman, E.D., Rusin, M, Hedayati, M., Grossman, L. and Haris, C. C., 2001, Functional Significance of XPD Polymorphic Variants: Attenuated Apoptosis in Human Lymphoblastoid Cells with the XPD 312 Asp/Asp Genotype, *Cancer Research* 61, 7430–7434.
219. Pastorelli, R., Cerri, A., Mezzetti, M., Consonni, E. and Airolidi, L., 2002, Effect of DNA repair gene polymorphisms on BPDE-DNA adducts in human lymphocytes, *Int. J. Cancer*, 100, 9-13.
220. Nelson, H. H., Kelsey, K. L., Mott, L. A. and Karagas, M. R., 2002, The XRCC1 Arg399Gln polymorphism, sunburn, and non-melanoma skin cancer: evidence of gene-environment interaction, *Cancer Research*, 62, 152-155.
221. Allan, J. M., Smith, A. G., Wheatley, K., Hills, R. K., Travis, L. B., Hill, D. A., Swirsky, D. M., Morgan, G. J. and Wild, C. P., 2004, Genetic variation in XPD predicts treatment outcome and risk of acute myeloid leukemia following chemotherapy, *Blood*, 104, 3872-3877.

222. Mehta, P. A., Alonzo, T. A., Gerbing, R. B., Elliott, J. S., Wilke, T. A., Kennedy, R. J., Ross, J. A., Perentesis, J. P., Lange, B. J. and Davies, S. M., 2006, XPD Lys751Gln polymorphism in the etiology and outcome of childhood acute myeloid leukemia: a Children's Oncology Group report, *BLOOD*, vol,107, no, 1, (inPress).
223. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961; 21:1440-7.
224. Krupa R, Sobczuk A, Popławski T, Wozniak K, Blasiak J. DNA damage and repair in endometrial cancer in correlation with the HOGG1 and RAD51 genes polymorphism. *Mol Biol Rep*. 2011;38 (2):1163–70.
225. Ashton KA, Proietto A, Otton G, Symonds I, McEvoy M, Attia J, Gilbert M, Hamann U, Scott RJ. Estrogen receptor polymorphisms and the risk of endometrial cancer. *BJOG*. 2009;116 (8):1053–61.
226. Acharya JD, Ghaskadbi SS. Islets and their antioxidant defense. *Islets* 2010; 2 (4):225-35.
227. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011; 283 (2-3):65-87.
228. Noren Hooten N, Kompaniez K, Barnes J, Lohani A, Evans MK. Poly (ADPribose) Polymerase 1 (PARP-1) binds to 8-oxoguanine-DNA glycosylase (OGG1). *The Journal of Biological Chemistry* 2011, doi:10.1074/jbc.M111.255869.
229. Wang M, Qin C, Zhu J, Yuan L, Fu G, Zhang Z, Yin C. Genetic variants of XRCC1, APE1, and ADPRT genes and risk of bladder cancer. *DNA Cell Biol*. 2010;29 (6):303–11.
230. Robertson AB, Klungland A, Rognes T, Leiros I. DNA repair in mammalian cells:base excision repair: the long and short of it. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66 (6):981–93.
231. Li Z, Guan W, Li MX, Zhong ZY, Qian CY, Yang XQ, Liao L, Li ZP, Wang D. Genetic polymorphism of DNA base-excision repair genes (APE1, OGG1 and XRCC1) and their correlation with risk of lung cancer in a Chinese population. *Arch Med Res*. 2011;42 (3):226–34.

232. Canbay E, Cakmakoglu B, Zeybek U, Sozen S, Cacina C, Gulluoglu M, Balik E, Bulut T, Yamaner S, Bugra D. Association of APE1 and HOGG1 polymorphisms with colorectal cancer risk in a Turkish population. *Curr Med Res Opin.* 2011;27 (7):1295–302.
233. Weiss JM, Weiss NS, Ulrich CM, Doherty JA, Chen C. Nucleotide excision repair genotype and the incidence of endometrial cancer: effect of other risk factors on the association. *Gynecol Oncol.* 2006;103 (3):891–6.
234. Weiss JM, Weiss NS, Ulrich CM, Doherty JA, Voigt LF, Chen C. Interindividual variation in nucleotide excision repair genes and risk of endometrial cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14 (11 Pt 1):2524–30.
235. Gu D, Wang M, Wang M, Zhang Z, Chen J. The DNA repair gene APE1 T1349G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis of 27 case-control studies. *Mutagenesis* 2009; 24 (6): 507–512.
236. Pakakasama S, Sirirat T, Kanchanachumpol S, et al. Genetic polymorphisms and haplotypes of DNA repair genes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48: 16–20.
237. Ratnasinghe D, Yao SX, Tangrea JA, et al. Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev* 2001; 10: 119–23.
238. Kocabaş NA, Karahalil B. XRCC1 Arg399Gln genetic polymorphism in a Turkish population. *Int J Toxicol.* 2006 Sep-Oct;25 (5): 419-22.
239. Romanowicz-Makowska H, Smolarz B, Houli A, Szyłło K. Single nucleotide polymorphism in DNA base excision repair genes XRCC1 and HOGG1 and the risk of endometrial carcinoma in the Polish population. *Pol J Pathol.* 2011;62 (2):89–94.
240. Doğan Ç. Prematür Ovaryan Yetmezlikle XPD ve XRCC1 DNA Tamir Gen Polimorfizminin İlişkisi. Uzmanlık Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, 2011
241. Pieretti M, Khatrar NH, Smith SA. Common polymorphisms and somatic mutations in human base excision repair genes in ovarian and endometrial cancers. *Mutat Res.* 2001;432 (3–4):53–9.

242. Ji YN, Zhan P, Wang J, Qiu LX, Yu LK. APE1 Asp148Glu gene polymorphism
243. Lo YL, Jou YS, Hsiao CF, Chang GC, Tsai YH, Su WC ve ark. A Polymorphism in the APE1 Gene Promoter is Associated with Lung Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18 (1):223-229.
244. Ağaçhan B, Küçüküseyin Ö, Aksoy P, Turna A, Yaylım Đ, Görmüs U ve ark. Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease (APE1) Gene Polymorphisms And Lung Cancer Risk in Relation To Tobacco Smoking. *Anticancer Research* 2009;29 (6):2417-2420.
245. Zavoral M, Minarikova P, Zavada F, Salek C, Minarik M. Molecular biology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol.* 2011; 17 (24):2897-2908. and lung cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2011; 38 (7):4537-4543.
246. Au WW, Salama SA, Sierra-Torres CH. Functional characterization of polymorphisms in DNA repair genes using cytogenetic challenge assays. *Environmental Health Perspectives* 2003; 111 (15):1843-1850.