



T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ŞAHİNBEY UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Bedriye Gizem TEKİN

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Suzan TABUR

GAZİANTEP
TEMMUZ 2020

T.C. GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ŞAHİNBEY UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Bedriye Gizem TEKİN

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Suzan TABUR

GAZİANTEP
TEMMUZ 2020

EĞİTİM SONUÇ TUTANAĞI

Adı soyadı : Bedriye Gizem Tekin
Baba adı : Mehmet Munir
Doğum yılı, yeri : 1990, Üsküdar/İstanbul
Nüfus kaydı : Birecik/Şanlıurfa
T.C.Kimlik No : 58738256688
Mezun olduğu fakülte : Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
Diploma no : 38207
Diploma tarihi : 01/07/2014
BD eğitime başlama tarihi : 20/07/2015
Devam süresi :
Sınava giriş tarihi : 03/09/2020

- 22/07/2020 tarihinde toplanan jürimiz İç Hastalıkları A.D. Araştırma Görevlisi Dr.Bedriye Gizem TEKİN'i, 'Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi' konulu tezden sınava almış olup tezini yeterli ve kendisini başarılı bulmuştur.
- 03/09/2020 tarihinde toplanan jürimiz İç Hastalıkları A.D. Araştırma Görevlisi Dr. Bedriye Gizem TEKİN'in belgelerini incelemiş, gerekli eğitim süresini ve rotasyonlarını tamamladığını saptamıştır.
- 03/09/2020 tarihinde Dr. Bedriye Gizem TEKİN'e klinik uygulama yaptırılmış, aday bu uygulama ve konuyla ilgili sorulara verdiği yanıtlarda başarılı bulunmuştur.
- 03/09/2020 tarihinde yapılan teorik sınavda aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

KARAR : Dr. Bedriye Gizem Tekin'in bir kliniği tek başına idare edebilecek yetenekte olduğu saptanarak İç Hastalıkları Uzmanı olmasına oybirliği ile karar verilmiştir

Başkan: Prof. Dr. Murat Taner GÜLŞEN
İç Hastalıkları A.D. / Gastroenteroloji BD.

Üye: Prof. Dr. Zeynep Abidin ÖZTÜRK
İç Hastalıkları A.D./Geriatrid BD.

Üye : Doç. Dr.Suzan TABUR
İç Hastalıkları A.D./End ve Metab. BD.

Üye: Doc.Dr. Handan H. ŞAHİN
İç Hastalıkları A.D./Hematoloji BD.

Üye: Dr.Öğr.Üyesi Havva Yeşil Çinkır
İç Hastalıkları AD./ Tıbbi Onkoloji BD.

Prof. Dr. Can DEMİREL
Dekan

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; polikistik over sendromu ile oksidatif stres ve insülin rezistansı ilişkisini değerlendirerek bu sendromun uzun vadeli metabolik komplikasyonlarının izlenmesi konusunda yeni parametrelerin ortaya konması ve buna göre tedavi stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlamaktır. Bu kapsamda Rotterdam 2003 tanı kriterlerine göre tanı almış 32 PKOS hastası ile 25 sağlıklı gönüllü kadın incelendi. Tüm gönüllülerin menstruasyonlarının ilk üç gününde fizik muayenesi ve boy ve kilo ölçümleri yapıldıktan sonra 8-10 saatlik açlığı takiben alınan serum örneklerinde açlık kan glukozu, insülin, HbA1c, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, total kolesterol ile malondialdehit (MDA), peroksinitrit, 4-hidroksinonenal ve nuklear faktör eritroid 2 ilişkili faktör 2 (NRF 2), Fetuin-A parametreleri çalışıldı. Her iki grubun yaş ve vücut kitle indeksleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı. PKOS'lu grupta trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek saptandı. Karbonhidrat metabolizmasını değerlendirmek amacıyla bakılan açlık glukozu, insülin, HbA1c, HOMA-IR değerleri PKOS'lu grupta anlamlı olarak yüksek tespit edildi. Fetuin A düzeylerinde ise gruplar arası fark saptanmadı. Oksidatif stres değerlendirmesi amacıyla oksidan maddeler olarak bakılan MDA, 4 hidroksinonenal düzeyleri PKOS'lu hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek tespit edildi. Reaktif nitrojen türlerinden olan peroksinitrit düzeyleri kontrol grubuna kıyasla PKOS'lu grupta daha yüksek saptansa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu çalışmada PKOS ile oksidatif stres ve insülin rezistansı ilişkisini destekler sonuçlar bulundu. Çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulsa da klinik seyir izleminde oksidan ve antioksidan belirteçler kullanılması ve tedavinin bu belirteçlere göre şekillenmesi uzun dönem komplikasyonların önlenmesi açısından faydalı olabilir.

Anahtar kelimeler; PKOS, oksidatif stres, insülin direnci, 4HNE, NRF2

ABSTRACT

The aim of this study is to make contribution to exhibiting new parameters with regard to watching the long term metabolic complications of this syndrome and identifying treatment strategies accordingly by means of evaluating the relationship between PCOS and oxidative stress and insulin resistance. 32 PCOS patients diagnosed in reference to Rotterdam 2003 diagnose criterion and 25 healthy volunteers were analyzed within this scope. Physical examinations, height and weight measurements of all participants in the first three days of their menstrual periods were noted. After these examinations, the followed parameters were studied after 8 to 10 hours of fasting: fasting glucose, insulin, HbA1c, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride, total cholesterol and malondialdehyde (MDA), peroxynitrite, 4-hydroxynonenal and nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (NRF 2), Fetuin-A. There was no significant difference between the age and BMI of both groups. The levels of LDL cholesterol, HDL cholesterol, triglyceride, total cholesterol were determined significantly high in the group with PCOS as against the control group. Fasting glucose, insulin, HbA1c, HOMA-IR values, which were examined to evaluate carbohydrate metabolism, were found to be significantly higher in the PCOS group. In addition, there was no difference between the groups for Fetuin A levels. MDA, 4 hydroxynonenal levels analyzed as oxidant substances in order to evaluate oxidative stress were determined significantly high in patients with PCOS as against control group. Although the levels of peroxynitrite, a type of reactive nitrogen, were determined higher in the group with PCOS as against the control group, this was not statistically significant. Results supported the relationship between PCOS metabolic problems and PCOS oxidative stress were found. Although much more studies are needed on this topic, the use of oxidant and antioxidant markers in the clinical course and shaping the treatment according to these markers may be beneficial in terms of preventing long-term complications.

Key words; PCOS, oxidative stress, insulin resistance, 4HNE, NRF2



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında sabırla ve ilgiyle değerli bilgilerini benimle paylaşan, güler yüzü ve samimiyetini asla esirgemeyen danışman hocam sayın Doç.Dr. Suzan Tabur'a, çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından sürekli yanımda olarak bana yol gösteren kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Seyithan Taysı'ya şükranlarımı sunuyorum. Öğrenciliğimden bu yana hem insani hem mesleki özelliklerine hayranlık duyduğum, çok şey öğrendiğim ve daha da öğrenebilmeyi umduğum kadim hocam sayın Prof. Dr. Murat Taner Gülşen'e teşekkür ediyorum.

Tıp Fakültesine ilk başladığım günden beri tecrübelerini benimle paylaşarak hep daha ileri gitmemi sağlayan, tökezlememe izin vermeden beni yüceltmeye odaklanan, tez dönemimin her aşamasında en az benim kadar emek harcayan meslektaşım ve çok sevgili eşim Op. Dr. Sezgin Bahadır Tekin'e ve her zaman yanımda olabileceklerini hissettiren değerli ailesine, her zaman olduğu gibi tez süresince de yükümü hafifleten, teknik her türlü problemi anında çözüveren biricik kardeşim Muhammed Beşir Hacımustafaoğlu'na, doğumumla beraber önceliklerimi öncelikleri yapan, öğrenciliğim, ihtisasım, tezim süresince koşulsuz sevgi ve hoşgörüyle hayatımı daha anlamlı ve güzel hale getiren kıymetli anneme ve babama çok teşekkür ediyorum.

Son olarak doğumuyla beni güçlendiren, sakinleştiren, ehlileştiren, tamamlayan canım oğlum Arın Mir'e ayrıca teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Polikistik Over Sendromunun Tanımı ve Tarihçesi.....	3
2.2.Etiyopatogenez.....	3
2.2.1.Genetik ve Çevresel Faktörler.....	3
2.2.2.İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi	4
2.2.3.Hipotalamo-Hipofizer-Gonadal Aks Bozulması.....	5
2.2.4 Oksidatif Stres.....	6
2.3.Klinik	7
2.3.1.Hırşutizm.....	7
2.3.2. Menstural Düzensilik	8
2.3.3. İnfertilite.....	9
2.3.4. Obezite	9
2.3.5. Akne	9
2.4. Laboratuvar	9
2.5. Görüntüleme.....	10
2.6.Tanı	11
2.7. Ayırıcı Tanı	12
2.8. Klinik Seyir-Uzun Dönem Sağlık Riskleri	15
2.8.1. Malignite	15
2.8.2. Glukoz intoleransı-Tip 2 DM.....	15
2.8.3. Dislipidemi.....	15

2.8.4. Obezite	16
2.8.5 Hipertansiyon	16
2.8.6. Kardiyovasküler Hastalık.....	16
2.8.7. Psikolojik Problemler	16
2.9. Tedavi.....	17
2.10. Polikistik Over Sendromu ve Oksidatif Stres	19
2.11. Polikistik Over Sendromu ve Fetuin A	21
3.GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Çalışmanın Tasarlanması	23
3.2. Hasta Seçimi.....	23
3.3.Hastaların Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri	23
3.4. Hastaların Araştırmadan Dışlanma Kriterleri	23
3.5. Sağlıklıların Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	24
3.6. Sağlıklıların Araştırmadan Dışlanma Kriterleri.....	24
3.7. Laboratuvar Yöntemi	25
3.8. İstatiksel Yöntem	25
4.BULGULAR	27
5.TARTIŞMA	31
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	xi

TABLoların LİSTESİ

Tablo 1: PKOS klinik prezentasyonlar	7
Tablo 2: PKOS tanı kriterleri	11
Tablo 3: PKOS ayırıcı tanı	14
Tablo 4: Demografik verilerin karşılaştırılması	27
Tablo 5: Lipid profil düzeylerinin karşılaştırması	28
Tablo 6: Karbonhidrat metabolizması parametrelerinin karşılaştırması	29
Tablo 7: Oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırması	30

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1: Ferriman Galwey skortlama sisteminde vücut kıl dağılımı	8
Şekil 2: NRF2'nin görev şeması.....	20



KISALTMALAR

ACTH: Adrenokortikotrop hormon
AES: Androgen Excess Study
ASRM: American Society for Reproductive Medicine
DM: Diabetes mellitus
DHEAS: Dihidroepiandrostenedion sülfat
DNA: Deoksiribonükleik asit
DST: Deksametazon supresyon testi
ESHRE: European Society for Human Reproduction and Embryology
E2: Estradiol
ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay
FG: Ferriman Gallwey skoru
FSH: Folikül stimüle edici hormon
GH: Growth hormon
GnRH: Gonadotropin-releasing hormon
GPx: Glutasyon peroksidaz
GSH: Glutasyon
GR: Glutasyon redüktaz
HbA1c: Hemoglobin A1c, glikolize hemoglobin
HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein
HOMA: Homeostatik model değerlendirme
HT: Hipertansiyon
IGF-1: İnsulin benzeri büyüme faktörü -1
IGFBP-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-1
IR: İnsülin rezistansı
IVF: İn vitro fertilizasyon
KVH: Kardiyovasküler hastalık

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein
LH: Lüteinizan hormon
MDA: Malondialdehit
NCAH: Non classic conjenital adrenal hiperplazi
NIH: National Institutes of Health
NICHD: National Institute of Child Health and Human Development
NRF 2: Nuklear faktor erythroid 2–related faktor 2
OS: Oksidatif stres
OGTT: Oral glukoz tolerans testi
OKS: Oral kontraseptif
PKOS: Polikistik over sendromu
PRL: Prolaktin
ROS: Reaktif oksijen türleri
RNS: Reaktif nitrojen türleri
SHBG: Seks hormon bağlayıcı globulin
TSH: Tiroid stimulan hormon
VKİ: Vucut kütle indeksi
4HNE: 4 Hidroksinonenal

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Polikistik Over Sendromu üreme çağındaki kadınları etkileyen endokrinolojik ve metabolik bir patolojidir. Bu sendrom, androjen fazlalığı, ovulatuvar disfonksiyon ve polikistik overlerle karakterizedir [1].

PKOS'un etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Sendromun fizyopatolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkan gonadotropin dinamiğinde değişiklikler, steroidogenez defektleri sonucu hiperandrojenemi, insülin salınım ve etki bozuklukları sonucu insülin rezistansı, dislipidemi ve oksidatif stres ön plana çıkmaktadır. Tam prevelansı belirlemek için kontrollü sistematik bir çalışma yapılmamasına rağmen çok sayıda araştırma PKOS'lu hastaların yarısında insülin direncinin olduğunu göstermektedir. Hiperinsülinemi hem doğrudan (yumurtalık teka hücrelerindeki androjen biyosentezini uyarması yoluyla) hem de dolaylı olarak (karaciğer tarafından seks hormon bağlayıcı globulin üretimi üzerindeki etkileri yoluyla) hiperandrojenizme katkıda bulunur [2].

Fetuin-A, karaciğerde üretilen ve plazmaya salınan bir glikoproteindir [3]. Son deneysel çalışmalarda elde edilen veriler, yüksek fetuin-A seviyelerinin insülin reseptör sinyali bozarak insülin direncine yol açtığını göstermiştir [4].

Oksidatif stres biyolojik sistemdeki hücresel döngüler sırasında ortaya çıkan serbest radikaller ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidan maddeler yönünde bozulması sonucu aşırı reaktif oksijen türlerinin üretimiyle ortaya çıkar [5]. Reaktif oksijen türleri DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna, protein hasarına ve dolaylı olarak hücre içi sinyal yollarının bozulmasına neden olabilir. Bu hasarın çeşitli hastalıklara sebep olabileceği düşünülmektedir.

Hücre içinde ve hücre duvarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin, artmış reaktif oksijen türleriyle peroksidasyonu sonucu aldehidler ve hidroksil radikalleri ortaya çıkar. MDA (malondialdehit) bu aldehitlerin en önemlisidir.

4-hidroksinonenal de peroksidasyon sonucu ortaya çıkan beta doymamış aldehitlerden biridir ve hücre içi sinyal yollarına aracılık eden güçlü bir habercidir [6].

Peroksidasyon reaksiyonları sırasında ortaya çıkan bir diğer toksik madde hidroksil radikalleridir. Hidroksil radikalleri peroksinitrit denen bir metabolitin dekompozisyonu sonucu oluşurlar. Peroksinitrit; nitrik oksit ile süperoksidin reaksiyonu sonucu ortaya çıkar. Oksidatif doku hasarına neden olan son derece toksik bir moleküldür. Bu nedenle serum MDA, 4 hidroksinonenal ve peroksinitrit lipid peroksidasyonunun yanısıra hücre zarı ve DNA hasarının boyutunu da yansıtabilir [7,8].

Artmış reaktif oksijen türleri lipid ve protein yapıları hasarlayarak dolaylı olarak hücre içi sinyal iletimine de zarar verir. Oksidatif stres sonucu bozulan sinyal yollarından biri NRF2 dir. NRF2 oksidatif strese yanıt olarak aktif hale gelen anahtar bir moleküldür, hücre işlevini korumak için antioksidan yanıtı düzenler [9].

Yukarıda bahsedildiği üzere polikistik over sendromunda artan reaktif oksijen türleri ve bozulan sinyal iletim yolları mitokondriyal disfonksiyona sebep olur. Mevcut duruma insülin direncinin de eklenmesiyle daha da artan reaktif oksijen türleri anormal yumurtalık remodellingine, çoklu kist oluşumuna ve anovulasyona sebep olur [10].

Tüm bunlar göz önünde bulundurularak, insülin direnci ve oksidatif stresin PKOS gelişiminde ve sendromun uzun dönemli komplikasyonlarında önemli roller oynayabileceği düşünülebilir.

Bu çalışmanın amacı; polikistik over sendromu (PKOS) olan kadınlarda ve sağlıklı kontrollerde, oksidatif stres belirteçlerini ve insülin direncinin göstergesi olabilecek serum fetuin A düzeylerini değerlendirerek bu sendromun uzun vadeli metabolik komplikasyonlarının izlenmesi konusunda yeni parametrelerin ortaya konması ve buna göre tedavi stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlamaktır.

2.GENEL BİLGİLER

Polikistik Over Sendromu

2.1. Tanım ve Tarihçe

Polikistik Over Sendromu üreme çağındaki kadınları etkileyen endokrinolojik ve metabolik bir patolojidir. İlk kez Irving F. Stein ve Michael L. Leventhal 1935 yılında kadınlarda anovulasyon ile ilişkili bir sendrom olarak tanımlamışlardır [11]. 1980 yılında Burghen ve arkadaşları tarafından ilk kez PKOS ile hiperinsülineminin ilişkili olabileceği üzerinde durulmuş [12], 1987’de artık PKOS’da insülinin hem fazla üretildiği hem de aktivitesinde bazı problemler olduğu saptanarak glukoz intoleransından söz edilmiştir [13]. 2012 ve sonrası artık PKOS, hiperandrojenemi ve insülin rezistansının rol oynadığı kompleks bir bozukluk olarak değerlendirilmeye başlanmıştır [14,15].

Yapılan çalışmalarda insidansının %6-20 arasında olduğu bildirilmiştir [16,17,18]. Tanı kriterleri universal olmadığından insidans çok değişiklik göstermektedir.

2.2 Etiyopatogenez

Etyopatogenezi halen aydınlatılamamakla birlikte genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkmış insülin direnci ve hiperinsülinemi, hipotaloma-hipofizer-gonadal aks bozulması, hiperandrojenemi ve oksidatif stres ile bağlantılı kompleks bir bozukluk olarak değerlendirilebilir.

2.2.1. Genetik ve Çevresel faktörler

Pek çok çalışmaya rağmen kalıtım şekli henüz gösterilememekle birlikte hastaların aile bireylerinde PKOS görülmesi, özellikle anne ve kız kardeşlerde menstrasyon düzensizlikleri, erkek üyelerde androjen düzeylerinin artmış olması PKOS’un kalıtsal olabileceğini düşündürür [19].

PKOS'un genetik araştırmalarında bugüne kadar yapılan çalışmaların hepsinde hastalıkla ilişkili anormalliklere yönelinmiş ve steroid hormonlar, karbonhidrat metabolizması ve gonadotropin sekresyonu ile ilgili aday genlere odaklanılmıştır. Bu genler arasında steroid biyosentezinde rol oynayan CYP17, CYP11A ve CYP21 genleri PKOS'la ilişkisinin varlığı yönünden incelenmiştir. Kapsamlı alışmalar olmamakla birlikte CYP11A'nın allelik varyantlarının aşırı androjen sentezinde ve PKOS'un hırşutizminde rolü olduğuna dair deliller vardır. Aksine CYP17 ve CYP21 genlerinin incelenmesi sonucu PKOS'daki rollerini destekleyecek bulguya rastlanmamıştır [20,21,22].

Karbonhidrat metabolizmasında rolü olan genlere ilişkin yapılan iki çalışmada insülin reseptör gen lokusu yanındaki bir bölgenin PKOS ile ilgili olduğu bildirilmiştir [23,24]. Bu bölge PKOS için aday bir gen içerebilir.

PKOS'ta ailesel yığılım genetik orijine işaret etmekte, ancak aile içindeki bireylerde bu sendromun varlığının çevresel faktörlerle de geliştiği kabul edilmektedir [25]. PKOS'un klinik varlığında ortaya çıkan etnik farklılıkların beslenme alışkanlığı, egzersiz sıklığı ve yaşam tarzı gibi çevresel faktörlerle bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür. Beslenme sırasında alınan doymamış yağ asidi zincirlerinin poli veya mono olmasının bile, sendromun metabolik yönünü etkileyebileceği bildirilmiştir [26].

2.2.2. İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi

İnsülin direnci yeterli insülin varlığında insülinin etkisini gösterememesi durumudur [27]. Bu durumda karaciğerden glukoz salınımı artar ve insülin aracılı glukoz kullanımı azalır. Üç farklı mekanizma ile direnç ortaya çıkar;

1. Prereseptr bozukluklar
2. İnsülin reseptör bozuklukları
3. Postreseptör bozukluklar

PKOS'lu hastalarda ise insülin direncinin ve buna bağlı olarak hiperinsülineminin hangi tip bozukluğa bağlı olduğu net olarak bilinmemekle birlikte birkaç mekanizma

üzerinde durulmaktadır. Bunlar, insüline periferik hedef doku direnci, insülinin karaciğerden temizlenmesinde azalma veya insülinin pankreastaki duyarlılığının artmasıdır [28]. Genellikle post-reseptör bozukluklar üzerinde durulmuştur [29].

Bahsedilen sebeplerin sonucunda bu hastalarda hiperinsülinemi ve insülin rezistansı görülmektedir. Hiperinsülinemi, birkaç farklı mekanizmayla hiperandrojenizme neden olmaktadır.

1) İnsülin in vitro olarak kendi reseptörü veya IGF-1 reseptörü aracılığıyla ovaryan androjen üretimini stimüle eder [30]. İn vivo, insülinin 17-alfa hidroksilaz, 17-20 dezmolaz, enzim sisteminde (p450c17) stimülasyonuna yol açtığı düşünülmektedir [31].

2) İnsülin androjen düzeylerini direkt olarak etkileyebilir. Bu insülinin gonadotropinler (artmış LH) üzerinden etkisiyle olabilir [32]. Hiperinsülinizmin bu indirekt etkisi henüz kesinlik kazanmamıştır.

3) Diğer bir mekanizma insülinin SHBG' hepatic üretimini azaltmasıdır [33], böylece dolaşımdaki serbest androjenlerin düzeyi artar. İnsülin ayrıca ovaryan IGF-1 bağlanmasını arttırırken [34], IGFBP-1' in hepatic üretimini azaltır [35]. IGF-1, LH'nin ovaryan androjen üretimindeki etkisini indirekt olarak amplifiye ederken kendisi de bu üretimi direkt stimüle eder [36].

2.2.3. Hipotaloma-Hipofizer-Gonadal Aks Bozulması

Normal menstrüel siklusa hipotalamusun arkuat çekirdeğinden pulsatil salınan gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH), ön hipofizden pulsatil FSH ve LH salınımına neden olur.

PKOS olgularında santral gonadotropin dinamiğinde sapma vardır. LH'nin hem puls frekansında hem de puls amplitüdünde artış söz konusudur. Pitüiterin egzojen GnRH'ye duyarlılığı artmıştır. Bu olgularda kronik olarak yüksek seviyelerde karşılanmamış serbest östrojen direkt olarak gonadotropin sentezine etki ederek ve/veya indirekt olarak GnRH'nin kendi GnRH reseptörlerini arttırmasını uyarak

pitüiter sensitiviteyi arttırabilir ve indirekt olarak LH'nin fazla salınmasına neden olur. LH'nin aksine hipofizer FSH sekresyonu erken folliküler fazda belirgin düşük olarak tespit edilmektedir. Düşük FSH düzeyinin nedeni tam olarak anlaşılamamakla beraber kronik karşılanmamış östrojenin negatif feedback etkisi ile artmış GnRH pulsatilitesinin LHβ gen ekspresyonunu FSHβ gen ekspresyonuna göre daha fazla artırması patogeneizde rol oynadığı düşünülen iki mekanizmadır [37,38].

Buna karşın FSH düzeyleri foliküler fazın erken döneminde belirgin olarak düşük seyreder [39,40,41].

2.2.4. Oksidatif Stres

Genel bir terim olarak oksidatif stres genellikle serbest radikallerin üretimi ile vücudun, DNA hasarına ve/veya hücre apoptozuna neden olan antioksidanlar tarafından zararlı etkileri ile savunma yeteneği arasındaki dengesizliği tanımlamak için kullanılır. Hücrelerin normal oksidasyon reaksiyonundaki bozukluklar ve serbest radikallerin ve peroksitlerin üretimi, hücreye zarar veren toksik etkilere neden olabilir. Reaktif oksijen türleri DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna, protein hasarına ve dolaylı olarak hücre içi sinyal yollarının bozulmasına neden olabilir.

Oksidatif stresin Tip 2 DM, ateroskleroz, obezite, IR ve biyolojik yaşlanma üzerindeki etkileri kanıtlanmıştır. Birçok araştırma OS'deki artışların ve antioksidan konsantrasyonundaki azalmanın PKOS özellikleri ile de ilişkili olduğunu göstermiştir. PKOS ile oksidatif stresin ilişkili olduğuna dair ilk çalışma 2000 yılında yayınlanmıştır [42]. Sonraki yıllarda yapılan tüm çalışmalar bu hipotezi destekler nitelikte olmuştur. Kapsamlı olarak 2013 yılında 4933 PKOS hastası ve 3671 kontrolü dahil eden 68 çalışma seçilerek yapılan bir meta analizde kontrol grubuna kıyasla PKOS'lu kadınlarda oksidatif stres markerlarının yüksek, antioksidan metabolitlerin düşük olduğu saptanmıştır [43]. Literatürdeki çoğu çalışmanın sonucu olarak PKOS'lu hastalarda OS'nin yükseldiğini ve antioksidan kapasitesinin azaldığını söyleyebiliriz.

Oksidatif stresin PKOS patogenezin katılımı net olmasa da mevcut çalışmaların bazı sonuçları PKOS'un mekanizması ve uzun dönem komplikasyonların takibi açısından önemlidir.

2.3. Klinik

Klinik, etyopatogenezin yansıması olarak, hiperandrojenizm ve insülin direncinin sonuçları şeklinde karşımıza çıkar. PKOS'daki klinik prezentasyonlar sıklığına göre tablo 1 de yer almaktadır.

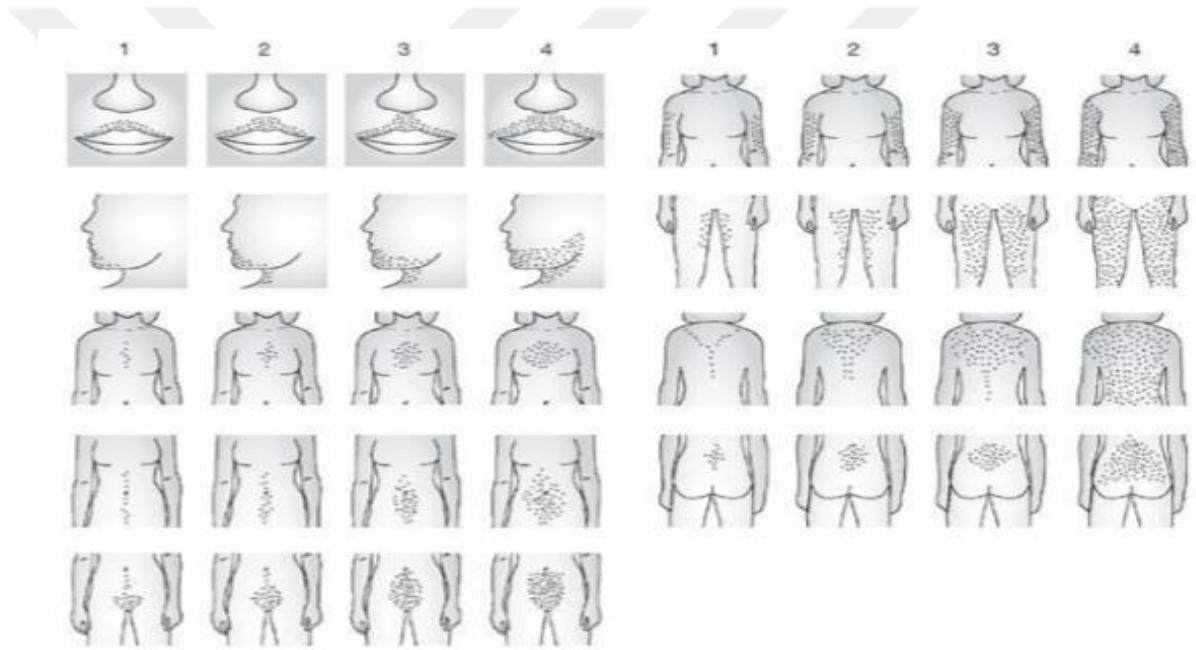
Tablo 1: PKOS klinik prezentasyonlar

PKOS belirti bulguları	Görülme sıklığı
Hirşutizm	%60-90
Oligomenore	%50-90
Polikistik over morfolojisi	%50-75
İnfertilite	%55-75
Obezite	%40-60
Amenore	%25-50
Disfonksiyonel uterus kanaması	%30
Akne	%25
Normal menstrüel siklus	%22

2.3.1. Hirşutizm

Pigmente olmayan ince yumuşak vellüs kılların androjen bağımlı bölgelerde kalın pigmente terminal kıllara dönüşmesidir. Hirşutizmin en sık bilinen nedeni PKOS' tur. Birçok değişik paternde görülebilir. Kıl dağılımı modifiye Ferriman Gallwey (FG) skorlaması ile değerlendirilir. 9 bölge 0 ve 4 arasında skorlanır ve toplam skor elde edilir. Toplam FG skoru 36 dır. (Şekil 1). FG skoru beyaz ve siyah

kadınlarda 8 ve üzerinde ise hirsutizm olarak kabul edilir [44]. Bununla beraber Akdeniz kıyısı ülkelerde, Hispaniklerde ve Orta Doğu bölgesindeki kadınlarda FG skoru 9–10 un üzerindeyse hirsutizm olarak kabul edilirken, Asya’lı kadınlarda 2 ve üzeri hirsutizm olarak kabul edilir.



Şekil 1: Ferriman Galwey skorlama sisteminde vücut kıl dağılımı

2.3.2. Menstruel Düzensizlik

Amenoreden oligomenoreye kadar giden birçok menstruel siklus dengesizlikleri PKOS’lu kadınlarda görülebilmektedir. Yaklaşık %50 oranında oligomenore ve %25 oranında da amenore görülebilir [45]. Oligomenore, peripubertal başlangıçlı olmakla beraber ve menarştan itibaren yılda 6’dan az adet görme şeklinde tarif edilmiştir. Amenore ise, gebelik yokluğunda, 3 ay ya da daha fazla süre menstruasyon kanamasının olmamasıdır. %30 olguda şiddetli uterin kanamalar

görülebileceği gibi %20 hastada normal menstural kanamaların olduğu unutulmamalıdır.

2.3.3. İnfertilite

PKOS'un en önemli klinik bulgularından birisi infertilitedir [46]. Birçok hasta infertilite polikliniklerine başvurur. LH hipersekresyonu, FSH yetersizliği, hiperandrojenemi gibi durumlar anovulasyona ve bunun sonucunda infertiliteye sebep olabilmektedir. Anovulasyonun dışında bu hastalarda implantasyonda da sorun vardır. Yapılan çalışmalarda PKOS olmayanlara kıyasla PKOS'lularda erken abort riski daha yüksek bulunmuştur. Bu abortların sebebi olarak yüksek LH konsantrasyonları ve bozulmuş oosit ve embriyo kalitesi gösterilmiştir.

2.3.4. Obezite

Hiperinsülinemi ve insülin rezistansına bağlı olarak obezite yine PKOS'ta sık görülür. PKOS' un mu obeziteye yol açtığı veya obezitenin mi PKOS yaptığı tam olarak aydınlatılamasa da PKOS'lu kadınların yarısından fazlası asırı kilolu veya obezdir. Yapılan çalışmalar insülin direncine ek olarak artmış androjen düzeylerinin de bu kadınlarda visseral ve cilt altı yağ miktarını arttırdığını göstermiştir.

2.3.5. Akne

PKOS'lu kadınlarda androjen seviyelerinin yüksek seyrettiğinden sebase bezlerinde uyarılmaya bağlı olarak ciltte yağlanma artışı görülür ve foliküllerin açılması engellenir ve bu da akne olarak bulgu verir.

2.4. Laboratuvar

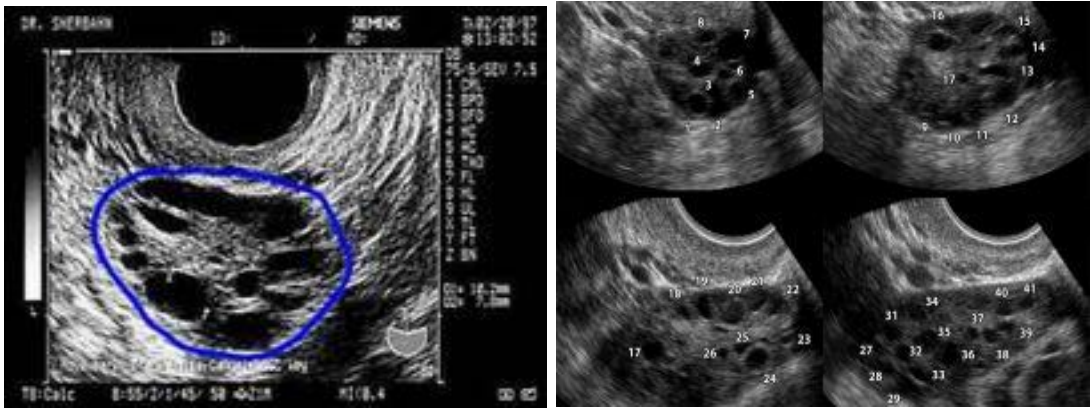
Klasik olarak, klinik tablo temelinde PKOS olduğundan şüphelenilen hastalarda serum total testosteron, DHEAS ve 17alfa-hidroksiprogesterondan ibaret olan bir minimum endokrin değerlendirme tavsiye edilir. Plazma testosteron düzeyi

ve androjenler genellikle yüksektir. Diğer hormonal tetkikler ayırıcı tanı için gereklidir.

PKOS'un uzun dönem sağlık risklerini değerlendirebilmek adına lipid profili, açlık kan glukozu, açlık insülini, HbA1c düzeyi bakılabilir. Amerikan Endokrinologlar Cemiyeti PKOS'u olan hastaların 75 gr glukoz yükleme testi ile taranmasını önermiştir. PKOS hastalarının çoğunda bozulmuş glukoz toleransı saptanır ki bu da tip 2 DM ye ilerleyiş ve kardiyovasküler hastalıklar açısından risk faktörü anlamına gelir.

2.5. Görüntüleme

PKOS olgularının çoğu sadece klinik semptomlarla tanınabilir. Polikistik overlerin ultrasonografik belirtisi anovulasyonlu ve hiperandrojenemili kadınlarda teşhisi teyit eder. PKOS'da polikistik over morfolojisi, 2–9 mm çaplı, 12 veya daha fazla antral follikül olması ve/veya artmış over volümü (>10 ml) olarak tanımlanır. Pelvik usg ile ayrıca kronik östrojen etkisine endometrial cevap da değerlendirilebilir.



Fotoğraf 1: TVUS ile görüntülenen polikistik overler

2.6.Tanı

PKOS tanı kriterleri konusunda günümüzde tam bir fikir birliği sağlanamamıştır. İlk olarak 1990 yılında NIH (ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri) kriterleri ile başlayan süreç 2003 ve 2006 da "The American Society for Reproductive Medicine" ve "European Society of Human Reproduction and Embryology (ASRM/ESHRE)" katkılarıyla son halini almıştır. Her 3 kriterin de güçlü ve sınırlı yanları vardır. Geçmişten bugüne tanı kriterlerinde birçok değişiklik saptanan polikistik over sendromunda son tanı kriterleri tablo 2' de özetlenmiştir.

Tablo 2: PKOS tanı kriterleri

NIH 1990 (NATIONAL INSTITUTES of HEALTH)
• Kronik anovulasyon
• Klinik ve /veya biyokimyasal hiperandrojenizm olması
Diğer nedenler ekarte edildikten sonra yukardaki iki kriterin olması tanı için gereklidir.
2002 HAMBURG
• Adet düzensizliği
• Hirsutizm
• Akne
Diğer nedenler ekarte edildikten sonra yukardaki üç kriterin olması tanı için gereklidir.
2003 ESHRE/ASRM (MODİFİYE ROTTERDAM)
• Oligo-anovulasyon
• Hiperandrojenizm ya da hiperandrojenemi
• Polikistik over morfolojisi
Cushing Sendromu, non-klasik adrenal hiperplazi, over/adrenal tümörler gibi diğer nedenler ekarte edildikten sonra yukarda ki üç kriterden ikisinin varlığı tanı için yeterlidir.
2006 AES (ANDROGEN EXCESS STUDY)
• Hiperandrojenizm (Hirsutizm veya hiperandrojenemi)
• Over fonksiyon bozukluğu ve/veya polikistik overler
Diğer nedenler ekarte edildikten sonra yukardaki iki kriterin olması tanı için gereklidir.

2.7. Ayırıcı Tanı

PKOS için tanısasal bir test yokluğu, anovulasyon ve hiperandrojenizmden oluşan geniş klinik spektrumla birlikte oluşu, benzer klinik görünümlü hastalıkların göz önünde bulundurulmasını ve PKOS tanısı koyulmadan önce bu hastalıkların dışlanması gerektirir. Bu nedenler arasında klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi, Cushing Sendromu, hiperprolaktinemi, tiroid disfonksiyonu, akromegali ve androjen salgılayan tümörler sayılabilir. Androjenler, progestajen ajanlar, steroidler gibi bazı ilaçların kullanımı hiperandrojenizme ya da hiperandrojenemik değişikliklere yol açabilir. Prolaktin ile ilgili bozukluklar ve tiroid hastalıkları da ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken durumlardır. Aşağıdaki tablo 3’de ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken hastalıklar ve bu hastalıkların PKOS ile benzer ve farklı özellikleri yer almaktadır.

Klasik olmayan tipte konjenital adrenal hiperplazi (NCAH), PKOS’u en iyi taklit eden hastalıktır. Klinik görünümün PKOS’dan ayırt edilemeyeceği bilinmelidir. 21 hidroksilazın eksikliğiyle 17alfahidroksiprogesteron birikir, bu da menstruel siklusun foliküler fazındaki değer ile karşılaştırıldığında, bu hormonun anormal yükselmesine yol açar. 17-hidroksiprogesteron (17-OHP) düzeyinin erken folliküler fazda 2-3 nanogram/ml olması tanıyı ekarte ettirecektir. Bu değer üzerinde olan hastalarda kısa ACTH testi uygulanarak 21 hidroksilaz aktivitesine bakılıp klasik olmayan tip konjenital adrenal hiperplazi tanısı araştırılmalıdır.

Cushing Sendromu’nun klinik görünümü PKOS tanısını hatırlatan obezite, hirsutizm, akne ve menstruel düzensizliklerdir. Cushing Sendromu süphesinde daha önce bahsettiğimiz gibi 24 saatlik idrarda serbest kortizol düzeyi ve 1 mg DST ile tarama testi kullanılabilir.

Prolaktinomada hastanın şikayetlerinde galaktore ayırt edici olabilir serum PRL seviyesi ile ayırıcı tanıya gidilebilir.

Tiroid fonksiyon bozukluklarından özellikle primer hipotirodi menstrual düzensizliklere sebebiyet verdiğinden ayırıcı tanıda düşünölmelidir. Tanı öncesi basit bir TFT ile ayrıma gidilebilir.

Akromegaliden şüphelenilecek semptomlar varlığında IGF-1 ölçümü ve GH supresyon testi uygulanabilir. Premature ovaryan yetmezlik yine adet düzensizliği yapabileceğinden akılda tutulmalıdır ancak bu hastalarda hiperandrojenizm görülmez ve FSH seviyeleri yüksektir.

Obez hastalarda genellikle insülin rezistansına bağılı olarak hiperandrojenizm göröldüğünden benzer klinik ortaya çıkabilir. Ancak PKOS'lu hastaların da yarısının obez olduğı unutulmamalı ve ancak mevcut klinik durum PKOS dışlandıktan sonra sadece obeziteye bağlanmalıdır. Androjen üreten tümörler over ve adrenal glanddan gelişebilir. Fonksiyonel hiperandrojenizmde klinik tablo tedrici olarak ortaya çıkarken, neoplastik proçesler oldukça hızlı gelişebilir. Aylar içersinde bu lezyonlar şiddetli hirşutizm, erkek tipi vücut yapısı ve kliteromegaliyle virilizasyonu ortaya çıkarabilir. Bu hastalarda daha önce değinildiğı gibi fazla yüksek androjen düzeyleri vardır. Testosteron için 200 nanogram/dl, DHEAS için 700 nanogram/dl den yüksek değerler tümörler için anlamlıdır.

Tablo 3: *PKOS ayırıcı tanı*

HASTALIK	Hiperandrojenemi Hiperandrojenizm	Oligoamenore	Klinik Özellikler	Hormonal Biyokimyasal Özellikler
Konjenital Adrenal Hiperplazi	Evet	Bazen	Ailede infertilite ve/veya hirsutizm hikayesi	Bazal veya stimulasyonla artmış 17 –hidroksiprogesteron düzeyleri
Cushing Sendromu	Evet	Evet	Hipertansiyon, stria, kolay morarma	24 saatlik idrarda yükselmiş serbest kortizol düzeyi
Prolaktinoma	Hayır veya hafif	Evet	Galaktore	Yükselmiş serum prolaktin düzeyi
Primer Hipotiroidi	Hayır veya hafif	Mevcut olabilir	Guatr olabilir	Artmış TSH düzeyleri, subnormal T4/ artmış prolaktin düzeyleri
Akromegali	Hayır veya hafif	Sık	Akral genişleme, prognatizm	Plazma IGF-1 düzeylerinde artış
Premature Ovaryen Yetmezlik	Hayır	Evet	Diğer otoimmün endokrinopatiler olabilir	Artmış plazma FSH düzeyi ile normal ve subnormal estradiol düzeyi
Obezite	Sık	Nadiren	Dışlama tanısı	-
Virilizan Ovaryen/ Adrenal Neoplazi	Evet	Evet	Klitteromegali, aşırı hirsutizm, erkek tipi alopesi	Aşırı derecede artmış plazma androjen düzeyleri
İlaç ilişkili	Sık	Değişken	İlaç hikayesi	-

2.8. Klinik Seyir-Uzun Dönem Sağlık Riskleri

2.8.1. Malignite

PKOS 'da kronik olarak progesteron ile karşılanmamış östrojenin persistan olarak endometriumu stimulasyonu bazı kadınlarda endometrial hiperplazi ve adenokarsinoma neden olabilir. PKOS ile endometrium kanserin ilişkisi bir vaka kontrollü çalışmada açıkça gösterildi ki artmış androstenedion seviyeleri premenapozal ve postmenapozal kadınlarda sırasıyla 3.6 ve 2.8 kat artmış endometrium kanseri riskiyle birlikte [47]. Tersine, endometrium kanserli genç kadınlarda anovulasyon ile birlikte menstrüel düzensizlikler ve PKOS hikayesi yaygındır [48]. PKOS'da artmış endometrial kanser riskini öne süren bu gözlemlere rağmen direkt ilişki için deliller yetersizdir ve hatta bazı vakalarda terstir. Endometrial kanser kadar olmasa da over ve meme kanseri riskine yönelik çalışmalar da yapılmıştır ancak riskte herhangi bir artış saptanmamıştır [49-50].

2.8.2. Glukoz İntoleransı-Tip 2 DM

PKOS patofizyolojisinde insülin rezistansı temel rol oynamaktadır. Bazal insülin rezistansına obezitenin etkileri de eklenince PKOS'lu olgular ciddi anlamda bozulmuş glukoz toleransı ve tip 2 diabetes riski taşırlar. Reprodüktif dönemdeki PKOS'lu olgularda bozulmuş glukoz toleransı prevalansı %31-35; tip 2 diabetes prevalansı da %7,5-10 bulunmuştur [51-52]. Bu oranlar düzenli adet gören kontrollere göre anlamlı olarak yüksektir [53].

2.8.3. Dislipidemi

PKOS'lu kadınlarda lipid anormallikleri normal benzer kontrollere kıyasla önemli derecede artmış total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid ile karakterizedir [54]. Aksine olarak, total HDL kolesterol serum seviyesi PKOS'da normal kadınlardakinden önemli derecede düşüktür.

2.8.4.Obezite

PKOS'la beraber en sık görülen problemidir. Vücut kitle indeksinin 30kg/m^2 'nin üzerinde olması olarak tanımlanır. Hastaların yaklaşık yarısı normal kiloda ve zayıftır. PKOS'lu hastalar kilo verdikleri zaman diğer endokrin problemlerde bir miktar düzelme görülebilir.

2.8.5. Hipertansiyon

Hipertansiyon genetik, fiziksel inaktivite, stres, tuzlu diyet gibi pek çok faktörden etkilenir. İnsülin rezistansı olan ancak obez olmayan PKOS'lu kadınların daha sık hipertansiyon geliştirdiklerine ait data bugün elimizde yoktur, ancak obezitenin hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalık için risk faktörü olduğu iyi bilinmektedir. 33 PKOS'lu kadında yapılan bir çalışmada hastaların %33'ünde tedavi gerektiren hipertansiyon saptanırken, populasyon bazlı kontrollerde bu oran %11 bulunmuştur [55].

2.8.6. Kardiyovasküler Hastalık

Kalp hastalıklarına predispozisyon oluşturan birkaç risk faktörünün varlığına dayanarak, PKOS'lu kadınların kardiyovasküler hastalık için genellikle artmış risk altında olduklarına inanılır. Bu faktörler; bozuk glukoz toleransı, android obezite, hiperandrojenizm, dislipidemi ve hipertansiyondur [56]. Bilinen risk faktörlerinden bağımsız olarak, PKOS' un kendisinin bir risk faktörü oluşturup oluşturmadığı hala açık değildir.

2.8.7. Psikolojik Problemler

Artan obezite, sivilcelenme gibi bulgular hastalarda bir takım psikolojik problemlere yol açabilir. Ayrıca artan infertilite oranları, oluşmuş gebeliğin gerçekleşmemesi yaşam kalitesinin düşmesi ve endişeye yol açarak vücuttaki stress

yolaklarını harekete geçirir. Küçük çaplı yapılan araştırmalarda PKOS'lu kadınlarda depresyon ve kaygı bozukluğunun sağlıklı gruba göre yüksek bulunduğu gözlenmiştir.

2.9. Tedavi

Patogenezi tam aydınlatılamadığından tedavi daha çok semptomatiktir. Genelde amaç fertilizasyonu sağlamak, menstruel düzensizlikleri tedavi etmek ve androjen seviyelerini normal değerlerine getirerek hastanın esas şikayetçi olduğu semptomu yok edebilmektir. Bununla birlikte PKOS'un uzun dönem komplikasyonlardan ve PKOS ilişkili ek hastalıklardan kaçınmak esas tedavi amacı olmalıdır.

Klinik hiperandrojenizmin tedavisinde farmakolojik yaklaşımlar androjenlerin baskılanması ve hedef organ etkilerinin azaltılması şeklindedir. Tedavi sonuçlarının en erken altı ay sonunda ortaya çıkabileceğinin hastaya anlatılması önemlidir. Ayrıca başarılı tedavi için farmakolojik ajanlar, mekanik/kozmetik yöntemler ile birlikte kullanılmalıdır. Androjen baskılayıcı tedavi seçenekleri arasında kombine oral kontraseptifler (OKS), uzun etkili GnRH analogları ve glukortikoidler yer almakla birlikte uzun etkili GnRH analogları ve glukortikoidler yüksek maliyet ve yan etki profili nedeniyle tercih edilmez.

İlk tercih OKS'lerdir. OKS'ler menstrüel siklusu düzenlerler, endometrium üstünde koruyucu etkiye sahiptirler ve androjen düzeylerini azaltırlar. OKS kullanımında androjenik etkisi olmayan ya da anti-androjenik progestinleri içeren kombine preparatlar tercih edilebilir. Ancak bugün için tedavide herhangi bir OKS ajanının diğerlerine üstün olduğunu gösteren veri bulunmamaktadır. Klinik hiperandrojenizm bulgularının şiddetli olduğu hastalarda başlangıçtan itibaren ya da ilk altı ay içinde OKS klinik cevabı olmayan hastalarda androjenlerin periferik blokajını sağlayan ajanların androjen baskılayıcı tedaviye ek olarak kullanılması optimal tedavi cevabı alınmasını kolaylaştırır. Bu grupta spironolactone, cyproterone asetat ve flutamide ve 5 α -redüktaz inhibitörü finasteride gibi androjen reseptör blokörleri yer almaktadır.

Gebelik isteği olan infertil hastalarda kanıta dayalı tıp perspektifinde bir tedavi algoritması olmamakla birlikte ideal tedavi şemasında düşük maliyetli invazif olmayan tedavi seçenekleri ile başlanır ve cevap alınamazsa invazif tıbbi ve cerrahi seçeneklerin kullanılır. Ovülasyon indüksiyonunda clomiphene ilk seçenektir. Bu ajanla hastaların %80’inde ovulasyon, %40’ında gebelik sağlanır. Tedaviye yanıtız hastalarda ikinci basamak ekzojen gonadotropinlerdir (hMG, uFSH, recFSH). Üçüncü basamakta in vitro fertilizasyon önerilir.

İnsülin direnci ile PKOS arasındaki kuvvetli ilişki ve hiperinsülineminin hiperandrojenizm ile bozulmuş follikülogenez üzerine etkisi, insülin duyarlılığını artırıcı ajanların PKOS tedavisinde kullanılmasının gerekçesini oluşturmaktadır. Literatürde PKOS’da en fazla verisi olan ajan metformindir. Bir biguanid analogu olan metformin etkisini esas olarak karaciğerde insulin duyarlılığını artırarak ve glukoneogenezi inhibe ederek gösterir. Ayrıca kas ve yağ dokusunda insülin aracılı glukoz alımını artırır. PKOS tedavisinde metformin kullanımı ile androjen düzeylerinde azalma ve spontan ovulasyon hızında artma gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak güncel tedavi kılavuzlarında PKOS’da klinik hiperandrojenizm tedavisinde, gebeliğe bağlı komplikasyonlar ya da obezite tedavisi için metformin kullanılması önerilmez. Metformin yaşam tarzı değişikliklerine uyum gösteremeyen bozulmuş glukoz toleransı ya da diyabeti olan PKOS hastasında ve menstrüel düzensizliği olup OKS kullanamayan ya da tolere edemeyen PKOS hastasında ikincil seçenek olarak kullanılabilir.

PKOS’lu hastalar diyabet gelişimi yönünden artmış risk altında olduklarından tanı aşamasında yapılan değerlendirmelerde glukoz intoleransı olduğu tespit edilen hastalarda metformin tedavisi baslanarak diyabete gidis geciktirilmelidir ve hatta önlenmelidir. Gerek tip 2 diyabet gerekse kardiyovasküler hastalık gibi uzun dönem sağlık riskleri yönünden kilo kontrolünün önemi hastaya vurgulanmalıdır. Diyet ve egzersiz uygulamaları ile sağlanan çok düşük düzeydeki kilo kayıplarının bile metabolik, endokrin ve reproduktif parametreler üzerinde olumlu etkileri gözlenmiştir.

Kilo kaybı, fertilite ve menstrüel döngüde de düzelmeler sağlamakta, serbest testosteron düzeylerini azaltarak ve SHBG düzeylerini arttırarak kıllanmayı azaltmaktadır. Diyetin yararlı etkileri kompozisyon değişikliğinden ziyade kalori kısıtlamasına bağlıdır. Ayrıca düzenli fiziksel aktivite, kilo kaybı sağlanamadığında dahi insülin direncinde düzelmeye neden olabilmektedir.

2.10. Polikistik Over Sendromu ve Oksidatif Stres

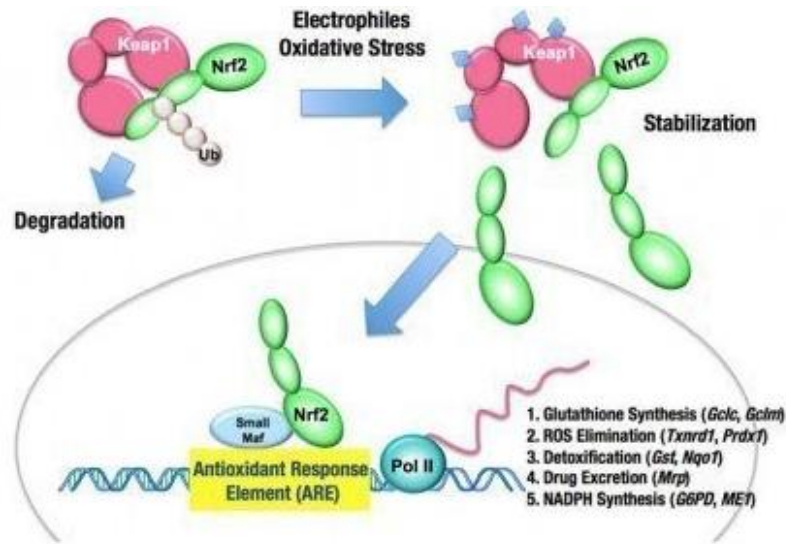
Oksidatif stres biyolojik sistemdeki hücresel döngüler sırasında ortaya çıkan serbest radikaller ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidan maddeler yönünde bozulmasıyla ortaya çıkar. Bu bozukluğun kardiovasküler, metabolik hastalıklar, Polikistik Over Sendromu, endometriozis gibi çeşitli hastalıklara sebep olabileceği düşünülmektedir.

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki anormal redoks hücrelerinin durumu ile sonuçlanan dengesizliği ifade eder. Bu dengesizlik nükleik asitler, proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve diğer moleküller dahil olmak üzere hücrenin farklı bileşenlerine zarar verebilecek peroksitlerin ve serbest dikallerin birleşmesine yol açar [57,58]. Radikallerin iki ana formu reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleridir (RNS). Reaktif oksijen türleri; süperoksit, hidroksil, peroksil, lipid peroksil, hidrojen peroksit, hipokloröz asit, ozon, singlet oksijendir. Reaktif azot türleri ise nitrik oksit, azot dioksit, peroksinitrit ve nitroz asittir [59,60]. Bu radikallerden süperoksit radikali lipid peroksidasyonuna neden olur. Hücre içinde ve hücre duvarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin, artmış reaktif oksijen türleriyle peroksidasyonu sonucu aldehidler ve hidroksil radikalleri ortaya çıkar [61,62]. MDA (malondialdehit) bu aldehitlerin en önemlisidir. 4-hidroksinonenal [63,64,65,66] de peroksidasyon sonucu ortaya çıkan beta doymamış aldehitlerden biridir ve hücre içi sinyal yollarına aracılık eden güçlü bir habercidir [65,67,68].

Antioksidanlar, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini azaltabilen bir molekül sınıfıdır. İki tiptir: enzimatik olanlar ve enzimatik olmayanlar. Enzimatikler;

süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR). Enzimatik olmayanlar; glutatyon (GSH), α -tokoferol (E vitamini), askorbat (C vitamini) ve β -karoten. Bu antioksidanların kadın üreme sisteminde ve kadınlarda infertilite patogeneğinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir [69,70].

Artmış Reaktif oksijen türleri lipid ve protein yapıları hasarlayarak hücre içi sinyal iletimine dolayısıyla antioksidan sistemlere de zarar verir. Oksidatif stres sonucu bozulan sinyal yollarından biri NRF2 yolağıdır. NRF2 antioksidan sistem için çok önemlidir çünkü vücuttaki detoksun ana elemanı olan glutatyon (GSH) üretiminde en önemli hız belirleyici adımlardan olan glutamat ve sistein ligazı üretir. NRF2 oksidatif strese yanıt olarak aktif hale gelen anahtar bir moleküldür, hücre işlevini korumak için antioksidan yanıtı düzenler [71]. Diğer bir deyişle antioksidan savunma genlerinin transkripsiyonunun aktivasyonu ve oksidatif stress oluştuğunda vasküler redoks dengesinin restorasyonu için gereklidir.



Şekil 2: NRF2'nin görev şeması

Oksidatif stresin kanser, Alzheimer hastalığı, otizm, ateroskleroz, diyabet, kalp yetmezliği ve enfeksiyon gibi çeşitli hastalıkların gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir [72-78]. PKOS ile de ilişkilendirilmiştir [79,80,81,82].

Murri ve arkadaşları tarafından yapılan bir meta-analiz çalışmasında oksidatif stresin belirteçleri çalışılmış ve PKOS patofizyolojisinde oksidatif stresin rol oynayabileceği üzerinde durulmuştur [83]. Bununla birlikte, PKOS patogenezinde oksidatif stresin rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Çalışmalar, oksidatif stresin yumurtalıklarda değişen derecelerde steroidogeneze neden olarak androjen seviyelerini arttırdığına, foliküler gelişimin bozulmasına ve infertiliteye katkıda bulunduğunu öne sürmüşlerdir. [84,85]. Ayrıca, obezite, insülin direnci ve kalp-damar risk faktörleri olarak PKOS kadınların oksidatif stres bağlantılı olduğu gösterilmiştir [86,87].

2.11. Polikistik Over Sendromu ve Fetuin A

Fetuin, pre-dominant olarak karaciğerden sentezlenen, yaklaşık 60 KDa ağırlığında bir serum glikoproteinidir. Karaciğer dışı fetuin, koroid pleksusta, böbreklerde ve diğer bütün büyük organlarda fetal gelişim süresince sentezlenir. Fetuin serum elektroforezinin α -2 bandında görülür ve serumdaki konsantrasyonu 0,4 ile 1,0 g/L seviyelerinde değişir. Fetuin-A'nın iskelet kası ve adipositlerde insülin reseptör kinazına bağlanarak insülin reseptörüne endojen inhibitör etki yaptığı rapor edilmiştir. Böylece otofosforilasyon hızını azaltır ve insülin sinyal iletimini yavaşlatır. İnsan fetuin-A geni metabolik sendrom ve diyabete yakalanma lokusu olarak bilinen kromozom 3q27 üzerinde yerleşmiştir. Yapılan genetik çalışmalarda fetuin-A geninde tek nükleotit polimorfizminin sağlıklı insanlarda ve Tip 2 diyabetlilerde insülinin adipositteki etkisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Stefan ve ark. yaptıkları çalışmalarında, diyabeti olmayan kişilerde açlık kan glukoz değerleri ile serum fetuin-A düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu bulmuşlardır. Böylece, serum fetuin-A'nın ölçümü diyabet hastalığı için yüksek riske sahip kişilerde Tip 2 DM'nin gelişme riskinin değerlendirilmesi için önemli olabilir [88].

PKOS’lu hastalarda hiperinsülinizm ve insülin rezistasının etyopatogeneizde temel oluşturduğu göz önünde bulundurulduğunda serum fetuin A düzeylerinin PKOS’taki hiperinsülinizm şiddeti hakkında fikir verebileceği düşünülebilir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Tasarlanması

Çalışmamız prospektif nitelikte olup; Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 15.01.2020 tarih ve 2020/15 nolu kararı ile Ocak 2020-Mayıs 2020 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde gerçekleştirildi. Çalışmamıza 32 hasta, 25 sağlıklı gönüllü kadın dahil edilmiştir.

3.2. Hasta Seçimi

Çalışmamıza Endokrinoloji polikliniğine başvuran 18-40 yaş arası 32 PKOS tanılı hasta ve Endokrinoloji polikliniğine genel sağlık taraması amacıyla başvuran bilinen herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 25 kadın dahil edildi. Gönüllüler rastgele rakamlar tablosu (RTT)'na göre seçilmiştir. Çalışmaya katılan tüm gönüllülerden aydınlatılmış onam belgesi alındı.

3.3. Hastaların Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 1-Rotterdam kriterlerine göre PKOS tanısı almak
- 2- 18-40 yaş arası olmak

3.4. Hastaların Araştırmadan Dışlanma Kriterleri:

- 1- Çalışmaya katılmayı istememek,
- 2- Gebelik ya da laktasyon durumu
- 3- Çalışmayı anlayıp kabul edebilecek Türkçe düzeyine sahip olmamak,
- 4- Akut veya kronik bir hastalığı olması,
- 5- İspatlanmış malignite varlığı,
- 6- Karaciğer fonksiyon testlerinde, tiroid fonksiyon testlerinde ve böbrek fonksiyon testlerinin normal aralık dışında olması

- 7- Konjenital adrenal hiperplazi ve hiperprolaktinemi olması,
- 8- Son 6 ay içerisinde glukokortikoid, anti-androjen, oral kontraseptif, ovulasyon indüksiyonu ajanları, anti-obesite ilaçları ve insülin duyarlaştırıcı ilaç kullanımı olmak,

3.5. Sağlıklıların Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 1-Bilinen kronik hastalığı ve ilaç kullanımı olmaması,
- 2-18-40 yaş arası olmak,
- 3-Adet düzensizliği ve hirsutizm olmaması

3.6. Sağlıklıların Araştırmadan Dışlanma Kriterleri:

- 1- Çalışmaya katılmayı istememek,
- 2- Gebelik ya da laktasyon durumu,
- 3- Çalışmayı anlayıp kabul edebilecek Türkçe düzeyine sahip olmamak,
- 4- Akut veya kronik bir hastalığı olması,
- 5- İspatlanmış malignite varlığı,
- 6- Karaciğer fonksiyon testlerinde, tiroid fonksiyon testlerinde ve böbrek fonksiyon testlerinin normal aralık dışında olması
- 7- Konjenital adrenal hiperplazi ve hiperprolaktinemi olması,
- 8- Son 6 ay içerisinde glukokortikoid, anti-androjen, oral kontraseptif, ovulasyon indüksiyonu ajanları, anti-obesite ilaçları ve insülin duyarlaştırıcı ilaç kullanımı olmak,

Çalışmaya katılan tüm gönüllülerin sistemik muayeneleri yapıldıktan sonra vücut ağırlıkları, boyları ölçüldü. Vücut ağırlık ölçümleri için klasik baskül kullanıldı. Vücut kitle indeksi; kilogram cinsinden vücut ağırlığının metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle hesaplandı.

Çalışmaya katılan gönüllülerden menstruasyonlarının ilk 3 günü içerisinde

8-10 saatlik açlığı takiben sabah 10 ml venöz kan örneği alındı. Alınan kan 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan serum örnekleri epandorflara konarak -80 °C’de saklandı. Serum örneklerinde hormon profili (FSH, LH, testosteron, DHEAS, 17 hidroksiprogesteron, TSH, fT4), lipid profili (total kolesterol, HDL, LDL, TG), açlık kan glukozu, HbA1c, insülin, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri çalışıldı, oksidan parametreler (MDA, peroksinitrit, 4-hidroksinonenal), NRF 2, fetuin A düzeyleri ölçüldü.

3.7. Laboratuvar Yöntemi;

Tüm parametrelerin ölçümü Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı’nda yapıldı. Peroksinitrit tayini Vanuffelen ve ark. tarafından önerilen ve Al-Nimer ve ark. Tarafından modifiye edilen metoda göre yapıldı. Bu metoda göre 10 µL doku homojenatına 1.990 mL 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.4) içinde çözünen 5 mM fenol ilave edildi. Solusyon 37° C’de karanlık bir yerde, 2 saat inkübasyona tabi tutuldu. Daha sonra, 0.1 M NaOH çözeltisinden 15 µL ilave edildi ve 412 nm dalga boyunda numunelerin absorbanşı ölçüldü. Oluşan nitrofenol bileşiğinin molar ekstistiyon katsayısı kullanılarak ($\epsilon = 4400/\text{M}/\text{cm}$) peroksinitrit miktarı hesaplandı. Sonuçlar mikromol/gr yaş goku olarak ifade edildi. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA’nın tayini ise tiobarbütirik asit (TBA) ile verdiği reaksiyon sonucu oluşan rengin 532 nm dalga boyunda maksimum absorbanş vermesi esasına dayanarak yapıldı. MDA-TBA kompleksinin 532 nm deki ekstinsiyon katsayısından ($1,6 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) yararlanarak nanomol/ml cinsinden MDA değerleri bulundu. Diğer parametrelerin tamamının tayininde ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi kullanıldı.

3.8. İstatiksel Yöntem

Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılan değişkenlerin iki grupta test edilmesinde Student t tesı,

normal dağılmayan değişkenlerin iki grupta test edilmesinde Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Sayısal değişkenler arasındaki ilişki Spearman rank korelasyon katsayısı ile test edilmiştir. Kesim noktası belirlenmesi için ROC curve analizi yapılmıştır. Normal dağılan değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma ile, normal dağılmayan değişkenler için medyan %25 ve %75 çeyreklikler ile verilmiştir. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde ile belirtilmiştir.

Analizlerde SPSS 22,0 Windows versiyon paket programı kullanılmıştır. $P < 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma öncesinde gönüllüler polikistik over hasta (n=32) ve sağlıklı kontrol (n=25) olarak iki gruba ayrıldı. İstatiksel analiz sonucunda, PKOS grubu ile kontrol grubu arasında yaş, boy, kilo ve vücut kitle indeksleri (VKI) ortalamaları bakımından anlamlı bir farklılık olmadığı gösterildi. (Tablo 4)

Tablo 4: Demografik verilerin karşılaştırılması

	GRUP		P
	HASTA	KONTROL	
	Ortalama	Ortalama	
YAŞ (yıl)	25,15 ± 3,93	24,00 ± 3,35	0,163
BOY (cm)	161 ± 5,37	163 ± 4,44	0,087
KİLO (kg)	66,58 ± 16,33	66,28 ± 14,54	0,931
VKI (kg/m ²)	25,80 ± 6,41	25,02 ± 5,45	0,555

Hastalar ve kontrol grubu lipid profillerini karşılaştırmak için; LDL, HDL, trigliserid ve total kolesterol düzeylerine bakıldı. Hasta grupta tüm parametreler kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. (Tablo 5)

Tablo 5: *Lipid profil düzeylerinin karşılaştırması*

	GRUP		P
	HASTA	KONTROL	
	Ortalama	Ortalama	
LDL (mg/dl)	105,50 ± 21,12	80,16 ± 13,22	0,054
HDL (mg/dl)	43,94 ± 14,81	36,60 ± 7,05	0,004
TG (mg/dl)	140,53 ± 76,42	84,96 ± 14, 01	0,001
TOTAL KOL (mg/dl)	177,54 ± 38,00	133,75 ± 14,44	0,001

Her iki grupta karbonhidrat metabolizmasını değerlendirmek için açlık glukozu, insülin, HOMA-IR, HbA1c, fetuin A parametreleri bakıldı. PKOS’lu grupta insülin, açlık glukozu, HbA1c düzeyi, HOMA indeksi kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek tespit edildi. Fetuin A düzeyi içinse her iki grupta anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 6)

Tablo 6: *Karbonhidrat metabolizması parametrelerinin karşılaştırması*

	GRUP		P
	HASTA	KONTROL	
	Ortalama	Ortalama	
İNSULİN (mU/L)	9,49 ± 6,2 5	5,15 ± 0,88	0,001
GLUKOZ (mg/dl)	89,84 ± 9,37	80,48 ± 8,69	0,001
HbA1c (%)	5,46 ± 0,36	4,66 ± 0,48	0,001
HOMA-IR	2,13 ± 1,47	1,03 ± 0,22	0,034
FETUİN A (µg/mL)	132,12 ± 20,77	137,40 ± 107,04	0,342

PKOS’da oksidatif stres rolünü araştırabilmek için oksidan maddelerden MDA, 4HNE ve peroksinitrit ile antioksidan sistem göstergesi sayılabilecek NRF2 düzeylerine bakıldı. MDA ve 4HNE düzeyi PKOS’lu grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu. Peroksinitrit düzeyleri tüm hastalarda kontrol grubuna kıyasla daha yüksekti ancak istatistiksel olarak fark saptanmadı. NRF 2 düzeyi PKOS’lu hastalarda anlamlı olarak düşük saptandı. (Tablo 7)

Tablo 7: Oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırması

	GRUP		P
	HASTA	KONTROL	
	Ortalama	Ortalama	
MDA (nmol/mL)	1,04 ± 0,43	0,77 ± 0,46	0,001
4HNE (µmol/L)	19,37 ± 2,86	16,23 ± 2,73	0,001
PEROXYNITRITE (mikromol/L)	61,34 ± 28,15	44,15 ± 21,6	0,546
NRF2 (pg/mL)	120,28 ± 16,98	132,14 ± 44,35	0,018

5.TARTIŞMA

PKOS, üreme çeğındaki kadınların %6-20 sini etkileyen sık görülen endokrinolojik bir bozukluktur. Hiperandrojenizm, menstrual bozukluk, anovulasyon, infertilite ile karakterizedir. Tip 2 diabetes mellitus, dislipidemi, erken ateroskleroz gibi birçok riski oluşturduğu için kadın sağlığında önemli rol oynar. Hiperinsülinemi PKOS'lu hastalarda sık görülen bir bulgudur ve artmış kardiyovasküler hastalık riski ile sebep sonuç ilişkisi vardır. [89,90].

Bu çalışmada 18-40 yaş arası PKOS tanılı 32 hasta ile herhangi bir sağlık sorunu olmayan üreme çağında yine aynı yaş aralığında 25 sağlıklı gönüllü dahil edilmiş ve iki grupta BMI, lipid profilleri, açlık glukozu, insülin, HbA1c, testosteron, DHEAS düzeyleri ile oksidatif stres göstergeleri kabul edilebilecek MDA, peroksinitrit, 4 hidroksinonenal, NRF2 ve insülin rezistansı ile ilişkili olabilecek fetuin A parametresine bakılmıştır.

Dislipidemi, lipid ve lipoprotein metabolizmasındaki anormallikler ile PKOS'un olası bir komplikasyonu olarak görülebilir. PKOS'un uzun dönem komplikasyonlarından kardiyovasküler hastalıklar düşünüldüğünde aterosklerozun gelişiminde dislipidemi önemli bir belirleyicidir [91]. Yapılan çalışmalar yüksek lipoprotein lipidlerinin kadınlar için kardiyovasküler olayların gelişimi açısından bir öngörü sağladığını [92] ve bunların azaltılmasının primer kardiyovasküler korunmada önemli bir rol oynadığını göstermektedir [93].

Dislipidemi, PKOS hastalarında çok yaygındır [94]. Farklı prezentasyonlar gösterebilir. Birçok çalışmada en yaygın patern hipertrigliseridemi, artmış küçük yoğun LDL kolesterol seviyeleri ve azalmış HDL kolesterol seviyeleri olarak saptanmıştır [95]. Kapsamlı olarak 2011 yılında yapılan bir meta-analizde VKI uyumlu hastaları içeren alt küme analizleri yapıldığında, PKOS'lu kadınlarda LDL kolesterolün anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [96].

Benzer VKI'li hasta ve kontrol gruplarıyla yapılan çalışmalarda da LDL kolesterol düzeyinin PKOS'lularda daha yüksek seviyede saptanması LDL kolesterol düzeylerinin vücut ağırlığına daha az bağımlı olduğuna ve kısmen hiperandrojenizmle ilişkili olabileceğine dair çıkarımlara sebep olmuştur [97].

Bizim çalışmamızda da literatürle benzer olarak PKOS'lu grupta kontrol grubuna kıyasla LDL kolesterol düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu. Ancak androjen düzeyleri ile korelasyon saptanmadı.

Literatürde PKOS'lu hastalarda hipertrigliseridemi olduğuna ilişkin birçok çalışma vardır [98, 99]. Ancak her ne kadar yüksek trigliseritler PKOS'ta yaygın bir lipid anormalliğini temsil etse de yapılan bir meta analizde sadece üç çalışmada trigliserit konsantrasyonunun 150 mg / dl'yi aştığı ve bunların da aşırı kilolu veya obez olan kadınlarda olduğu tespit edilmiştir [96]. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara paralel olarak hasta grupta trigliserid düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptandı. Çalışmamızdaki 8 hastada TG düzeyi 150 mg/dl'nin üzerinde idi. Bu 8 hastanın TG düzeyleri ile VKI düzeyleri korelasyon göstermekteydi. PKOS'daki sık görülen lipid anormalliklerinden biri düşük HDL düzeyleri olmasına rağmen bizim çalışmamızda literatürün aksine hasta grupta HDL düzeyleri daha yüksek olarak tespit edildi. Hasta ve sağlıklı gönüllü sayılarının görece az oluşu bu sonucu doğrulmuş olabilir, geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki anormal redoks reaksiyonları ile sonuçlanan dengesizliği ifade eder. Bu dengesizlik sonucu, nükleik asitler, proteinler, lipitler, karbonhidratlar gibi hücrel fonksiyonlarda rol oynayan birçok molekül zarar görür. Oksidatif stres ve artmış lipit peroksidasyonu, birçok insan hastalığının patogenezinde ve ilerlemesinde önemli faktörlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, endometriozis, solid organ kanserleri gibi kronik inflamasyon zemininde ortaya çıkan hastalıklarda oksidatif stresin rolünü ortaya koymuş ve oksidan ve antioksidan biyobelirteçlerin değerlendirilmesini, bu

hastalıkların akut ve kronik etkilerini tahmin etmede yararlı araçlar olarak önermiştir [100,101].

Literatürde PKOS ve oksidatif stres ilişkisini inceleyen çalışmalar vardır. Özellikle hastalığın patogenezinde oksidatif stres rolünün araştırılması için, genellikle MDA ve NO dahil oksidatif stres biyobelirteçlerini ve ayrıca TAC, SOD, GPx ve glutatyon (GSH) gibi anti-oksidatif biyobelirteçleri incelenmiştir. Literatürde, 31 obez olmayan PKOS'lu hasta ve benzer VKI ve yaşa sahip kontrol grubuyla yapılan çalışmada serum MDA düzeylerine bakılmış ve PKOS'lu hastalarda MDA'nın kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunduğu gösterilmiştir [102]. Yine küçük kapsamlı olarak Sabuncu ve arkadaşları benzer yaş ve VKI'ye sahip 27 PKOS'lu kadın ve kontrol grubuyla yaptıkları bir çalışmada gönüllülerin oksidan (MDA, SOD) ve antioksidan (GSH) düzeylerine bakmış ve MDA düzeyi ve SOD aktivitesini PKOS'lularda anlamlı olarak yüksek, GSH düzeyinin düşük olduğunu saptamışlardır [103]. Başka bir çalışmada, Zhang ve arkadaşları PKOS hastalarında serum MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, SOD aktivitesinin ise diğer çalışmalara benzer olarak düşük olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmanın devamı olarak hastalara 3 ay boyunca farklı kombinasyonlarda oral kontreseptif tedavisi verilmiş ve tedavi sonrası oksidan parametrelerde düşüş, antioksidan sistemlerde ise artış tespit edilmiştir [104]. Palacio ve arkadaşları, BMI ve yaş uyumlu kontrolleri ile PKOS hastalarının eritrosit MDA düzeylerini karşılaştırarak PKOS'lularda MDA düzeylerinin yüksek olduğunu bir kere daha saptamışlardır. Murri ve arkadaşları tarafından 2013'te 4933 PKOS hastası ve 3671 kontrol grubu ile yapılan bir meta-analiz çalışmasında PKOS'lu kadınlarda kontrol grubuna kıyasla MDA düzeylerinin %47 daha fazla olduğu, antioksidan sistem temsilcisi glutatyon düzeyinin %50 daha az olduğu saptanmıştır [105, 106]. Bizim de çalışmamızda ölçtüğümüz MDA düzeyleri literatürdekilere benzer olarak PKOSlu grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Daha önce PKOS’lu hastalarda çalışılmamış olan lipid peroksidasyonunun ikincil ürünleri ile de oksidatif stresin şiddeti hakkında fikir sahibi olunabilir. Bu ikincil ürünler reaktif ancak nispeten kararlı bileşiklerdir ve sentez bölgesinden belirgin mesafeler kat edebilirler. Dokularda ve kanda iyi ölçülebilir konsantrasyonlara ulaşabilir, bu nedenle oksidatif stresin bir biyobelirleyicisi olarak kabul edilebilirler. Bu ürünlerden 4 hidroksinonenal fizyolojik konsantrasyonu submikromolar aralıkta olan ($<0,1 \mu\text{M}$), oksidatif stres altında mikromolar seviyelere kadar düzeyi yükselebilen önemli bir bileşiktir [107]. 4-HNE, hem gen ekspresyonunu uyarıcı sinyal molekülü olarak fizyolojik ve koruyucu fonksiyonu olan, aynı zamanda gen ekspresyonunu inhibe eden ve farklı patolojik durumların gelişimini ve ilerlemesini teşvik eden sitotoksik rolü ile ilgili olarak çok yoğun incelenen bir bileşiktir. Birçok çalışmada 4 HNE’nin oluşum mekanizmalarına ve hem sinyalizasyon hem sitotoksik etkilerine ilişkin tespitler yapılmış, fizyolojik ve patolojik koşullar altında lipid peroksidasyonundan türetilen aldehitlerden etkilenen membran proteinlerine odaklanılmıştır [108,109].

HNE'nin ana hedefi, Keap1 (Kelch ECH birleştirici protein 1) –NRF2 (nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2) –ARE (antioksidan yanıt elemanı) yoludur. Bu yol peroksidan etkileri algılar ve oksidan veya elektrofil stresine karşı hücrel tepkiyi düzenler. Yüksek HNE seviyeleri redoks dengesizliğini içeren maküler dejenerasyon, kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz, metabolik sendrom ve kanserler gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu hastalıklarda, HNE sadece oksidatif stresin basit bir belirteci değil, aynı zamanda nedensel bir bileşiktir.

Nöronal hücre gövdelerinde artmış oksidatif hasarın en erken değişikliklerden biri olduğu Alzheimer hastalığında, nörofilamentlere HNE eklentileri bulunmuştur. Perluigi ve çalışma arkadaşları, lipid peroksidasyonunun, özellikle 4-HNE kaynaklı protein modifikasyonunun nörodejeneratif hastalıklardaki rolünü özetleyerek aynı zamanda değişen enerji metabolizması, azalmış antioksidan savunma

ve mitokondriyal disfonksiyonun nörodejeneratif hastalıkların karakteristik özellikleri olduğunun üzerinde durmuşlardır [110].

HNE'nin hem insanlarda hem de hayvanlarda aterosklerotik lezyonlarda HNE birikimi tanımlandığı için kardiyovasküler hastalıklarda rol oynadığı gösterilmiştir. Vasküler hücrelerin bariyer bütünlüğünü etkileyerek endotelial hücrelerin apoptozuna yol açabilir ve makrofajlar ve düz kas hücrelerinde kronik inflamasyona yol açabilir [111,112]. Jaganjac ve arkadaşları, 4HNE'nin rolünü hem sinyal molekülleri hem de diyabetes mellitus (DM) patogeneğinde sitotoksik lipid peroksidasyon tutulumu ürünleri olarak hareket eden serbest radikallerin ikinci habercisi olarak tanımlamıştır [113].

Birçok hastalığın etyopatogeneğinde rol aldığı tespit edilmiş ve birçok çalışmada 4HNE “serbest radikallerin ikinci toksik habercileri” ve aynı zamanda “fizyolojik olarak en aktif lipid peroksitlerden biri”, “oksidatif stresin ana jeneratörlerinden biri” olarak tanımlanmış olmasına rağmen PKOS'lu hastalarda 4HNE düzeylerine hiç bakılmamıştır [114]. Bizim çalışmamızda PKOS'lu hastalar ve kontrol grubunda 4HNE düzeylerine bakıldı ve PKOS'lu hastalarda 4HNE düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı. Bizim çalışmamız ve bahsedilen tüm bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda 4HNE günümüzde strese duyarlı çeşitli transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesinde rol oynayan lipid peroksidasyonun büyük biyoaktif markörü ve bir sinyalleme molekülü olarak kabul edilebilir.

Protein oksidasyonu ve nitrasyonu, lipid peroksidasyonu, mitokondriyal disfonksiyon ve hücre ölümünün aracısı olan peroksinitrit de diğer oksidatif stres ürünleri gibi oksidatif stresle ilişkili olduğu düşünülen kanser, nörodejenerasyon, inme, enflamatuar durumlar, kardiyovasküler problemler ve diyabetes mellitus gibi bazı önemli hastalıklarda araştırmaya konu olmuştur [115]. Çalışmalarda, peroksinitrit seviyesini ortadan kaldırmak veya azaltmak veya aşağı akış mekanizmalarına müdahale etmek için sürekli olarak yeni terapötik yaklaşımlar araştırılmıştır. Özellikle diyabet ve komplikasyonlarına peroksinitrit ve türevlerinin katkısı çokça

incelenmiştir. Diyabetik nöropatide, peroksinitrit türevlerinin olası rolünün tartışıldığı ilk çalışmalardan birinde nöropatili ratların nöronal fonksiyonu iyileştirmek ve diyabetik ratlarda periferik nöropatiyi önlemek için güçlü peroksinitrit ayrışma katalizörleri kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır [116,117,118,119]. Başka bir çalışmada, makroanjiyopatili diyabetik hastaların periferik kan monositlerinde önemli miktarlarda nitrosile protein biriktiği saptanmış ve peroksinitrit yeni bir biyobelirteç olarak önerilmiştir. Aynı çalışmada bu peroksinitrit düzeylerinin HbA1c ile korelasyon gösterdiği üzerinde durulmuştur [120]. Yapılan çalışmalar peroksinitrit ve türevlerinin düzeylerinin insülin rezistansı durumunda da yükselebileceği fikrini akıllara getirmiş ve bu alanda yeni yeni çalışmalar başlatılmıştır. PKOS etyopatogenezinde hipersülinizm ve insülin rezistansının da rol oynadığı düşünülerek çalışmamızda peroksinitrit düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Hasta grupta peroksinitrit düzeyleri yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel olarak her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Peroksinitritin oksidatif stresin uzun dönem komplikasyonları sonucu arttığı varsayılarak çalışmamızdaki hastaların hiçbirinde komplikasyon gelişmediğinden fark saptanmadığı düşünülebilir. Geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Oksidatif veya elektrofilik strese karşı hücrel antioksidan kapasiteyi arttırarak hücrel savunmada görevli olan antioksidan yanıtı düzenleyen bir çok hücre içi sinyal yolağı vardır. Bu yolaklardan belki de en önemlisi ve çokça araştırmalara konu olanı NRF2 yolağıdır. Protein ürünleri, reaktif oksidanların ve elektrofilik ajanların detoksikasyonu ve eliminasyonunda rol oynayan genlerin ekspresyonunu konjugatif reaksiyonlarla kontrol eder. Antioksidan ve detoksifikasyon genlerine ek olarak, NRF2'nin hücre sinyali, transkripsiyon, anabolik metabolizma, otofaji, hücre çoğalması, hücre dışı matriks yeniden şekillenmesi ve organ gelişimine katılan genleri düzenlediği bulunmuştur. Bu da NRF2'nin hasar direncinin yanı sıra yara onarımı ve doku yeniden modellenmesini yönettiğini göstermektedir. Nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol alabileceği üzerinde durulan çeşitli çalışmalar vardır.

Bazı laboratuvar çalışmalarında NRF2 yolağını aktive eden astrositlerin, nöronları oksidatif strese karşı koruduğu saptanmıştır [121]. Yine ratlarla yapılan bir çalışmada NRF2 olmayan farelerde tüm ana beyin bölgelerini tutan vasküler dejenerasyon ile karakterize edilen vakuolar lökoensefalopati görülür. Beyaz cevherde vasküler dejenerasyona yaygın reaktif gliosis eşlik eder [122]. Bu veriler ışığında NRF2 nin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde terapötik bir hedef olabileceği düşüncesiyle çeşitli araştırmalar yapılmış ve klinik öncesi testlerde NRF2 yolağını aktifleyen bazı moleküllerin klinik iyileşme üzerinde olumlu etkilerinin olduğu saptanmıştır [123,124,125].

NRF2'nin ateroskleroz, iskemi, reperfüzyon, kalp hipertrofisi, kalp yetmezliği ve diyabet gibi hastalıklardaki rolü üzerine yapılan çalışmalar deneysel niteliktedir. Yaşlanma, diyabet, hipertansiyon ve kronik inflamasyon gibi kardiyovasküler hastalık riskinin arttığı senaryolarda düşük regüle NRF2 sinyal yolunun rapor edildiği çalışmalar da vardır. Ayrıca NRF2 yi indükleyen bileşiklerin yüksek yağlı diyetle indüklenen oksidatif stres, apoptoz, inflamasyon ve endotel hücre disfonksiyonuna karşı koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir [126,127]. NRF2 ve NRF2 düzenleyici yolların bileşenlerinin, oksidatif stres ilişkili hastalıklar için yeni terapötik hedefleri temsil edebileceği düşüncesi ile bizim de çalışmamızda PKOS'lu hasta ve kontrol grubunda NRF2 düzeylerine bakıldı ve PKOSlu hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşük NRF2 düzeyleri tespit edildi.

İnsülin direnci ve hiperinsülinizm PKOS etyopatogenezi için çok önemlidir. Klinik takipte insülin direnci ölçümü önerilmese de sendromun patofizyolojisini, uzun dönem sağlık risklerini, genetik özelliklerini belirlemede ve PKOS'lu hastaların tedavilere yanıtlarını değerlendiren çalışmalarda araştırma amaçlı olarak kullanılmaktadır.

Bazı çalışmalarda insülin direncinin yüksek VKI'li bireylerde PKOS için başlatıcı faktör olduğu üzerinde durulmuştur. PKOS hastalarının üçte iki ila üçte

birinde anormal derecede insülin direnci olduğunu bildiren çalışmalar vardır [128,129].

İnsülin direncini klinik olarak değerlendirmede yaygın olarak kabul görmüş bir kılavuz, bir kriter ya da sayısal bir değer bulunmamaktadır. Bazı indeksler ve parametreler kullanılsa da halen bu parametrelerin klinik seyir üzerindeki pozitif prediktif değeri konusunda tartışmalar vardır. İnsülin direnci ölçüm metotları arasında hiperinsülinemik glukoz klempi, sık örneklemeli intravenöz glukoz tolerans testi, insülin infüzyon duyarlılık testleri ve oral glukoz tolerans testi (OGTT) bazı insülin duyarlılık testleri sayılabilir. En çok kullanılan açlık tabanlı insülin duyarlılık indeksleri ise homeostatik model-insülin direnci (HOMA-IR), açlık glukozunun insüline oranı, kantitatif insülin duyarlılık kontrol indeksi (QUICKI) ve açlık insülin konsantrasyonudur. Polikistik over sendromu çalışmalarında hangi insülin direnci ölçüm metotunun kullanılması gerektiğine dair ortak bir görüş yoktur. HOMA-IR bu konuda en sık kullanılan indekslerden olsa da bazı çalışmalarda kontrol grubu ile PKOS'lular arasında anlamlı fark saptanmıştır [130].

Fetuin-A (α 2-hermans-schmid glikoprotein), yaklaşık 60 KDa ağırlığında, temel olarak karaciğerde sentezlenen bir serum glikoproteinidir. İlk olarak akut inflamasyon durumlarında bir negatif akut faz reaktanı olarak dikkati çekmişse de son yıllarda insülin rezistans göstergesi olabilme ihtimali açısından çalışmalara konu olmuştur. Fetuin-A'nın iskelet kası ve adipositlerde insülin reseptör kinazına bağlanarak insülin reseptörüne endojen inhibitör etki yaptığı rapor edilmiştir. Böylece otofosforilasyon hızını azaltır ve insülin sinyal iletimini yavaşlatır. Hayvan deneylerinde Fetuin-A knock-out farelerin kontrollere göre insüline daha duyarlı oldukları gösterilmiştir [131,132]. İnsan fetuin-A geni metabolik sendrom ve diyabete yakalanma lokusu olarak bilinen kromozom 3q27 üzerinde yerleşmiştir. Yapılan genetik çalışmalarda fetuin-A geninde tek nükleotit polimorfizminin sağlıklı insanlarda ve Tip 2 diyabetlilerde insülinin adipositteki etkisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [133]. Stefan ve ark. yaptıkları çalışmalarında, diyabeti olmayan

kişilerde açlık kan glukoz değerleri ile serum fetuin-A düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu bulmuşlardır. Açlık hiperglisemisinin insülin rezistansı ve Tip 2 DM'ye gidişte önemli bir parametre olduğu düşünüldüğünde, serum fetuin-A'nın ölçümü diyabet hastalığı için yüksek riske sahip kişilerde Tip 2 DM'nin gelişme riskinin değerlendirilmesi için önemli olabilir [134]. Song ve ark. Tip 2 diyabetli yetişkinler üzerinde yaptıkları çalışmalarında serum insülin ve insülin direncinin homeostasis model değerlendirilmesi (HOMA-IR) ile serum fetuin-A düzeyleri arasında pozitif ilişki olduğunu bulmuşlardır. Fakat aynı çalışmada bozulmuş glukoz regülasyonu ve serum fetuin-A düzeyleri arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır. Dahası normal glukoz homeostazine sahip kişiler ve bozulmuş glukoz regülasyonu olan kişilerin serum fetuin-A düzeyleri arasında da herhangi bir fark bulamamışlardır. Bu sonuçlara bakarak normal glukoz homeostazisinden bozulmuş glukoz regülasyonu gelişme sürecinde serum fetuin-A'nın etkili olmadığını ileri sürmüşlerdir [135].

Literatur Fetuin-A'nın PKOS'lu hastalardaki etkisi ile ilgili çok sınırlı bilgiler içerir. Son zamanlarda bazı çalışmacılar PKOS'lu hastalarda insülin direncinin iyi bir göstergesi olabileceğini göstermişlerdir [136,137,138]. Fakat hala insülin direnci ile Fetuin-A ilişkisi tartışmalıdır. Çalışmalarda saptanan ilişkinin genetik faktörlerden, adipoz dokulardan salınan bazı sitokinlerden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Hatta bazı çalışmalarda aralarında hiçbir ilişki olmadığı belirtilmiştir [139]. Bizim çalışmamızda da her iki grup arasında fetuin A düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

PKOS ile oksidatif stres ve insülin rezistansı ilişkisini değerlendirmek, bu sendromun uzun vadeli metabolik komplikasyonlarının izlenmesi konusunda yeni parametrelerin ortaya konması ve buna göre tedavi stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlayabilmek amacıyla yaptığımız çalışmamızda hipotezimizi destekleyen veriler kaydedildi.

PKOS dislipidemi için bir risk faktörüdür. Gruplar karşılaştırıldığında total koleterol, LDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak yüksek tespit edildi. Vücut kitle indekslerinde gruplar arası fark olmamasına rağmen hiperlipideminin hasta grubunda görülmesi, PKOS'un metabolik komplikasyonlar ve kardiyovasküler hastalıklar açısından bir risk faktörü olabileceğini düşündürür.

Lipid alt profilleri incelendiğinde beklenenin aksine PKOS'lu grupta HDL düzeyleri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek saptandı. Hasta ve sağlıklı gönüllü sayılarının görece az oluşu bu sonucu doğurmuş olabilir, geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Karbonhidrat metabolizmasını değerlendirmek ve insülin direnci PKOS ilişkisini inceleyebilmek için açlık glukozu, insülin, HbA1c ve fetuin A düzeyine bakıldı. Fetuin A dışı tüm parametreler hasta grupta kontrol gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek saptandı. Fetüin A düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. Bu veriler hiperinsülinizmin ve insülin direncinin PKOS etyopatogenezinde ve komplikasyonlarında önemli bir rolü olduğunu düşündürür. Literatürde Fetuin A insülin rezistansı ilişkisine yönelik çelişkili yayınlar olduğundan bu ilişkiye yönelik ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

PKOS'lu hastalarda oksidatif stres belirteçleri yüksektir. Çalışmamızda bakılan oksidan parametrelerden MDA düzeyi literatürdeki verilere benzer şekilde

hasta grubunda anlamlı olarak yüksek saptandı. Daha önce PKOS'lu hastalarda bakılmayan ancak oksidatif stres ilişkili hastalıklarda yüksek saptanmış olan 4HNE PKOS'lu grupta kontrole kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu. Fizyolojik olarak en aktif lipid peroksitlerden biri olan 4HNE oksidatif stresin şiddetini göstermede ve dolaylı olarak tedaviye cevabı değerlendirmede iyi bir biyobelirtec olabilir, geniş ölçekli çalışmalar yapılmalıdır.

PKOS'lu hastalarda, antioksidan metabolitler düşüktür. Literatürde PKOS'lularda antioksidan sistem değerlendirmesi amacıyla çeşitli belirteçler çalışılmış ve düşük olarak saptanmıştır. Çalışmamızda literatüre paralel olarak antioksidan sistem düzenleyicisi olan NRF2 düzeyi hasta grupta anlamlı olarak düşük olarak tespit edildi. NRF2, ilaç metabolizmasını, antioksidan savunmayı ve oksidan sinyallemeği düzenlemek için bir dizi enzimin ve sinyal proteinlerinin uyarılmış ekspresyonuna aracılık ettiğinden komplikasyonların gelişmesiyle ilişkili olabilir. Ancak bu konuda insan çalışmaları çok sınırlıdır ve geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Fauser B, Chang J, Azziz R, Legro R, Dewailly D, Franks S, Tarlatzis BC, Fauser B, Balen A, Bouchard P, et al. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2004(19):41–7.
2. Yeon Lee, Joo; Baw, Chin-Kun; Gupta, Sajal; Aziz, Nabil; Agarwal, Ashok *Current Women's Health Reviews*, Volume 6, Number 2, 2010, pp. 96-107(12)
3. Voelkl J, Pakladok T, Lin Y, Viereck R, Lebedeva A, Kukuk D, vd. Androjen reseptör aktivasyonu yoluyla hepto alfa-2-HS-glikoprotein transkripsiyonunun testosteron ile yukarı regülasyonu *Hücre Physiol Biochem* 2014; 33: 1911–1920
4. Abali R, Çelik C, Tasdemir N, Güzel S, Alpsoy S, Yüksel A, et al. Polikistik over sendromlu kadınlarda serum protein a2-Heremans-Schmid glikoprotein / fetuin-A konsantrasyonu ve karotis intima-media kalınlığı. *Eur J Obstet Gineko Reprod Biol* 2013; 169: 45-49
5. Desai V, Prasad NR, Manohar SM, Sachan A, Narasimha SR, Bitla AR. Oxidative stress in non-obese women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Diagn Res.* 2014;8:CC01–03.
6. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990;186:407-421.
7. Giera M, Lingeman H, Niessen WM. Recent Advancements in the LC- and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview. *Chromatographia.* 2012;75(9-10):433-440.
8. Zarkovic N. 4-hydroxynonenal as a bioactive marker of pathophysiological processes. *Mol Aspects Med.* 2003;24(4-5):281-291.

9. Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2007;47:89–116
10. Lee JY, Baw CK, Gupta S, Aziz N, Agarwal A. The role of oxidative stress in polycystic ovary syndrome. *Curr Women Health Rev.* 2010; 6: 96-107
11. Stein IF, Levental ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935;29:181-191.
12. Burghen GA et al. *J Clin Endocrinol Metab*, 1980 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Volume 50, Issue 1, 1 January 1980, Pages 113–116
13. Dunalf, A et al. *J Clin Endocrinol Metab*, 1987
14. Layegh P, Mousavi Z, Farrokh Tehrani D, Parizadeh SM, Khajedaluee M. Insulin resistance and endocrine-metabolic abnormalities in polycystic ovarian syndrome: Comparison between obese and non-obese PCOS patients. *Int J Reprod Biomed (Yazd)*. 2016;14(4):263-270.
15. Nasrat H, Patra SK, Goswami B, Jain A, Raghunandan C. Study of Association of Leptin and Insulin Resistance Markers in Patients of PCOS. *Indian J Clin Biochem.* 2016;31(1):104-107.
16. Williams T, Mortada R, Porter S. Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome. *Am Fam Physician.* 2016;94(2):106-113.
17. Tokmak A, Kokanali D, Timur H, Kuntay Kokanali M, Yilmaz N. Association between anti-Mullerian hormone and insulin resistance in non-obese adolescent females with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 2016;32(11):926-930.
18. Graff SK, Mario FM, Ziegelmann P, Spritzer PM. Effects of orlistat vs. metformin on weight loss-related clinical variables in women with PCOS: systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Pract.* 2016;70(6):450-461.

19. Gharani N, Waterworth DM, Williamson R, et al. 5' polymorphism of the CYP17 gene is not associated with serum testosterone levels in women polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4174,1996.
 20. Witchel SF, Lee PA, Suda-Hartman M, et al. 17 alpha-hydroxylase/17,20-lyase dysregulation is not caused by mutations in coding regions of CYP17. *Pediatr Adolesc Gynecol* 11:133-137,1998. 74
 21. Escobar-Moreale HF, San milian JL, Smith RR, et al. The presence of the 21-hydroxylase deficiency carrier carrier status in hirsute women: phenotype-genotype correlations. *fertil Steril* 72:629-638,1999.
 22. Witchel SF, Aston CE. The role of heterozygosity for CYP21 in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 13:1315-1317,2000.
 23. San Milian JL, Sancho J, Calvo RM, et al. Role of the pentanucleotide (tttta)(n) polymorphism in the promoter of the CYP17 gene in the pathogenesis of hirsutism. *Fertil Steril* 75:797-802,2001.
-
24. Tucci S, Futterweit W, Concepcion ES, et al. Evidence of association of polycystic ovary syndrome in caucasian women with a marker at the insulin gene locus. *J Clin Endocrinol Metab* 86:446-449,2001.
 25. Legro RS, Strauss JF. Molecular progress in infertility: polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2002 Sep;78(3):569-76
 26. Crosignani PG, Nicolosi AE. Polycystic ovarian disease: heritability and heterogeneity. *Hum Reprod Update*. 2001;7(1):3-7.
 27. Salehi M, Vera Bravo R, Sheikh A, et al. Pathogenesis of polycystic ovary syndrome: What is the role of obesity *Metabolism* 2004;53:358-71.
 28. O'Meara NM, Blackman ID, Ebrman DA, et al. Defects in β -cell function in functional ovarian hyperandrogenism, *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1241.

29. Dunaif A, Xia J, Book C.B, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle: a potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome, *J Clin Invest.* 1995;96:801.
30. Barbieri RL, Makris A, Ryan KJ. Effects of insulin on steroidogenesis in cultured porcine ovarian theca. *Fertil Steril* 1983;40:237-41.
31. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RE. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion. *Endocr Rev* 1995;16:322-53
32. Adashi EY, Hsueh AJ, Yen SS. Insulin enhancement of luteinizing hormone and FSH release by cultured pituitary cells. *Endocrinology* 1981;108:1441-9.
33. Nestler JE, Jacobowicz DJ, Reamer P, Gun RD, Allan G. Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1999;340:1314-20.
34. Poretsky L, Glover B, Laumas V, Kalin M, Dunaif A. The effects of experimental hyperinsulinemia on steroid secretion, ovarian insulin binding, and ovarian insulinlike growth factor-1 binding in the rat. *Endocrinology* 1988;122:581-5.
35. Pao CI, Farmer PK, Begovic S, et al. Regulation of insulin-like growth factor-1 and IGFBP-1 gene transcription by hormones and provision of amino acids in rat hepatocytes. *Mol Endocrinol* 1993;7:1561-8.
36. Cara JF, Rosenfield RL. IGF-1 and insulin potentiate luteinizing hormone-induced androgen synthesis by rat ovarian thecal-interstitial cells. *Endocrinology* 1988;123:733-9.
37. Yen SS. The polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1980; 12:177-207.
38. 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; 92:12280-4.

39. Veldhuis JD, Pincus SM, Garcia-Rudaz MC, et al. Disruption of the joint synchrony of luteinizing hormone, testosterone, and androstenedione secretion in adolescents with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(1):72-9.
40. Barontini M, García-Rudaz MC, Veldhuis JD. Mechanisms of hypothalamic-pituitary-gonadal disruption in polycystic ovarian syndrome. *Arch Med Res* 2001;32(6):544-52.
41. Tsilchorozidou T, Overton C, Conway SG. The Pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2004;60:1-28.
42. Sabuncu T, Vural H, Harma M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clin Biochem* 2001; 34: 407-13
43. Murri M, Luque-Ramírez M, Insenser M, Ojeda-Ojeda M, Escobar-Morreale HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013;19(3):268-288.
44. Farquhar, C.M., et al., The prevalence of polycystic ovaries on ultrasound scanning in a population of randomly selected women. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1994. 34(1): p. 67-72.
45. Balen, A.H., et al., Andrology: Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. *Human Reproduction*, 1995. 10(8): p. 2107-2111.
46. Azziz, R., et al., Criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an androgen excess society guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2006. 91(11): p. 4237-4245.
47. Potischman N, Hoover RN, Brinton RN, Brinton LA, et al. Case-control study of endogenous steroid hormones and endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst* 88:1127-1135, 1996
48. Niwa K, Imai A, Hashimoto M, et al. A case control study of uterine endometrial cancer of pre- and post-menopausal women. *Oncol Rep* 7:89-93, 2000.

49. Hardiman, P., O. Pillay, and W. Atiomo, Erratum: Polycystic ovary syndrome and endometrial carcinoma (Lancet (May 24, 2003) 361 (1810-1812)). Lancet, 2003. 362(9389): p. 1082-.
50. Pierpoint, T., et al., Mortality of women with polycystic ovary syndrome at long-term follow-up. Journal of clinical epidemiology, 1998. 51(7): p. 581-586.
51. Legro RS, Kunselman AR, Dudson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective , controled study in 254 affected women. J Clin Endocrinol Metab 1999, 84:165-9. 64.
52. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. Diabetes Care 1999, 22:141-6.
53. Imbar, T., et al., Altered endothelin expression in granulosa-lutein cells of women with polycystic ovary syndrome. Life sciences, 2012. 91(13-14): p. 703-709.
54. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. Circulation. 1990;82(2):495-506.
55. Wild RA, Painter PC, Coulson PB, et al. Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk women polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 61:946-951, 1985
56. Lehto, S., et al., Cardiovascular risk factors clustering with endogenous hyperinsulinaemia predict death from coronary heart disease in patients with type II diabetes. Diabetologia, 2000. 43(2): p. 148-155.
57. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol. 2005;3:28. Published 2005 Jul 14.
58. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Vet Med Int. 2010;2010:686137. Published 2010 Sep 7.

59. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact.* 2014;224:164-175.
60. Novo E, Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2008;1(1):5. Published 2008 Oct 13.
61. Karabulut AB, Cakmak M, Kiran RT, Sahin I. Oxidative stress status, metabolic profile and cardiovascular risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Med Sci (Turkey)* 2012;1:27–34.
62. Sabuncu T, Vural H, Harma M, Harma M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clin Biochem.* 2001;34:407–413.
63. Niki E. Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med.* 2009;47:469–484.
64. Semchyshyn HM. Reactive carbonyl species in vivo: generation and dual biological effects. *Scientific World Journal.* 2014;2014:417842.
65. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* 1991;11:81–128.
66. Spickett CM. The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal: Advances in chemistry and analysis. *Redox Biol.* 2013;1:145–152.
67. Niki E. Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med.* 2009;47:469–484.
68. Semchyshyn HM. Reactive carbonyl species in vivo: generation and dual biological effects. *Scientific World Journal.* 2014;2014:417842.
69. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Kadın üremesinde oksidatif stresin rolü. *Reprod Biol Endokrinol.* 2005; 3 : 28.
70. Poston L, Igosheva N, Mistry HD, vd. Gebelik bozukluklarında oksidatif stresin ve antioksidan desteğinin rolü. *J Clin Nutr.* 2011; 94 (Özel Sayı6): 1980S-1985S.

71. Toh K, C. T. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun.*, 236:313–322.
72. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.* 2002;18(10):872-879.
73. Essa MM, Braidy N, Waly MI, et al. Impaired antioxidant status and reduced energy metabolism in autistic children. *Res Autism Spectrum Disorders.* 2013; 7 (5): 557-565.
74. Tapia-Vieyra JV, Delgado-Coello B, Mas-Oliva J. Atherosclerosis and Cancer; A Resemblance with Far-reaching Implications. *Arch Med Res.* 2017;48(1):12-26.
75. Tramutola A, Lanzillotta C, Perluigi M, Butterfield DA. Oxidative stress, protein modification and Alzheimer disease. *Brain Res Bull.* 2017;133:88-96.
76. Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J.* 2016;24(5):547-553.
77. Costa S, Reina-Couto M, Albino-Teixeira A, Sousa T. Statins and oxidative stress in chronic heart failure. *Rev Port Cardiol.* 2016;35(1):41-57.
78. Tošić-Pajić J, Šeklić D, Radenković J, et al. Augmented oxidative stress in infertile women with persistent chlamydial infection. *Reprod Biol.* 2017;17(2):120-125.
79. Hilali N, Vural M, Camuzcuoglu H, Camuzcuoglu A, Aksoy N. Increased prolidase activity and oxidative stress in PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013;79(1):105-110.
80. Papalou O, Victor VM, Diamanti-Kandarakis E. Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome. *Curr Pharm Des.* 2016;22(18):2709-2722.
81. Zhang R, Liu H, Bai H, et al. Oxidative stress status in Chinese women with different clinical phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017;86(1):88-96.

82. Zuo T, Zhu M, Xu W. Roles of Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome and Cancers. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:8589318.
83. Murri M, Luque-Ramírez M, Insenser M, Ojeda-Ojeda M, Escobar-Morreale HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013;19(3):268-288.
84. Toh K, C. T. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun.*, 236:313–322.
85. Wang HF, Zhong XH, Shi WY, Guo B. Study of malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in chicken infected with avian infectious bronchitis virus. *Afr J Biotechnol*. 2011;10:9213–9217.
86. Semchyshyn HM. Reactive carbonyl species in vivo: generation and dual biological effects. *Scientific World Journal*. 2014;2014:417842.
87. Ramdial K, F. M. (2017). Cellular mechanisms of peroxynitrite-induced neuronal death. *Brain Res Bull.*, 133:4-11.
88. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Kröber SM, et al. Alpha2-HeremansSchmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care* 2006;29(4):853-7.)
89. Rutter, M.K., et al., Insulin resistance, the metabolic syndrome, and incident cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. *Diabetes*, 2005. 54(11): p. 3252-3257.
90. WILD, R.A., et al., Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1985. 61(5): p. 946-951
91. Macut D, Bjekić-Macut J, Savić-Radojević A. Dyslipidemia and oxidative stress in PCOS. *Front Horm Res*. 2013;40:51-63.

92. Ounpuu S, Negassa A, Yusuf S. INTER-HEART: A global study of risk factors for acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 2001;141(5):711-721.
93. Rosenzweig JL, Ferrannini E, Grundy SM, et al. Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(10):3671-3689.
94. Wild RA, Painter PC, Coulson PB, Carruth KB, Ranney GB. Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985;61(5):946-951.
95. Rizzo M, Berneis K. Lipid triad or atherogenic lipoprotein phenotype: a role in cardiovascular prevention?. *J Atheroscler Thromb*. 2005;12(5):237-239.
96. Wild RA, Rizzo M, Clifton S, Carmina E. Lipid levels in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2011;95(3):1073-9.e11.
97. Valkenburg O, Steegers-Theunissen RP, Smedts HP, et al. A more atherogenic serum lipoprotein profile is present in women with polycystic ovary syndrome: a case-control study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(2):470-476.
98. Berneis K, Rizzo M, Lazzarini V, Fruzzetti F, Carmina E. Atherogenic lipoprotein phenotype and low-density lipoproteins size and subclasses in women with polycystic ovary syndrome [published correction appears in *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Feb;92(2):482. Lazzaroni, Veronica [corrected to Lazzarini, Veronica]]. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(1):186-189.
99. Berneis K, Rizzo M, Hersberger M, et al. Atherogenic forms of dyslipidaemia in women with polycystic ovary syndrome. *Int J Clin Pract*. 2009;63(1):56-62.
100. Dib M, Garrel C, Favier A, Robin V, Desnuelle C. Can malondialdehyde be used as a biological marker of progression in neurodegenerative disease?. *J Neurol*. 2002;249(4):367-374.

101. Northrop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clin Chim Acta*. 2007;377(1-2):14-38.
102. Kuşçu NK, Var A. Oxidative stress but not endothelial dysfunction exists in non-obese, young group of patients with polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2009;88(5):612-617.
103. Sabuncu T, Vural H, Harma M. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clin Biochem* 001; 34: 407-13
104. Zhang D, Luo WY, Liao H, Wang CF, Sun Y. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2008;39(3):421-423.
105. Murri M, Insenser M, Fernández-Durán E, San-Millán JL, Luque-Ramírez M, Escobar-Morreale HF. Non-targeted profiling of circulating microRNAs in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): effects of obesity and sex hormones. *Metabolism*. 2018;86:49-60.
106. Dursun P, Demirtaş E, Bayrak A, Yarali H. Decreased serum paraoxonase 1 (PON1) activity: an additional risk factor for atherosclerotic heart disease in patients with PCOS. *Hum Reprod*. 2006;21(1):104-108.
107. Csala M, Kardon T, Legeza B, et al. On the role of 4-hydroxynonenal in health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(5):826-838.
108. Baradat M, Jouanin I, Dalleau S, et al. 4-Hydroxy-2(E)-nonenal metabolism differs in Apc(+/+) cells and in Apc(Min/+) cells: it may explain colon cancer promotion by heme iron. *Chem Res Toxicol*. 2011;24(11):1984-1993.
109. Afonso CB, Spickett CM. Lipoproteins as targets and markers of lipoxidation. *Redox Biol*. 2019; 23:101066.
110. Reed T, Perluigi M, Sultana R, et al. Redox proteomic identification of 4-hydroxy-2-nonenal-modified brain proteins in amnesic mild cognitive impairment: insight into the role of lipid peroxidation in the progression and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. 2008;30(1):107-120.

111. Herbst U, Toborek M, Kaiser S, Mattson MP, Hennig B. 4-Hydroxynonenal induces dysfunction and apoptosis of cultured endothelial cells. *J Cell Physiol.* 1999;181(2):295-303.
112. Hajjar DP, Haberland ME. Lipoprotein trafficking in vascular cells. Molecular Trojan horses and cellular saboteurs. *J Biol Chem.* 1997;272(37):22975-22978.
113. Jaganjac M, Tirosh O, Cohen G, Sasson S, Zarkovic N. Reactive aldehydes--second messengers of free radicals in diabetes mellitus. *Free Radic Res.* 2013;47 Suppl 1:39-48.
114. Zarković M. The role of oxidative stress on the pathogenesis of graves' disease. *J Thyroid Res.* 2012;2012:302537.
115. Ischiropoulos H. Protein tyrosine nitration--an update. *Arch Biochem Biophys.* 2009;484(2):117-121.
116. Drel VR, Pacher P, Varenjuk I, et al. A peroxynitrite decomposition catalyst counteracts sensory neuropathy in streptozotocin-diabetic mice. *Eur J Pharmacol.* 2007;569(1-2):48-58.
117. Drel VR, Pacher P, Varenjuk I, et al. Evaluation of the peroxynitrite decomposition catalyst Fe(III) tetra-mesitylporphyrin octasulfonate on peripheral neuropathy in a mouse model of type 1 diabetes. *Int J Mol Med.* 2007;20(6):783-792.
118. Nangle MR, Cotter MA, Cameron NE. Effects of the peroxynitrite decomposition catalyst, FeTMPyP, on function of corpus cavernosum from diabetic mice. *Eur J Pharmacol.* 2004;502(1-2):143-148.
119. Obrosova IG, Drel VR, Oltman CL, et al. Role of nitrosative stress in early neuropathy and vascular dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(6):E1645-E1655.
120. ulius U, Drel VR, Grässler J, Obrosova IG. Nitrosylated proteins in monocytes as a new marker of oxidative-nitrosative stress in diabetic subjects with macroangiopathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2009;117(2):72-77.

121. Kraft AD, Johnson DA, Johnson JA. Nuclear factor E2-related factor 2-dependent antioxidant response element activation by tert-butylhydroquinone and sulforaphane occurring preferentially in astrocytes conditions neurons against oxidative insult. *J Neurosci*. 2004;24(5):1101-1112.
122. Hubbs AF, Benkovic SA, Miller DB, et al. Vacuolar leukoencephalopathy with widespread astrogliosis in mice lacking transcription factor Nrf2. *Am J Pathol*. 2007;170(6):2068-2076.
123. oewe R, Pillinger M, de Martin R, et al. Dimethylfumarate inhibits tumor-necrosis-factor-induced CD62E expression in an NF-kappa B-dependent manner. *J Invest Dermatol*. 2001;117(6):1363-1368.
124. Wierinckx A, Brevé J, Mercier D, Schultzberg M, Drukarch B, Van Dam AM. Detoxication enzyme inducers modify cytokine production in rat mixed glial cells. *J Neuroimmunol*. 2005;166(1-2):132-143.
125. Schilling S, Goelz S, Linker R, Luehder F, Gold R. Fumaric acid esters are effective in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis and suppress macrophage infiltration. *Clin Exp Immunol*. 2006;145(1):101-107.
126. Ungvari Z, Bagi Z, Feher A, et al. Resveratrol confers endothelial protection via activation of the antioxidant transcription factor Nrf2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299(1):H18-H24.
127. Zeng C, Zhong P, Zhao Y, et al. Curcumin protects hearts from FFA-induced injury by activating Nrf2 and inactivating NF- κ B both in vitro and in vivo. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;79:1-12.
128. Stepto NK, Cassar S, Joham AE, et al. Women with polycystic ovary syndrome have intrinsic insulin resistance on euglycaemic-hyperinsulaemic clamp. *Hum Reprod*. 2013;28(3):777-784.
129. DeUgarte CM, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment. *Fertil Steril*. 2005;83(5):1454-1460

130. Mortensen M, Ehrmann DA, Littlejohn E, Rosenfield RL. Asymptomatic volunteers with a polycystic ovary are a functionally distinct but heterogeneous population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(5):1579-1586.
131. Mori K, Emoto M, Yokoyama H, Araki T, Teramura M, Koyama H, et al. Association of serum fetuin-A with insulin resistance in type 2 diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 2006;29(2):468.
132. Ix JH, Wassel CL, Kanaya AM, Vittinghoff E, Johnson KC, Koster A, et al. Fetuin-A and incident diabetes mellitus in older persons. *JAMA* 2008;300(2):182-8.
133. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Kröber SM, et al. Alpha2-HeremansSchmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care* 2006;29(4):853-7
134. Stefan N, Fritsche A, Weikert C, Boeing H, Joost HG, Häring HU, et al. Plasma fetuin-A levels and the risk of type 2 diabetes. *Diabetes* 2008;57(10):2762-7.135. Song A, Xu M, Bi Y, Xu Y, Huang Y, Li M, et al. Serum fetuin-A associates with type 2 diabetes and insulin resistance in Chinese adults. *PLoS One* 2011;6(4):e19228
136. Abali R, Celik C, Tasdemir N, Guzel S, Alpsoy S, Yuksel A, et al. The serum protein α 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A concentration and carotid intima-media thickness in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013;169:45-9.
137. Hizli S, Abaci A, Ozdemir O, Akelma Z, Akin O. Relation of fetuin A levels with cardiac, subcutaneous lipid accumulation and insulin resistance parameters in Turkish obese children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2016;29:669-73.
138. Enli Y, Fenkci SM, Fenkci V, Oztekin O. Serum fetuin-A levels, insulin resistance and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2013;29:1036-9.

139. Gulhan I, Bozkaya G, Oztekin D, Uyar I, Kebapcilar AG, Pamuk B. Serum fetuin-A levels in women with polycystic ovary syndrome. Arch Gynecol Obstet 2012;286:1473-6.

