

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**POLİKİSTİK OVER SENDROM'LU HASTALARDA
İNSÜLİN REZİSTANSINI GÖSTEREN ADİPONEKTİN
GHRELİN, RESİSTİN VE VİSFATİN DÜZEYLERİNİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. CAFER GÖNEN**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. YAŞAR ENLİ**

DENİZLİ - 2012

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**POLİKİSTİK OVER SENDROM’LU HASTALARDA
İNSÜLİN REZİSTANSINI GÖSTEREN ADİPONEKTİN
GHRELİN, RESİSTİN VE VİSFATİN DÜZEYLERİNİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. CAFER GÖNEN**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. YAŞAR ENLİ**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’nin 13/04/2010 tarih ve 2010TPF007 proje nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ - 2012

Doç. Dr. Yaşar ENLİ danışmanlığında Dr. CAFER GÖNEN tarafından yapılan “Polikistik Over Sendromlu Hastalarda İnsülin Rezistansını Gösteren Adiponektin Ghrelin, Rezistin ve Visfatin Düzeylerinin İncelenmesi” başlıklı tez çalışması 17/01/2012 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU



ÜYE: Prof. Dr. Simin ROTA



ÜYE: Doç. Dr. Yaşar ENLİ



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

26...08/2012



Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

Prof. Dr. Mustafa KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım sürecinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım Doç. Dr. Yaşar ENLİ'ye, uzmanlık eğitimimdeki katkılarından dolayı Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Simin ROTA'ya, hocalarım Prof. Dr. Diler ASLAN'a, Prof. Dr. Bünyamin KAPTANOĞLU'na, Prof. Dr. Süleyman DEMİR'e, Doç. Dr. Hülya AYBEK'e; tezime olan katkılarından dolayı Kadın Doğum ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. İ. Veysel FENKÇİ ve Yrd. Doç. Dr. Özer ÖZTEKİN'e, istatistiksel analiz ile ilgili yardımları nedeniyle Doç. Dr. Beyza AKDAĞ'a, teknik ve genel bilgilerinden tüm eğitimim süresince yararlandığım dönem arkadaşlarım Dr. Mahmut ŞENYURT ve Dr. Fatih YAMAN'a, bölüm arkadaşlarım tez çalışmalarımındaki yardım ve desteklerinden dolayı, Dr. Didem TUNCER'e, Dr. Koray KORKMAZCAN'a, Dr. Emine KAVALCI'ya, Dr. Dilek İREN'e, Dr. Esin AVCI ÇİÇEK'e, Dr. Nergiz ZORBOZAN'a, Dr. Cuma DEMİRAL'a ve Dr. Mesut ORAL'a teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim ve tez dönemimde her türlü fedakârlık ve desteğini benden esirgemeyen canım annem ve merhum babama, anlayışla her zaman olduğu gibi şimdi de yanımda olan sevgili eşim Gülden'e ve çalışmalarımından dolayı yeterince ilgilenemediğimi düşündüğüm canım kızlarım Gözdenur ve Gamze'ye sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IX
ABSTRACT	XII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
POLİKİSTİK OVER SENDROMU.....	3
Tanı Kriterleri	4
Kronik Anovulasyon	6
Hiperandrojenizm.....	6
Polikistik Over (PKO).....	8
Polikistik Over Sendromu (PKOS) Patofizyolojisi.....	8
Adiponektin	16
Ghrelin.....	20
Rezistin	22
Visfatin	25
GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
ÇALIŞMA GRUBU	27
Kontrol grubu.....	27
Etik kurul onayı.....	27
Hasta Örneklerinin Toplanması ve Analiz Örneklerinin Hazırlanması	29
Analitler	31
İstatistiksel Analiz	48
BULGULAR	49
TARTIŞMA.....	62
SONUÇLAR.....	70
KAYNAKLAR.....	73
EK-1	89

SİMGELER VE KISALTMALAR

BKO	: Bel kalça oranı
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
ASRM	: American Society for Reproductive Medicine
DHEAS	: Dihidroepiandrosteron sülfat
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ESHRE	: European Society for Human Reproduction and Embryology
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
HOMA-IR	: Homeostasis Model Assessment- Insulin Resistance
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
LH	: Lüteinize edici hormon
mFGS	: Modifiye Ferriman-Gallwey skorlaması
PKO	: Polikistik Over
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
SAİ	: Serbest androjen indeksi
SHBG	: Seks hormon bağlayıcı globulin
SPSS	: Statistical package for social sciences
TSH	: Tiroid stimüle edici hormon
USG	: Ultrasonografi
VKİ	: Vücut kitle indeksi
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol

Şekil 1: Modifiye Ferriman Gallwey Skorlaması (mFGS)	7
Şekil 2: PKOS de temel fizyopatolojik değişiklikler	9
Şekil 3: İnsülin reseptörü sinyal iletimi	14
Şekil 4: Adiponektinin yapısı	16
Şekil 5: Adiponektinin işlevi	18
Şekil 6: Ghrelinin yapısı	20
Şekil 7: Ghrelinin beslenme üzerindeki temel etki mekanizması	21
Şekil 8: Rezistin yapısı	23
Şekil 9: Adiponektin kalibrasyon eğrisi.....	39
Şekil 10: Ghrelin kalibrasyon eğrisi.....	42
Şekil 11: Rezistin kalibrasyon eğrisi	44
Şekil 12: Visfatin kalibrasyon eğrisi	47
Şekil 13: Çalışmada kullanılan örneklerin gruplandırılması	49
Şekil 14: PKOS ve kontrol gruplarının VKİ'ne göre frekansları.....	50
Şekil 15: PKOS hasta grubunun insülin direnci ve VKİ'ye göre dağılımı	58
Şekil 16: Kontrol grubunun insülin direnci ve VKİ'ye göre dağılımı.....	59
Şekil 17: Adiponektin ve ghrelin arasındaki saçılım grafiği.....	61

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1: PKOS tanı kriterleri	5
Tablo 2 : 2003 Rotterdam Kriterleri Temelli Fenotipler	5
Tablo 3: PKOS da klinik bulgu frekansları	6
Tablo 4: Kantitatif insülin direnci ölçüm yolları	15
Tablo 5: Çalışmada kullanılan cihazlar	30
Tablo 6: Ölçülen rutin analitlerin ölçüm yöntemleri ve cihazları.....	31
Tablo 7: Araştırma parametreleri kitleri.....	32
Tablo 8: Ölçülen araştırma parametrelerinin yöntemleri ve kullanılan cihazlar	32
Tablo 9: Adiponektin standartlarının hazırlanması.....	38
Tablo 10: Ghrelin standartlarının hazırlanması	40
Tablo 11: Rezistin standartlarının hazırlanması	43
Tablo 12: Visfatin standartlarının hazırlanması.....	45
Tablo 13: Hasta ve kontrol grubunun demografik özelliklerinin karşılaştırılması	50
Tablo 14: Hasta ve kontrol grupları parametrelerinin karşılaştırılması	51
Tablo 15: Normal kilolu PKOS ve normal kilolu kontrol gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılması	52
Tablo 16: Normal kilolu PKOS ve normal kilolu kontrol grubunun parametrelerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 17: Fazla kilolu PKOS ve fazla kilolu kontrol gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılması	54
Tablo 18: Fazla kilolu PKOS ve fazla kilolu kontrol grubunun parametrelerinin karşılaştırılması.....	55
Tablo 19: Normal kilolu PKOS hastaları ile fazla kilolu PKOS hastalarının demografik özellikleri.....	56
Tablo 20: Normal kilolu PKOS ve fazla kilolu PKOS grubunun parametrelerinin karşılaştırılması.....	57
Tablo 21: PKOS ve kontrol grubunun HOMA-IR indeksi 2,7 göre frekansları.....	58

Tablo 22: Çalışılan parametrelerin birbirleri ile korelasyonları60

ÖZET

Polikistik Over Sendromlu Hastalarda İnsülin Rezistansını Gösteren Adiponektin, Ghrelin, Rezistin ve Visfatin Düzeylerinin İncelenmesi

Dr. Cafer GÖNEN

Polikistik Over Sendromu (PKOS) doğurganlık çağındaki kadınlarda görülen en sık endokrin bozukluktur (%5-10). Multisistemik, reproduktif-metabolik bir sendrom olarak tip 2 diyabet, dislipidemi, kardiyovasküler hastalık ve endometriyal karsinoma gibi uzun dönem sağlık riskleri taşıması nedeniyle günümüzde bir halk sağlığı problemi olarak ön plana çıkmaktadır. PKOS patofizyolojisinde insülin direncinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Adiponektin 224 aminoasit rezidüsünden oluşan kompleman ilişkili uzun bir polipeptittir. Adipositlerden salgılanan adipokindir. Glukoz ve lipid homeostazında etkilidir. Yağ asidi oksidasyonunu sağlar. Kan glukozunun düşürülmesine yardımcı olur. Adiponektin konsantrasyonunun azalması insülin direnci ve hiperinsülinizm ile ilişkilidir.

Ghrelin, adenohipofizden büyüme hormonu salınımını arttıran bir polipeptittir. Prepro hormon olarak sentezlenir. Proteolitik işlemde sonra 28 aminoasitlik peptit olarak salınır. Primer olarak mide fundusu ve ince barsaklardan salgılanır. Açlık ve yemek yemeyi düzenler. Enerji depolanması ve kilo kazanımda etkilidir. Yağ oksidasyonunu azaltır. İnsülin rezistansındaki yüksek insülin seviyelerinin ghrelin düzeylerini düşürdüğü ortaya konulmuştur.

Rezistin, dimerik olup iki adet 92 aminoasitten oluşan disülfit köprüleriyle bağlı polipeptit zincirinden oluşmaktadır. Yağ dokusu ve makrofajlardan salınan

spesifik bir sekretuar proteindir. Kan glukozunu ve insülin konsantrasyonunu artırır. İnsülin direncini artırır.

Visfatin, yakın zamanda keşfedilen bir adipokindir. B lenfosit proliferasyonunu uyarır. Pre-B koloni büyüme faktörüdür. İnsülin etkilerini arttırıcı özellikleri vardır. Visfatinin insüline duyarlılık ile ilişkisi vardır. İnsülin rezistansının geliştiği durumlarda arttığı saptanmıştır

Çalışmamıza PKOS hastalığı tanısı almış 53 hasta ile 42 sağlıklı dahil edildi. Hasta ve kontrol grubu VKİ 25'den küçük olanlar "normal kilolu", VKİ 25 ve üzeri olanlar "fazla kilolu" olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri belirlendi. Hirsutizm skorlaması, pelvik veya vaginal USG muayeneleri yapıldı. Tüm bireylerin serum glukoz, insülin, total testosteron, SHBG, LH, FSH, total kolesterol, trigliserid, HDL kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri belirlendi. İnsülin direncini belirlemek için HOMA-IR hesaplandı. Biyokimyasal hiperandrojenizm için SAI hesaplandı. Adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin düzeyleri çalışıldı. Ana ve alt gruplar düzeyinde karşılaştırmalar yapıldı.

Kontrol grubu ile hasta grubu arasında adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptandı. PKOS grubunda adiponektin ve visfatin düşük, ghrelin ve rezistin düzeyleri yüksek aynı zamanda LH ve LH/FSH oranı yüksek saptandı. Aynı zamanda insülin ve HOMA-IR düzeyleri yüksek saptandı. Gruplar arasında lipid profili açısından anlamlı farklılık bulunmadı. SAI ve total testosteron parametreleri için iki grup arasında anlamlı farklılık vardı. Hasta ve kontrol grubu için demografik özellikleri açısından fark görülmedi. Adiponektin ile ghrelin arasında ters yönlü zayıf korelasyon saptandı.

Alt grupların analizinde; normal kilolu PKOS ve normal kilolu kontrol grupları arasında adiponektin ve visfatin düzeyleri açısından anlamlı fark görüldü. Ghrelin ve rezistin açısından anlamlı fark yoktu. Fazla kilolu PKOS ve fazla kilolu kontrol grubu analizinde adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin düzeyleri açısından anlamlı fark görülmedi. Normal kilolu PKOS ile fazla kilolu PKOS arasında adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin açısından anlamlı fark yoktu.

İnsülin direnci PKOS patogenezinde önemli bir bulgudur. Adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin insülin direncinde rol oynadığı düşünülen moleküllerdir. Bu çalışmamızda insülin direncini gösteren parametrelerin PKOS'lu hastalardaki değişimlerin bize gösterdiği sonuç; insülin direncinin polikistik over sendromun patogenezinde önemli bir yere sahip olduğudur. Bununla birlikte bu parametrelerle ilgili olan ilişkiler ve değişikliklerin daha iyi ve anlamlı olarak ortaya çıkarabilmesi için daha fazla sayıdaki gruplarla ileri prospektif çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Polikistik over sendromu, insülin direnci, adiponektin, ghrelin, rezistin, visfatin

ABSTRACT

The Evaluation of Insulin Resistance Markers Adiponectin, Ghrelin, Resistin, Visfatin and in Polycystic Ovarian Syndrome Patients

Dr. Cafer GÖNEN

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most frequent endocrin disorder in reproductive-age woman (5-10%). As a multisystemic, reproductive-endocrinologic disorder that carries long term health risks such as type 2 diabetes, dislipidemia, cardiovascular diseases and endometrial carcinoma, PCOS is a public health issue. Insulin resistance may play important roles in the pathophysiology of PCOS.

Adiponectin is a compleman related polypeptide which consists of 224 aminoacids residues. It's an adipokine secreted from adipocytes. It has effects in glucose and lipid homeostasis. It causes fatty acid oxidation and lowers the blood glucose. Low adiponectin levels are associated with insulin resistance and hyperinsulinizm.

Ghrelin is a polipeptide which increases growth hormone secretion from adenohipophysis. It is synthesized as a prepro hormone. It is secreted as a 28 aminoacid polypeptide after proteolysis. It is mainly secreted from gastric fundus and small intestines. It regulates hunger and eating. It is effective in energy storing and weight gain. It decreases fatty acid oxidation. It has been shown that high insulin levels in insulin resistance decreases ghrelin levels.

Resistin is a dimeric polypeptide of 92 aminoacid binded with disulfide bonds. It is a secretuar protein secreted from adipose tissue and macrophages. It increases blood glucose, insulin levels and insulin resistance.

Vistatin is a recently discovered adipokine. It stimulates B lymphosite proliferation. It is a growth factor for pre-B colonies. It enhances the effects of

insulin. It is associated with insulin sensitivity. Visfatin levels increases in insulin resistance.

Our study group included 53 patients diagnosed with PCOS and 42 healthy volunteers. Patient group and control group has been divided into two groups; “normal weight” as BMI < 25 and “over weight” as BMI > 25. Demographic properties of Patient group and control group determined. Hirsutism scoring, pelvic or vaginal US examination performed. Serum glucose, insulin, total testosterone, SHBG, LH, FSH, total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and LDL cholesterol levels are determined in all individuals. HOMA-IR calculated to determine insulin resistance. SAI calculated for biochemical hyperandrogenism. Adiponectin, ghrelin, resistin and visfatin level determined. Main groups and sub-groups compared.

There was significant difference between control group and patient group in adiponectin, ghrelin, resistin and visfatin levels. Adiponectin and visfatin levels were lower, ghrelin, resistin, LH levels and LH/FSH ratio were higher in PCOS group. Insulin and HOMA-IR was also high. There was no difference among groups for lipid profile. There was significant difference between groups in total testosterone levels and SAI. There was no difference between patient and control groups in demographic properties. There was a negative weak correlation between adiponectin and ghrelin.

When sub-groups analysed a significant difference has been seen between normal weight PCOS and normal weight control groups in terms of adiponectin and visfatin. There was no difference between ghrelin and resistin levels. There was no difference between over weight PCOS and over weight control groups in terms of adiponectin, ghrelin, resistin and visfatin levels. There was no difference between over weight PCOS and normal weight PCOS groups in terms of adiponectin, ghrelin, resistin and visfatin levels.

Insulin resistance is an important finding in PCOS pathogenesis. Adiponectin, ghrelin, resistin and visfatin may play roles in insulin resistance. In this study, alteration of parameters showing insulin resistance demonstrated that insulin resistance plays an important role in the pathogenesis of PCOS. We conclude that further prospective search is needed to clarify the associations of these parameters.

Key words: Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, adiponectin, ghrelin, resistin, visfatin.

GİRİŞ

Polikistik Over Sendromu (PKOS), üreme çağındaki kadınların yaklaşık olarak %6-10'da görülür. Kliniğinde kronik oligo/anovulasyon, klinik/biyokimyasal hiperandrojenizm, obezite, dislipidemi, azalmış fertilité ve morfolojik olarak genişlemiş kistik overler ile karakterize heterojenik bir hastalıktır (1).

PKOS'unun altında yatan mekanizmalarla ilgili olarak son dönemlerdeki yayınlarda insülin direncinin hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynadığı vurgulanmaktadır (2). İnsülin direnci ve hiperinsülinemi; PKOS'lu kadınlarda uzun dönemde riskler oluşturan, hipertansiyon, endotel disfonksiyonu ve dislipidemi gibi bozukluklara da yol açabilir. Endotel disfonksiyonu ve dislipidemi, kardiovasküler hastalıklar açısından önemli risk faktörleri sayılmaktadır (3).

PKOS'un patofizyolojisinde üzerinde en sık durulan mekanizma insülin direncidir. İnsülin direncinin klinik önemi ise yetersiz insülin etkisi sonucu gelişen DM, bozuk glukoz toleransı, lipoartrofi gibi yetersiz insülin etkisi sonucu gelişen bozukluklardan ve aşırı insülin sonucu gelişen akantozis nigrikans, hiperandrojenizm gibi durumlardan kaynaklanır (4).

Adiponektin yağ dokusundan salgılanan kompleman ilişkili proteindir. 224 aminoasit rezidüsünden oluşan uzun bir polipeptittir. N-terminali kollajen molekülüne, C-terminali ile kompleman C1q'ya benzer. AdipoR1 ve AdipoR2 adlı reseptörleri vardır. AdipoR1 primer olarak iskelet kasında, AdipoR2 ise karaciğerde bulunur. Adiponektin yağ hücrelerinin farklılaşmasında rol alır. Glukoz ve lipid homeostazında etkilidir. Yağ asidi oksidasyonunu sağlar. Kan glukoz düşürülmesine yardımcı olur. Adiponektin konsantrasyonunun azalması insülin direnci ve hiperinsülinizm ile ilişkilidir (5).

Ghrelín, adenohipofizden büyüme hormonu salınımını arttıran bir polipeptit hormondur. Prepro hormon olarak sentezlenir. Proteolitik işlemde sonra 28 aminoasitlik peptit olarak salınır. Primer olarak mide fundusu ve ince barsaklardan

salgılanır. Açlık ve yemek yemeyi düzenler. Enerji depolanması ve kilo kazanımda etkilidir. Yağ oksidasyonunu azaltır. İnsülinin yüksek seviyelerinde ghrelin seviyelerini düşürür. İnsülin rezistansındaki yüksek insülin seviyelerinin ghrelin düzeylerini düşürdüğü ortaya konulmuştur (6).

Visfatin, yakın zamanda keşfedilen bir adipokindir. B lenfosit proliferasyonunu uyandır. Pre-B koloni büyüme faktörüdür. İnsülin etkilerini arttırıcı özellikleri vardır. Visfatinin insüline duyarlılık ile ilişkisi vardır. İnsülin rezistansının geliştiği durumlarda arttığı saptanmıştır (7).

Rezistin, yağ dokusuna spesifik bir sekretuar proteindir. Dimerik olup iki adet 92 aminoasitten oluşan disülfid köprüleriyle bağlı polipeptit zincirinden oluşmaktadır. Kan glukozunu ve insülin konsantrasyonunu arttırır. İnsülin direncini arttırır. Tip II diyabette konsantrasyonu artar. Obesite ve insülin direnci arasında serum rezistini arttırıcı ilişki vardır (5).

Bu çalışmada amacımız PKOS patogenezinde yer aldığı düşünülen insülin rezistansı ile ilişkili serum adiponektin, ghrelin, visfatin ve rezistin düzeylerini incelemektir.

GENEL BİLGİLER

POLİKİSTİK OVER SENDROMU

Tarihçe

İlk olarak 1935 yılında Irving F. Stein ve Michael L. Leventhal tarafından tanımlanan sendromda, araştırmacılar tarafından amenoreik, obez, hirsutizmi ve kistik overleri olan yedi polikistik overli kadına bilateral ovaryan wedge (kama) rezeksiyonu yapılmış. Ovulatuvar siklusu geri döndüğünü ve wedge rezeksiyonun hastalık tedavisinde uygun bir yöntem olduğunu yayınlamışlardır. Bu ilk tariftten dolayı bu şekilde etkilenmiş kadınların tanımlanmasında literatürde Stein–Leventhal Sendromu terimi de kullanılmıştır (8).

1950’lerde McArthur ve arkadaşları, tanımlanan bu hasta grubunda yüksek idrar lüteinizan hormon (LH) düzeyleri olduğunu gözlemlemişler ve 1970’lere gelindiğinde, radyoimmunoassay tekniğinin kullanıma girmesiyle biyokimyasal tanı gündeme gelmiştir. 1976’da Kahn ve arkadaşları, 1980’de Burghen ve arkadaşları insülin direnci ve PKOS arasında ilişki kurarak PKOS patofizyolojisinde kilometre taşı oluşturmuşlardır. 1980’lerde Adams ve arkadaşları ultrasonografik olarak polikistik overlerin varlığının tanı kriteri olabileceğini açıklamışlardır (9).

PKOS ile ilgili çalışmaların yaygınlaşmasıyla bu tanımlara insülin direnci ve hiperinsülinemi de eklenmiştir. PKOS, metabolik bir sendrom olarak kabul edilmiştir.

Tanımı

PKOS, üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluklardan biri olup hiperandrojenizm ve oligo ve/veya anovulasyonun en sık sebebidir (10, 11). Menstrüel bozukluk ve infertilite ile ilişkili olduğundan bir çok olgunun tanısı bu nedenle başvurdukları jinekoloji ve infertilite kliniklerinde konulmaktadır.

Üreme çağındaki kadınlarda, sıklığı %6 ile %10 arasında bildirilmiştir (12).

Tipik klinik görünümün varlığında polikistik overlerin görülmesi sendromun tanısını desteklerken, hiperandrojenizm hikayesi olmayan normal ovulatuvar kadınlarda da polikistik overlerin bulunabileceği akılda tutulmalıdır (13, 14). Hirsutizm olanlar arasında sıklığı %90, sekonder amenoresi olanlar arasında sıklığı %30 ve oligomenoresi olanlar arasında sıklığı %75'dir (13). Sonuç olarak, tanı için polikistik overin tespiti klinik olarak uygun görülmektedir. Bununla birlikte, polikistik overlerin morfogenezi hastalığın yegane şartı değildir.

Genetik faktörler, sendromun gerek reproduktif gerekse metabolik fenotiplerinin gelişmesinde önemli katkıda bulunmaktadır. PKOS'lu hastaların, anne ve kız kardeşlerinde hiperandrojenizm ve menstrüel disfonksiyonun sık olmasının yanı sıra, baba ve erkek kardeşlerde de serum androjen düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (15). PKOS'lu kadınların analizinde ise kız kardeşlerin %66'sında, annelerin %52'sinde sendrom belirlenmiş, bu oranların kontrol ailesinde görülenden önemli oranda yüksek olduğu gösterilmiştir (16).

Tanı Kriterleri

Polikistik over sendromunun üç önemli tanısal bulgusu vardır. Hiperandrojenizm, kronik anovulasyon ve ultrasonografide polikistik overler (17).

ESHRE (European Society for Human Reproduction and Embryology) ve ASRM (American Society for Reproductive Medicine) tarafından, 2003'te düzenlenen Rotterdam'daki ortak karar toplantısında yeni tanı kriterleri kabul edilmiştir (Tablo 1). Diğer hiperandrojenemi nedenleri ekarte edildikten sonra hiperandrojenizm, kronik anovulasyon ve ultrasonografide polikistik over görünümü bulgusundan herhangi ikisinin tanı için yeterli olacağı belirtilmiştir (17).

Tablo 1: PKOS tanı kriterleri (17)

Rotterdam ESHRE/ASRM Tanı Kriterleri (2003)

Revize edilen 2003 kriterleri (3 özelliğten en az 2 si bulunmalı)

1. Oligo ve/veya anovulasyon
2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenemi
3. Polikistik over morfolojisi (bir overde 12 adet veya daha fazla, 2-9 mm çapında follikül bulunması ve/veya over volümünün 10cm³'ün üzerinde olması)

2003 Rotterdam PKOS Konsensus Konferansında (ESHRE-ASRM) kriterleri kabul edilmiştir (17) (Tablo 1).

Aynı zamanda bu yeni kriterler ile bir takım yeni fenotipler oluşmuştur (Tablo 2).

Tablo 2 : 2003 Rotterdam Kriterleri Temelli Fenotipler (18)

	Ciddi PKOS	Hiperandrojenizm ve kronik anovulasyon	Ovulatuar PKOS	Hafif PKOS
Adet Siklusu	Düzensiz	Düzensiz	Düzenli	Düzensiz
USG Görünümü	PKO	Normal	PKO	PKO
Androjen Konsantrasyonu	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Hafif Artmış
İnsülin Konsantrasyonu	Artmış	Artmış	Artmış	Normal
Prevalans	%61	%7	%16	%16

Kronik Anovulasyon

PKOS tanısında hiperandrojenizme göre daha kolay konan bir bulgudur. Over fonksiyon bozukluğu olan oligo-anovulasyon; klinik bulgu olarak karşımıza oligomenore veya amenore şeklinde ortaya çıkmaktadır. Balen ve arkadaşlarının yaptığı PKOS tanısı alan 1741 kadının katıldığı geniş çaplı araştırmalarda %30 u normal menstruel siklus, %47 oligomenore ve %19 amenore olarak saptandı (19). Oligomenore, peripubertal başlangıçlı ve menarşdan itibaren yılda 6'dan az adet görme şeklinde tarif edilmiştir. Amenore ise, gebelik yokluğunda, 3 ay veya daha fazla süreyle menstruasyon periyodunun olmamasıdır (19).

Tablo 3: PKOS da klinik bulgu frekansları (19)

	Balen ve ark. (%)	Goldzieher (%)	Franks (%)
Oligoamenore	47	29	52
Amenore	19	51	28
İnfertilite	20	74	42
Hirsutizm	66	69	62
Obesite	38	41	35

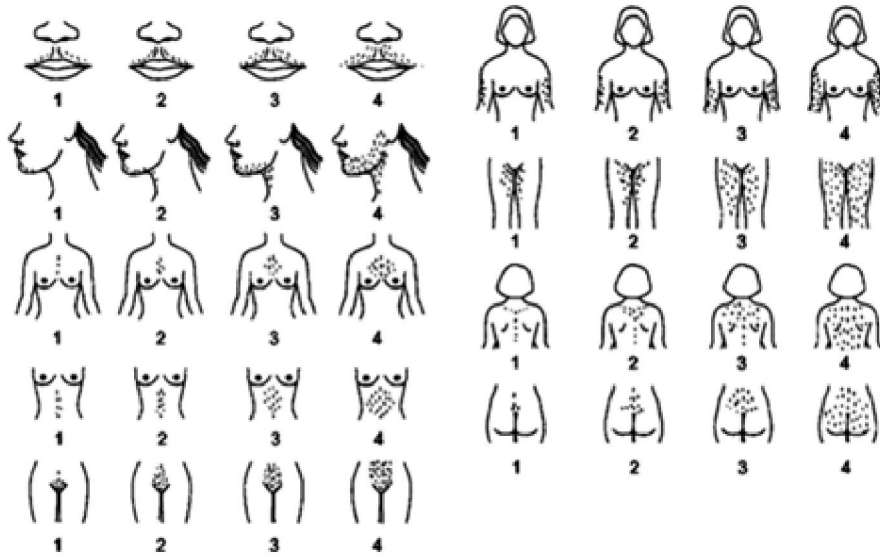
Hiperandrojenizm

PKOS tanısında kronik anovulasyona göre daha zor konan bir bulgudur.

Klinik hiperandrojenizm

Androjen fazlalığının klasik klinik bulgusu hirsutizmdir. Hastaların %70' de görülür. Hirsutizm, kadınlarda terminal kılların erkek tipinde artması ve dağılımı olarak tanımlanır. Ferriman Gallwey gibi standart skorlama metodlarının az sayıda klinisyen tarafından kullanılması, geniş topluluklarda normal sınırlarının halen belirlenememiş olması, genetik ve etnik farklılıklar göstermesi gibi nedenlerden dolayı hirsutizm tanısında güçlükler oluşabilmektedir (20).

Hirsutizm skorlaması için pek çok yöntem geliştirilmiştir. 1961 yılından itibaren Ferriman-Gallwey skorlaması (FGS) kullanılmaya başlanmıştır. 1971 yılında Ferriman-Lorenzo tarafından Modifiye Ferriman Gallwey skorlaması şekliyle en son halini almıştır. Bu skorlamaya göre androjenlere duyarlı olan 9 bölge (üst dudak, çene, göğüs, sırt, bel, üst kol, üst karın, alt karın ve uyluk) değerlendirilir ve kıllanmanın derecesine göre 1 ile 4 arasında puan verilir (Şekil 1). Toplam puanın 8 ve üzerinde olması hirsutizm olarak kabul edilir. Hirsutizmin derecesi ve dağılımı herhangi bir hastalık için spesifik değildir (21).



Şekil 1: Modifiye Ferriman Gallwey Skorlaması (mFGS) (21)

Biyokimyasal hiperandrojenizm

Overde androjen sentezinin artması PKOS'da androjen fazlalığının bir işareti olarak yansır. Hiperandrojenemiye ortaya koymada serbest testosteron veya serbest androjen indeks (SAİ) ölçümlerinin duyarlı metodlar olduğu düşünülmektedir (18).

Total testosteron tek başına duyarlı bir belirteç olarak görülmemektedir. PKOS'lu hastaların küçük bir bölümünde dehidroepiandrostenedion sülfat (DHEAS)

yükselmektedir. Total testosteron ve DHEAS yüksekliğinde androjen salgılayan tümör düşünölmelidir. Androstenedion ölçümü ise, 21-hidroksilaz eksikliğinde PKOS göre daha fazla yükselmektedir.

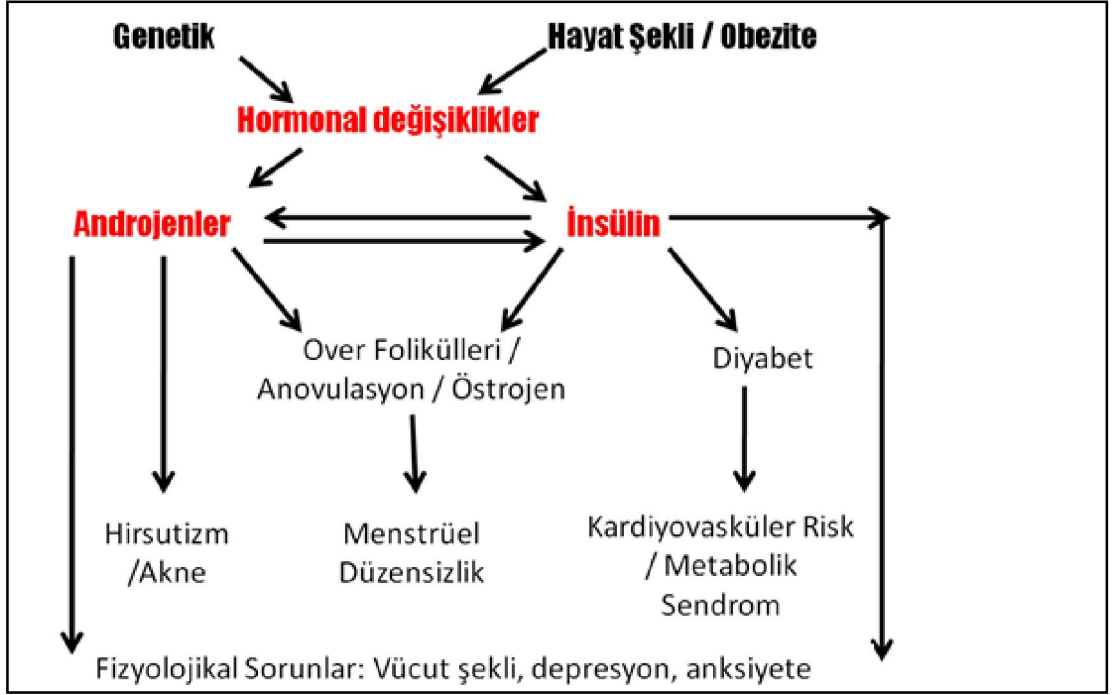
Polikistik Over (PKO)

PKO görünümü Rotterdam 2003 kriterlerinden biridir. Polikistik overlerin tespiti için transvajinal veya transabdominal USG kullanılabilir. Foliküler fazda en az bir overde olmak üzere 12 veya daha fazla 2-9 mm çapında follikül bulunması ve/veya artmış over hacmi (>10 ml) olarak bildirilmiştir (17).

PKO morfolojisinin tanı için mutlak gerekli olmadığı ve PKOS'lu hastaların yaklaşık %10-30'unda USG ile polikistik overlerin gösterilemediği bildirilmiştir. Ayrıca herhangi bir zaman diliminde, anovulatuvar hastaların yaklaşık %75'inde polikistik overler gelişmektedir. Ayrıca ovulatuvar bozukluk ve hiperandrojenizm bulunmayan PKO görünümünde "Asemptomatik PKO" denilmektedir. (17).

Polikistik Over Sendromu (PKOS) Patofizyolojisi

PKOS; etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkmış, sık görölen ve kompleks bir hastalık olarak değerlendirilebilir. Şekil 2'de göröldüğü gibi sendromun fizyopatolojisinde androjen anormallikleri, gonadotropin anomalileri, insülin salınım ve etki bozuklukları ile birlikte genetik faktörler ön plana çıkmaktadır.



Şekil 2: PKOS de temel fizyopatolojik değişiklikler (4)

Polikistik Over Sendromu'nda meydana gelen hormonal değişiklikler (3, 4):

1. Seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) ile androjenlerin bağlanması azalma ve ilave olarak ovaryan androjen sekresyonunda artışla birlikte, serbest testosteron ve androstendion artar.
2. Androjenlerin artışı ile ilişkili olarak SHBG yapımının azalır.
3. SHBG azalması sonucu, serbest östradiol ve östron artar (yağ dokusundan androjenlerin periferik dönüşümü).
4. Gonadotropin releasing hormonun (GnRH) miktarı ve sıklığındaki değişikliğe luteizan hormonun (LH) sekresyonunda artar.
5. PKOS'ta folikül stimulan hormon (FSH) seviyesi değişmez, fakat matür follüküllerin gelişimi için follüküler seçim yoktur.

Androjen Anormallikleri

PKOS olan kadınların %60-80'de dolaşımında yüksek testosteron konsantrasyonuna sahiptir. Yaklaşık %25'de dihidroepiandrostenedion sülfat (DHEAS) yüksekliğine sahiptir (22). Bazı araştırmacılara göre temel anomalidir. Polikistik overlerde kalınlaşmış teka hücre tabakaları vardır. Bunlar bazal LH salınımına aşırı androjen salgılayarak yanıt verir (23).

Folikül Gelişimi Anomalileri

PKO normal overlere göre 2 ila 6 kat daha fazla sayıda primer, sekonder ve antral folikül içerirler (24). Folikül sayısındaki artışın mekanizması henüz bilinmemektedir; ancak birçok kanıt anormal androjeni işaret etmektedir. Dişi rhesus maymunlarına dihidrotestosterone uygulanması sonucu over hacmi ve folikül sayısında artış saptanması da androjenlerin over hücreleri üzerindeki etkisi çalışmalarca gösterilmiştir (25). PKOS'lu kadınlarda yapılan bazı çalışmalarda folikül sayısı ile serum testosteron ve androstenedion seviyeleri arasında pozitif korelasyon görülmektedir (26, 27).

Gonadotropin Anomalileri

PKOS' lu hastada gonadotropin salınım paterni de farklılık göstermektedir. LH salınımı fazla iken, FSH salınımı normal olduğu bildirilmiştir (28). Bu salınım paterni sonucu olarak LH/FSH oranının da yükseldiği çoğu hastada özellikle normal kilolu olanlarda gösterilmiştir. GnRH stimülasyon testleri ile bu bulguların şiddetlendiği, LH ve 17-hidroksi progesteron konsantrasyonlarının arttığı görülmektedir (29). Genel olarak bu veriler hipofiz duyarlılık artışı kanıtı tarafından desteklenen hipotalamus-hipofiz eksenini bir kusurun varlığını düşündürmektedir. Ayrıca, kortikotropin salgılatıcı faktör ile uyarılması kadınlarda aşırı ACTH hormonu ve kortizol yanıtı ile sonuçlanır (30).

Dislipidemi

PKOS'un ortaya çıkardığı metabolik bozukluklardan dolayı, kardiovasküler hastalıkların sıklığının arttığı bilinmektedir. PKOS'lu kadınlarda dislipidemi, hipertansiyon ve diabetes mellitus oldukça yaygın görülür. Obesite (özellikle santral obesite), kardiovasküler hastalıklarla ilgili uzun dönem risklerin belirlenmesinde önemlidir (31).

Lipid ve lipoprotein anormallikleri PKOS'un önemli metabolik özelliklerindedir. Artmış plazma TG, TC ve LDL-C ile azalmış HDL-C seviyeleri PKOS' lu kadınların karakteristik lipid tablosudur. Artan çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL-C), apolipoprotein B (Apo B) düzeyleri ile azalan HDL 2 ve Apo A1 düzeyleri PKOS' ta görülen diğer lipoprotein anormallikleridir (32, 33).

PKOS'lu kadınlardaki bozulmuş lipid ve lipoprotein profilinin artmış androjen seviyelerinden çok, vücut yağ dağılımı ve insülin direnci ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (34).

Obesite ve Yağ Dokusu Dağılımı

Vücut kitle indeksi(VKİ); vücuttaki yağ miktarını ölçmek için kullanılan bir dolaylı bir metottur. Vücut kütleinin (kg), boy uzunluğunun(m) karesine bölümü olarak tanımlanmıştır. Birimi "kg/m²" dir. Dünya sağlık örgütünce (WHO); VKİ 18,5 ile 24,99 arasında normal kilolu, VKİ \geq 25 ise fazla kilolu, VKİ \geq 30 ise obez olarak tanımlanmıştır (35). Birçok geniş çalışmada PKOS hastalarının %35-50 si VKİ>25 veya VKİ>27 üzerindedir (36).

Yağ dokusunun dağılım şekli de önemlidir. Jinekoid obezite; yağ dokusunun femoral ve glutealde birikim şeklindedir. Android obezite ise yağ dokusunun karında birikmesidir. Bu ikisinin ayırımında bel kalça oranı (BKO) kullanılmaktadır. Bu oran 0.82 ile 0.85 arasında normal sınırlarda kabul edilmektedir. 0.85 üzeri ise android obezite 0,85 altındaki değerler jinekoid obezite olarak değerlendirilir (37).

İnsülin Direnci

Mevcut tez konusunun temelini oluşturan insülin duyarlılığında azalma meydana gelmesi PKOS'lu olgularda ilk kez 1980 yılında bildirilmiştir (38).

İnsülinin yapım yeri olan pankreasın β -hücrelerinden salınmasından, hedef hücrelerde beklenen etkilerini oluşturuncaya kadar olan aşamalarda ortaya çıkabilecek herhangi bir etki azalması olarak tanımlanabilir. Bu tanımlama insüline karşı biyolojik yanıt olarak, insülinin metabolik etkileri yanında (karbonhidrat, lipit ve protein metabolizması) mitojenik etkilerini de (büyüme, farklılaşma, DNA sentezi, gen transkripsiyonunun düzenlenmesi) kapsar. Ekzojen ya da endojen insüline karşı bozulmuş biyolojik yanıt mevcuttur (39).

İnsülin direnci ve normal glukoz toleransının sürdürüldüğü bu dönemde pankreas aşırı miktarda insülin salgılayarak uyum sağlanmaya çalışır. Ortaya çıkan hiperinsülinemi artmış trigliserid seviyelerine, artmış VLDL sekresyonuna, koagülasyon bozukluklarına, artmış damar direncine, steroid hormon düzeylerinde değişimlere, periferel kan akımında bozulmalara ve kilo alımına neden olur (32, 33).

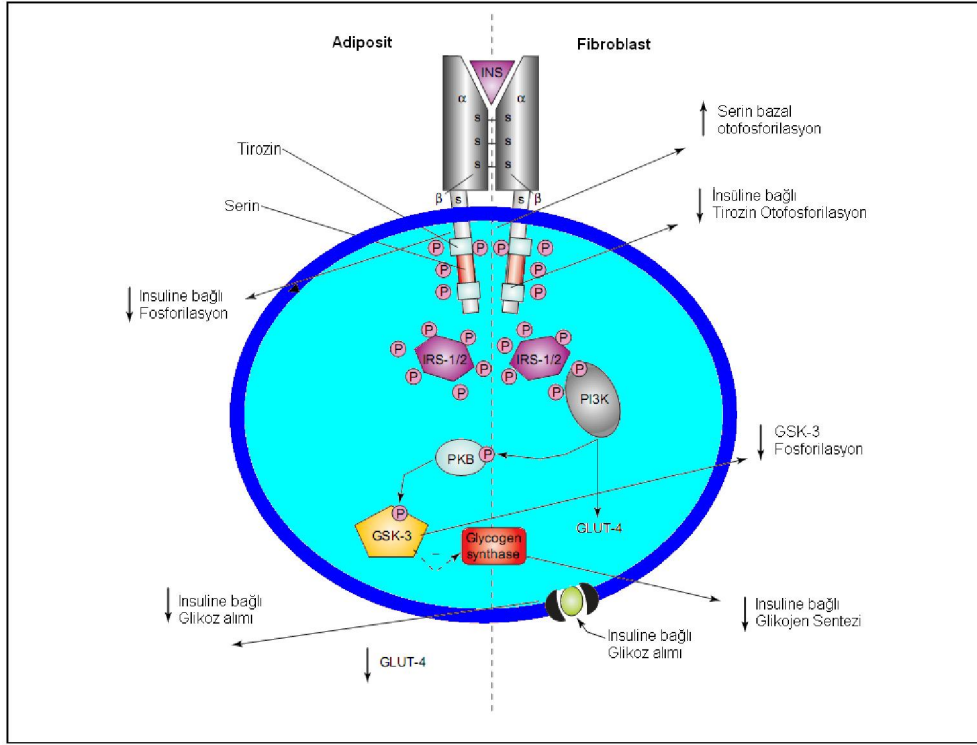
PKOS'lu kadınlarda insülin direnci reproduktif anomalilerle ilişkilidir. İnsülin direnci geniş popülasyonlu araştırmalarda insüline bağımlı glukoz emiliminin %10-25 azalması olarak tanımlanmıştır. PKOS'lu kadınlarda %70 civarında insülin

rezistansı görülmektedir. Prevalansı testin duyarlılığı ve özgüllüğü ile PKOS un heterojinetesine bağlıdır (17).

Obez PKOS'lu kadınlarda, obez olmayanlara göre insülin direnci daha belirgin hale gelmektedir. Adipozite ve hastalık semptomları arasında yakın ilişkinin yanında, orta derecede kilo kayıpları bile menstrüel düzen, fertilité ve hiperandrojenik özelliklerin iyileşmesinde etkili olabilmektedir. Çok sayıda PKOS hastasının, %38 - %88 arasında değişen oranlarda fazla kilolu veya obez oldukları bildirilmiştir (40).

PKOS' lu kadınlarda insülin patofizyolojisi henüz açıklık kazanmış değildir. İnsülin reseptör afinitesinde veya sayısında azalmaya rastlanmamıştır (39). Dunaif ve arkadaşları tarafından postreseptör defekt öne sürülmüştür. PKOS'lu hastaların fibroblastlarında yapılan çalışmalarda, insülin reseptör sayısı ve reseptörlerin insüline olan afiniteleri normal bulunmuştur. PKOS'luların %50'sinin fibroblast kültürlerinde, insülin reseptör β alt ünitesinde, bazal serin rezidülerinin otofosforilasyonunun arttığı, tirozin otofosforilasyonunun ise azaldığı gösterilmiştir (41).

İnsülin bir kez reseptöre bağlanınca spesifik tirozin rezidülerinin fosforilasyonu gerçekleşmektedir. Reseptörün intrasitoplazmik kısmının insülin reseptör-substrat-1 gibi diğer hücre içi substratların fosforilasyonuna izin vermektedir. Bu sayede adipoz doku ve iskelet kasında glukoz transporter protein-4 (GLUT-4) aracılığı ile hücre içine glukoz transportu sağlanmaktadır. İnsülin reseptörlerindeki tirozin rezidülerinin fosforilasyonu gerçekleşirken, reseptörde serin rezidüsü fosforile olduğunda, bu durum reseptördeki tirozin rezidülerinin fosforile olmasını engellemektedir. Serin fosforilasyonu meydana gelirse postreseptör etki inhibe olmakta ve GLUT-4 glukoz transportunu yapamamaktadır (42, 43) (Şekil 3).



Şekil 3: İnsülin reseptörü sinyal iletimi (39)

İnsülin Direnci Ölçümü

İnsülin direnci belirlemede altın standart öglisemik klemp metot olarak tanımlanmıştır (44). İnvaziv bir teknik olup uygulanması güçtür. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli invaziv olmayan yollar belirlenmiştir (Tablo 4) .

2003 Rotterdam konsensus kriterlerine insülin direncini tanımlamak için test belirlenmemiştir. İnsülin direnci ölçümü için $VKİ \geq 27$ ise OGTT yapılması önerilmiştir (17).Yapılan çalışmalarda HOMA-IR'nın insülin direncini tanımlamada en iyi korelasyonu ($r=0.88$) gösterdiği belirlenmiştir (45).

β hücre fonksiyonu ve insülin resistansının homeostatik model değerlendirmesi (Homeostatic Model Assessment-HOMA) ilk defa 1985 yılında

tanımlanmıştır. Bu teknik bazal glukoz, insülin veya C-peptid konsantrasyonundan β hücre fonksiyonu ve insülin direncini kantitatif değerlendirme metodudur. Bu modelde normal β hücre fonksiyonu %100 ve normal insülin direnci 1(bir) olarak düzenlenmiştir (46). İnsülin direnci yok diyebilmek için bu oranın 2.7 ve altında olması gerekmektedir (44).

Tablo 4: Kantitatif insülin direnci ölçüm yolları (47)

Öglisemik hiperinsülinemik klemp	İlk kez DeFronzo tarafından tarif edilmiştir. Periferik insülin direncini belirlemede altın standart olarak kabul edilir. Testin temel prensibi hiperinsülinemik bir ortam yaratarak, bu ortamda normoglisemi sağlamak amacıyla verilen glukozun kullanılma hızını saptamaya dayanır.
QUICKI (Quantitative Insulin Check Index)	$=1/\{\log[\text{İNSÜLİN}(uU/mL)] + \log[\text{GLUKOZ}(mg/dL)]\}$
HOMA-IR (Homeostatis model assesment for insulin resistance)	$= [\text{İNSÜLİN}(uU/mL) \times \text{GLUKOZ}(mmol/L)] / 22,5$ $= [\text{İNSÜLİN}(uU/mL) \times \text{GLUKOZ}(mg/dL)] / 405$
HOMA-B (Homeoastatis model assesment for beta cell function)	$=\% \{ [360 \times \text{İNSÜLİN}(uU/mL)] / [\text{GLUKOZ}(mg/dL) - 63] \}$

PKOS ve Yağ Dokusu

Sendromun dikkat çekici bulgularından biri de android tipte yağ dağılımıdır. Android tipte yağ dağılımı, yağ dokusunun esas olarak visceral ve abdominal subkutan dokuda birikmesi anlamına gelmektedir ve insülin direnciyle yakından ilişkilidir. VKİ'den bağımsız olarak, bu şekilde bir yağ dağılımının PKOS'lu hastaların yaklaşık %50-60'ını etkilediği düşünülmektedir (35).

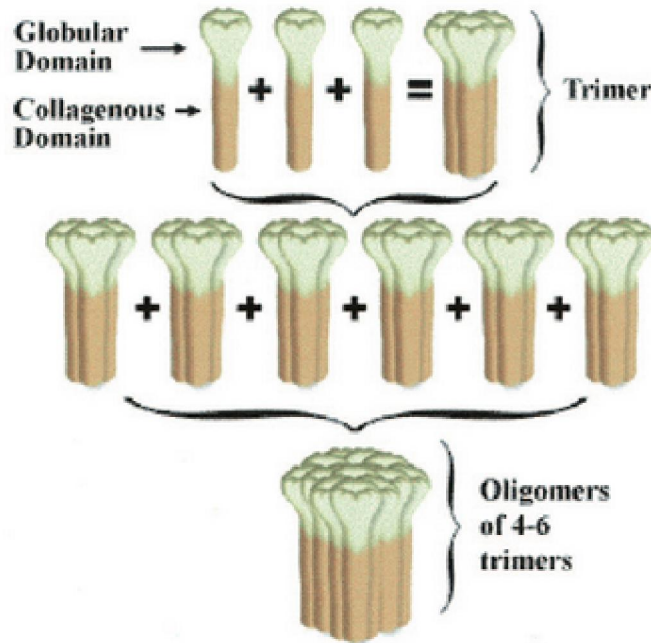
Adiponektin

Tarihçe

Adiponektin 1995 ve 1997 yıllarında dört bağımsız grup araştırmacı tarafından tanımlanmış ve bu nedenle de değişik isimlerle anılmıştır. Adiponektin ilk kez fare 3T3-L1 adipositlerinde gösterilmiştir. Aynı dönemde Hu ve arkadaşları bu maddeyi klonlayarak “adipoQ” adını vermişlerdir. Adiponektinin insan homoloğu, yağ dokusu DNA’sının “random sekans” klonlanması sırasında bulunmuş ve APM1 (adipose most abundant gene transcript) adı verilmiştir. Yine bu dönemde insan plazmasında saflaştırılan ve jelatin-selüloz resine yüksek afinitesi olan bir protein bulunmuş ve GBP28 (gelatin binding protein of 28 kDa) adı verilmiştir (48).

Yapısı

247 aminoasitten oluşan ve 30 kDa büyüklüğünde, kollajen VIII ve kompleman C1 benzeri bir plazma proteindir. Bu sitokin, kolajen VIII, X ve kompleman faktörü C1q ile yapısal bir homoloji göstermektedir. Çözünebilir savunma kollajen süper familyasına ait bir kolajen benzeri proteindir (49).



Şekil 4: Adiponektinin yapısı (50)

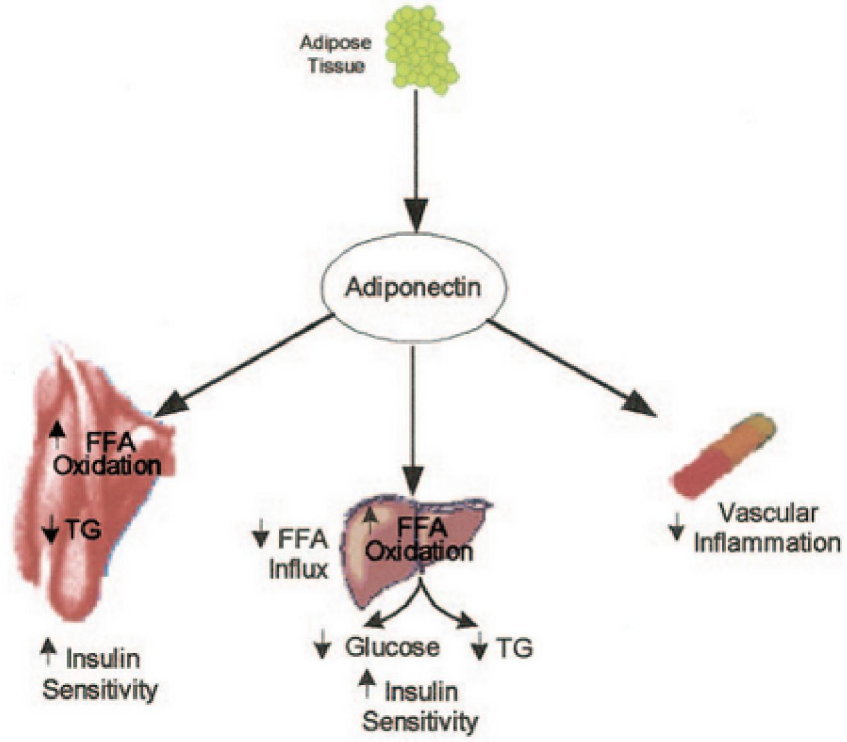
Proteinin NH₂- terminalinin ucunda bir sinyal sekansı vardır ve bunu kısa hiper değişken bir bölge izlemektedir; farklı türler arasında homoloji göstermeyen bir kollajen benzeri alan ve COOH-terminal ucunda bir C1q-benzeri globüler alan bulunmaktadır (51). Dolaşımında trimer, dimer ve daha fazla multimerler şeklinde bulunabilir (Şekil 4). Sentezini indükleyen bilinen tek doğal madde IGF-I'dir. Adipositler dışında kas hücreleri ve karaciğer hücreleri tarafından sentezlenebilir (52, 53).

Adiponektinin, iki farklı reseptörü (AdipoR1 ve AdipoR2) olduğu bilinmektedir. Bu reseptörlerin çeşitli dokulardaki dağılımları ve dolaşımdaki farklı özellikte olan adiponektin moleküllerine karşı afinitesi farklıdır (54). AdipoR1; globuler adiponektine yüksek afinite gösterirken, tam uzunluktaki moleküle afinitesi oldukça düşüktür. En çok iskelet kasında bulunur fakat endotel hücrelerinde ve diğer dokularda da bulunabilir. AdipoR2 ise her iki şekildeki adiponektin molekülüne orta derecede afinite gösterir ve daha çok karaciğerde bulunur. AdipoR1 ve AdipoR2 molekülleri integral membran proteinidir. Her iki reseptör homo ve heteromultimer oluşturabilir. Adiponektin reseptörleri fizyolojik olarak yağ asidi oksidasyonu ve glukoz tutulumuna aracılık eder (55).

Biyolojik İşlevi

Serum proteinlerinin %0.01'ini oluşturur. Bu ortalama 5-10µg/ml'dir ve birçok hormon düzeyine kıyasla oldukça çok sayılabilir (56).

Adiponektin insülin sensitize edici, anti-inflamatuar ve anti-aterojenik özellikleri olan yağ doku hücrelerinden salgılanan bir plazma proteindir. Genel popülasyonda insülin direnci ve obezite arttıkça adiponektin düzeylerinin azaldığı bilinmektedir (57) (Şekil 5).



Şekil 5: Adiponektinin işlevi (50)

Adiponektin ayrıca adenozin monofosfat (AMP) ile uyarılan protein kinazı uyararak adipositlerde ve kaslarda glukoz alımını artırır (58).

PKOS'lu hastalarda androjenlerin plazma adiponektin düzeyini azalttığı bildirilmiştir. Adiponektin, subkutan yağ dokusundan, viseral yağ dokusuna göre daha fazla salgılanır. Sağlıklı insanlarda kadınlardaki ortalama düzeyi erkeklerden yüksek bulunmuştur. Adiponektin düzeylerinin yaşla korelasyonu gösterilmiştir. Bu farklılığın pubertal gelişim sırasında, serum androjenlerinin etkisiyle oluştuğu varsayılmaktadır (59).

PKOS'lu hastalar benzer VKİ'li kontrolleri ile karşılaştırıldığında, adiponektin düzeyleri arasında fark gösterilememiştir. PKOS ve kontrol gruplarında adiponektin düzeyi obez olanlarda normal kilolulara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (60).

Obezitede dolaşımdaki adiponektin seviyesi azalırken, kilo verilmesiyle düzeyleri artar (61). Spranger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hem PKOS'lu hastalarda hem de kontrol grubundaki adiponektin düzeyinin, obezite ve insülin direncinin derecesi ile bağımsız olarak korelasyon gösterdiği bulunmuştur (62).

Adiponektin düzeyinin postprandial olarak artmasının obez ve insülin dirençli olgularda glukoz toleransını devam ettiren bir mekanizma olduğu öne sürülmüştür (63).

Adiponektin, miyelomonositer seri hücre öncüllerinin gelişimini inhibe eder. B lenfositlerinin gelişimini bloke eder ve olgun makrofajların fonksiyonlarını baskılar. Bu şekilde hematopoez ve immunité üzerine de etkiler göstermektedir (64).

Adiponektin, damar duvarında TNF- α üretimini baskılayarak, VCAM-1, ICAM-1 ve E-selektin gibi adezyon moleküllerinde azalmaya yol açar ve monosit adezyonunu inhibe eder. Makrofajların köpük hücrelerine dönüşümünü engeller ve büyüme faktörlerinin uyardığı düz kas hücrelerinin bu bölgeye göçü ve proliferasyonunu azaltır (65). Adiponektinin, erken aterojenik süreçte damar koruyucu özelliği olduğu söylenebilir.

Adiponektin İnsülin Direnci İlişkisi

Yağ dokuda üretilmesi nedeniyle obesitede artması beklenebilirken plasma adiponektinini ölçen kesitsel çalışmalarda obesite ile negatif korelasyonu tespit edilmiştir (61). Bu konuya hayvan çalışmaları ışık tutmuştur. Obesite ve tip 2 diyabeti olan hayvan çalışmasında adiponektin verilerek insülin direnci düzeltilmiştir

(66). Genleri degistirilerek, adiponektini fazla üreten farelerde insülin direnci kaybolmuştur (67).

Adiponektinin insülin direncini düzeltici etkisi konusunda öne sürülen mekanizmalardan biri hormonun iskelet kaslarında serbest yağ asidi oksidasyonunu arttırarak dolasımdaki serbest yağ asitlerini azaltmasıdır. Karaciğer üzerine etkisi ise serbest yağ asidi alımını azaltmaktır. Bu sayede karaciğerdeki trigliserid miktarı azalarak insulin sensitivitesinde artısa yol açar ve glukoz salınımı azalır (68).

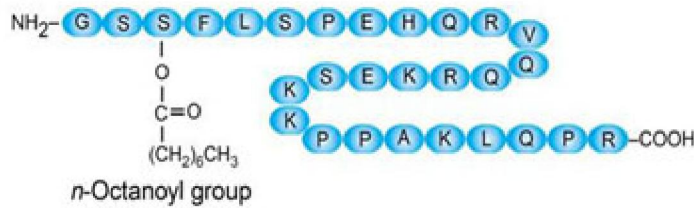
Ghrelın

Tarihçe

Ghrelın, ilk kez 1999 yılında, Kojima ve arkadaşları tarafından büyüme hormonu salgılatıcı reseptörün (GHS-R) endojen ligandı olarak farelerin midelerinde gösterilmiştir (69).

Yapısı

İnsanda ghrelın geni üçüncü kromozomda (3p25–26) saptanmıştır. İnsanda ghrelının prekürsörü pre-pro-ghrelındır. 117 aminoasit içerir. Pre-pro-ghrelın sekrete olmadan önce sitoplazmada enzimatik reaksiyona (parçalanma ve açılasyon) uğrar. 28 aminoasitten oluşan ghrelın meydana gelir. Moleküler ağırlığı ise 3314 daltondur . Ghrelın, 28 aminoasitlik bir lipopeptit yapılı bir peptiddir (70) (Şekil 6).



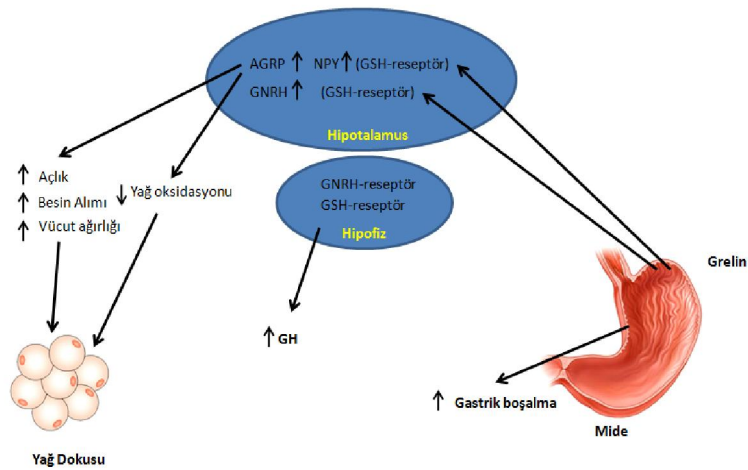
Şekil 6: Ghrelinin yapısı (70)

Başlıca mideden olmak üzere diğer dokulardan sentezlenmektedir. Ghrelin mRNA'sı hemen her dokuda tespit edilmekle birlikte, en çok mide fundusunda olduğu bilinmektedir. Vücut sıvılarında iki formda olduğu bilinmektedir. N-terminal ucundaki 3. amino asit olan serine bağlı oktanil yağ asidi içermektedir. Bu aktif olan ghrelindir. Yağ asidi içermeyen ise desaçile ghrelindir. Desaçile ghrelin toplam ghrelinin %80-90 mı oluşturmaktadır (70).

Biyolojik İşlevi

Birden çok işlevi olan bir hormon olsa da, başlıca üç etkisi; büyüme hormonu salınımı, iştah ve karbonhidrat metabolizması üzerinedir. Peptidin aktivitesindeki değişiklik, teorik olarak, boy, obezite ve karbonhidrat metabolizmasında değişikliklere yol açabilir (71). Orta yaşlı bireylerden ve ergenlerden oluşan geniş çaplı toplum temelli bir grupta, ghrelin ile IGF-I arasında olumsuz bir ilişki saptanmıştır (72).

Açlıkta ve yemekten sonra, ghrelin salgılanmasını kontrol eden mekanizmanın ne olduğu tam olarak bilinmemektedir. Sistemik ghrelin konsantrasyonları, in vivo besin alımından sonra hızla düşmektedir. Obez kişilerde, ghrelinin, yemekten sonra baskılanmasında önemli bir azalma söz konusudur; bu durum, tokluk hissi üzerinde etkili olarak, obeziteyi pekiştirebilir (73)



Şekil 7: Ghrelinin beslenme üzerindeki temel etki mekanizması (69)

İnsanlarda, besinlerin ön bağırsağa infüzyonunun, ghrelini baskılamada, mideye besin verilmesi kadar etkili olduğu görülmüştür (74).

Ghrelinin, pankreatik adacıklar da dahil olmak üzere çeşitli dokularda bulunur. Ancak, ghrelinin pankreastaki etki bölgeleri henüz tanımlanmamıştır. Çift floresanlı immünohistokimyasal inceleme, insülin içeren B hücrelerinde, GSH-R benzeri zayıf bir immün reaktivite bulunduğunu ortaya koymuştur. GSH-R immün reaktivite, glukagon benzeri immün reaktif hücrelerle çakışmıştır. Bu durum, ghrelinin, A hücrelerinde sentezlendiğini ve yine bu hücrelerden salındığını ve B hücreleri üzerinde, GSH-R üzerinden parakrin bir etki gösterdiğini düşündürmektedir (75).

Ghrelinin insülin salgılanması üzerindeki etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda, uyarıcı, bazılarında ise inhibitör etkiler gözlenmiştir. Eğer aktif ghrelinin etkisi, özel bir GSH-R antagonisti ile ortadan kaldırılırsa, açlık glukoz konsantrasyonları belirgin olarak azalır. Glukoz tolerans testi sırasında, insülin yanıtlarının artmış olduğu saptanır. Adacıklardaki endojen ghrelinin, B hücreleri üzerinde etki göstererek, insülinin glukoz ile indüklenen salınımını kısıtlar (75). Fetal pankreatik adacıklardaki ghrelinin benzersiz yapısal özellikleri yakın zamanda tanımlanmıştır ve ghrelinin hücreleri, yeni bir adacık hücresi tipidir (76).

Rezistin

Tarihçe

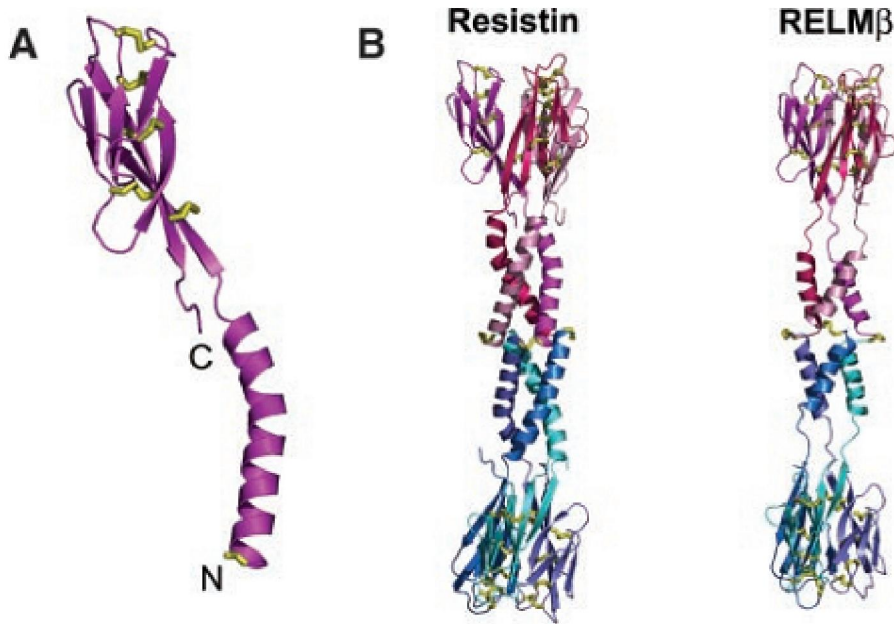
2001 yılında rezistin, antidiabetik ilaç olan thiazolidinedion mekanizması araştırılırken saptanmıştır. Rezistin iki bağımsız grubun aynı zamanda çalışmaları sonucu elde edilmiştir.

Steppan ve arkadaşları, FIZZ1 olarak rezistin benzeri proteinin ayırımını yapmıştır 2000 yılında Holcomb ve arkadaşları rezistin FIZZ3 olarak akciğer

inflamasyonu ile ilgili bir protein olarak saptamışlardır (77). Uluslararası komite tarafından adı; rezistin, FIZZ3, ADSF, RELM, FIZZ1, Retn1, adipofilin adları arasından, insülin direncindeki rolü nedeniyle rezistin olarak seçilmiştir (78).

Yapısı

Rezistin, Resistin like molecules (RELM) denilen bir protein ailesine aittir. Bu ailenin karakteristik özelliği C-terminal ucunda sisteinden zengin bir segment olmasıdır. Rezistin geni 19. kromozomda kodlanmaktadır. Fare yağ hücresinde yaklaşık 12,5 kDa ağırlığında ve 114 amino asitten oluşur. Sinyal peptit, değişken bölge ve c-terminal olmak üzere üç kısımdır (79).



Şekil 8: Rezistin. (A) Rezistin monomer (B) Trimer rezistin (C) Disülfid bağları açılmış şekli (79).

Rezistin disülfid trimerleri şeklinde sekrete edilir ve her dimerizasyon için tek bir sistein içermektedir (5) (Şekil 8). Memeli kan serumunda ölçülebilecek düzeyde bulunmuştur.

Biyolojik İşlevi

Rezistin ana kaynağı kemik iliği ve mononükleer hücrelerdir. Diyete bağlı obez farelerde, 8 hafta da rezistin düzeyi belirgin şekilde artmıştır. Obezite ve insülin direnci gelişmiş farelerde ob/ob ve db/db rezistin düzeyi yüksektir (5).

Hayvan deneylerinde, adiposit kültürlerine rekombinant rezistin uygulanması sonucu, insülinle uyarılan glukoz alımında bozulma olduğu; anti-rezistin antikorlarının ise bu bozulmayı engellediği görülmüştür. Benzer şekilde farelerde rekombinant rezistin ile in vivo tedavi sonucu, insülin direncinin arttığı, rezistin immunonötralizasyonu sonucunda ise tam tersi etkiler olduğu gözlenmiştir. Rezistin negatif feedback ile periferik etki ederek vücut yağ kitlesini düzenleyebilir. İnsanlarda ise obezite ve/veya insülin direnci ile rezistin ilişkisi tartışmalıdır (77).

Rezistin farede en yüksek miktarda dişi gonadal yağ dokusunda ve erkek epididimal beyaz yağ dokusunda bulunur. Obezitenin derecesi ile yağ hücresi rezistin mRNA miktarı arasında korelasyon saptanmıştır (77). Seow ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PKOS'lu hastalarda, serum rezistin düzeyleri kontrol hastaları ile benzer bulunmuştur (78).

İnsülin Direnci Olan İlişkisi

İnsülin direnci olan hayvan modellerinde rezistin ekspresyonunun arttığı görülmüştür ve bu bulgu rezistin, obezite ve insülin direnci arasındaki ilişkide potansiyel bir rol oynadığını düşündürmektedir (80).

Rezistinin intraperitoneal enjeksiyonları farelerde hedef hücrelerin glukoz toleransını azalttığı, insüline hassasiyeti körelttiği ve serum insülin düzeyini düşürdüğü böylece insülin direncini azalttığı görülmüştür (77). Ayrıca, öglisemik hiperinsülinemik koşullarda, rezistin infüzyonunun, hepatik insülin direncine yol açtığı tespit edilmiştir (81).

İnsanlarda yapılan rezistin ile ilgili çalışmalar ise çelişkili sonuçlar bildirilmektedir (82). Çok sayıda epidemiyolojik çalışmaya rağmen, insanlarda, yağ dokusu ile rezistin ekspresyonu arasında veya dolaşımdaki rezistin düzeyleri ile adipozite ya da insülin direnci arasında net ve tutarlı bir ilişki tespit edilememiştir (82).

Visfatin

Tarihçe

Visfatin, ilk olarak Samal ve ark. tarafından B lenfosit öncülleri için bir büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada, visfatinin, IL-7 ve kök hücre faktörünün B hücreleri üzerine olan etkilerini artırdığı belirlenmiş ve bu nedenle de, “pre-B hücre koloni artırıcı faktör”(Pre-B cell colony-enhancing factor; PBEF) olarak isimlendirilmiştir.

Bu protein-adipoz doku ilişkisi üzerinde yapılan çalışma 2005 yılında Fukuhara ve ark. tarafından yapılmıştır (83). Bu çalışmayla, PBEF olarak bilinen proteinin, hem insanlarda hem de farelerde visceral adipoz dokudan daha fazla salgılandığı ortaya konuldu. Visfatin adını visceral yağ dokusuyla olan bu ilişkisinden almıştır (83).

Yapısı

Visfatini kodlayan gen yedinci kromozomda yer alır. Fare ve insanlarda viseral yağ dokusundan subkutan yağ dokusuna göre daha fazla salınan 52 kDa ağırlığında ve 491 amino asit içerikli proteindir (83).

Biyolojik İşlevi

Visfatin endokrin, otokrin ve ayrıca parakrin çok sayıda fonksiyonu olan bir polipeptittir. Bu fonksiyonlar içinde hücre proliferasyonunun hızlandırılması, nikotinamid mono ve dinükleotid biyosentezi ve hipoglisemik etki vardır (84).

Erken B hücreleri için büyüme faktörüdür. İskelet kası, karaciğer ve immun hücrelerden de eksprese edilir Visfatinin insüline duyarlı hücrelerde insülin reseptörüne bağlanarak insülin benzeri etkiler gösterdiği ileri sürülmüştür. Bu etkilerin detaylandırılması için değişik hücre kültürlerinde incelenmiştir. 3T3-L1 adipositlerde ve L6 myositlerde glukoz alımını arttırdığı ve hepatositlerden glukoz salınımını azalttığı görülmüştür (83).

İnsülin Direnci İle Olan İlişkisi

İn vitro olarak insülin reseptörünü etkileyerek tirozin fosforilasyonunu arttırdığı, PI3K ve MAP kinaz yolağını uyardığı bildirilmiştir. İnsülin reseptörünü uyarmakla birlikte IGF-1 reseptörünün uyarması son derece zayıftır (83). Haider ve arkadaşları yağ hücresinde, glukozun visfatin salgısını arttırmak için PI3K/AKT yolunu kullandığını göstermişlerdir. İn-vitro ve in vivo olarak hiperglisemi ile bazal visfatin düzeyinin arttığını, insülin ve somatostatinin glukozun visfatini arttırıcı etkisini azalttığını saptanmıştır (85).

GEREÇ VE YÖNTEM

ÇALIŞMA GRUBU

Hasta Grubu

Ocak 2011 – Ekim 2011 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı tarafından PKOS tanısı konulan üreme çağındaki (18-40 yaş) gönüllü kadınlar arasından 53 kişi çalışmaya dahil edildi.

Kontrol grubu

Kontrol grubu, hasta grubuna yaş olarak benzer, PKOS hastalığını destekleyen klinik şikayet ve bulgusu olmayan, sağlıklı 42 bireyden oluşturuldu.

Etik kurul onayı

Çalışma öncesi Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'nun onayı alındı. (Etik Kurul Karar No: B.30.2.PAÜ.0.01.00.00.400-3/157). Ayrıca çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılara “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” [Ek 1] ile yapılacaklar hakkında bilgi verildi ve gönüllü olduklarına ilişkin imzaları ile izinleri alındı.

Hasta ve Kontrol Grubunun Seçilmesi

PKOS'lu hasta grubu seçiminde, 2003 Rotterdam ESHR/ASRM tanı kriterleri göz önünde bulunduruldu (17).

1. Oligo- veya anovulasyon
2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları

3. Ultrasonografik polikistik over görünümü

Tanı; diğer etiyolojik nedenler ekarte edildikten sonra, bu kriterlerden en az ikisinin varlığında konuldu. Oligo-anovulasyon, klinik olarak oligo-amenore (yılda 6'dan az sayıda adet görme veya gebelik yokluğunda 3 ay veya daha uzun süreyle adet görememe) varlığı ile belirlendi.

Hiperandrojenizmin klinik belirleyicisi olarak hirsutizm ve/veya akne varlığı esas alındı. Modifiye Ferriman Gallwey skorlama sistemi kullanılarak, hastaların hirsutizm skoru belirlendi. Skoru 8 ve üzerinde olan vakalarda, klinik olarak hiperandrojenizm olduğu kabul edildi (21).

Polikistik over görünümü tanısı 2003 Rotterdam konsensus kararı tanımlamasına göre bir overde 12 adet veya daha fazla 2-9 mm çapında follikül bulunması ve/veya over volümünün 10cm³'ün üzerinde olduğunda konuldu (2).

Kontrol grubu, klinik olarak adet düzensizliği ve hirsutizmi bulunmayan, biyokimyasal olarak hiperandrojenizm tespit edilmemiş, yaş ve vücut kitle indeksleri hasta grubu ile uyumlu sağlıklı kadınlardan oluşturuldu.

Dışlama Kriterleri

Diabetes mellitus, Cushing sendromu, androjen salgılayan tümörler ve geç başlangıçlı 21-hidroksilaz eksikliğini içeren endokrinopatisi olan hastalar, enfeksiyon hastalıkları, hipertansiyonu, tiroit disfonksiyonu, hiperprolaktinemisi, kronik karaciğer hastalığı bulunanlar, insülin salgılanmasını ve fonksiyonunu, seks

hormonları ve lipit profilini etkileyen veya değiştiren ilaç kullananlar, alkol ve sigara kullanicıları çalışma dışında tutuldu (17).

Adrenal bez ve overden kaynaklanan androjen salgılayan tümörleri elemek için DHEAS ve testosteron düzeyine bakıldı. Çalışma planlanırken testosteronun >300 ng/dl, DHEAS'nin >800μg/dl olan olgularda ileri araştırma yapılması planlandı. Ancak bu düzeylerin üzerinde olan olguya rastlanmadı. Çalışmaya alınan tüm olguların PRL, serbest T3, serbest T4 ve TSH düzeyleri normal sınırlar içindeydi.

Hasta rneklerinin Toplanması ve Analiz rneklerinin Hazırlanması

Tüm hastalardan erken foliküler fazda (adetin 2-5. günlerinde) 12 saat açlıktan sonra antekubital venöz kan örnekleri alındı. antikoagulan madde içermeyen tüplere aktarıldı. Alınan kan örnekleri 4000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Ependorf tüpler içinde çalışma zamanına kadar -20 C saklandı. Örnekler derin dondurucudan çıkarıldıktan sonra oda ısısına getirilerek çalışıldı.

Vücut Kitle İndeksinin Hesaplanması

Olguların ilk başvurusunda boy (m) ve kiloları (kg) llerek, kg/m² cinsinden VKİ hesaplandı. Bel evresi; umblikus noktası esas alınarak, kalça çevresi; büyük trokanter düzeyi esas alınarak lld. BKO oranları hesaplandı.

İnsülin Direncinin Hesaplanması

HOMA-IR, olguların insülin duyarlılığının değerlendirilmesinde kullanıldı.
HOMA-IR: [Açlık serum glukozu (mg/dL) x açlık serum insülin (μIU/mL)] / 405

formülü ile hesaplandı. HOMA-IR'nin 2,7 üzerindeki değerleri insülin direnci olarak kabul edildi (86).

Serbest Androjen İndeksinin Hesaplanması (SAİ)

Olguların biyokimyasal hiperandrojenizm açısından değerlendirilmesinde kullanılan metodlardan biri, ‘serbest androjen indeksi’nin belirlenmesi idi.

SAİ : { [Total testosteron (nmol/L) / SHBG(nmol/L)] x100} formülü ile hesaplandı (87). SAİ; 1,44 ve üzeri değerler pozitif olarak kabul edildi (37).

Ultrasonografik Ölçüm

Hastaların ultrasonografik ölçümleri, Pamukkale Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum anabilim dalı tarafından, transvajinal veya transabdominal USG kullanılarak yapıldı. Polikistik over görünümü tanısı, 2003 Rotterdam konsensus kararı tanımlamasına göre, en az bir overde 12 adet veya daha fazla 2-9 mm çapında folikül bulunması ve/veya en az tek taraflı over volümünün 10 cm³’ün üzerinde olduğunda konuldu.

ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

Bu çalışmada kullanılan cihazlar Pamukkale Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezinde ve Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Morfoloji binasında kullanıldı (Tablo 5).

Tablo 5: Çalışmada kullanılan cihazlar

-
- Masa üstü santrifüj (NF 1215, Nüve, Türkiye)
 - -20 °C Derin dondurucu (Beko, Türkiye)
 - +4 °C Buzdolabı (Vestel, Türkiye)
 - Ayarlanabilir otomatik pipet seti (1-10 µL, 10-100 µL, 100-1000 µL) (Brand, Almanya)
 - Çok kanallı otomatik pipet (30-300 µL) (CLP, ABD)
 - Mikroplate çalkalayıcı (Biosan, Türkiye)
 - ELISA okuyucu (RT-2100C, Rayto, Çin)
 - ELISA mikroplate yıkayıcı (RT-3100, Rayto, Çin)
 - Otoanalizör (Roche Cobas 6000, Roche-Hitachi Diagnostics, Japonya)
 - Otoanalizör (Roche Cobas E411 Roche-Hitachi Diagnostics, Japonya)
 - Otoanalizör (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA)
-

Analitler

Çalışmaya alınan bireylerin serumlarından rutin analizler yapıldı. Glukoz, insülin, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, total testosteron, SHGB, FSH, LH testlerini Pamukkale Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezinde (Tablo 6) çalışıldı.

Tablo 6: Ölçülen rutin analitlerin ölçüm yöntemleri ve ölçümde kullanılan cihazlar.

Analit	Analiz Örneği	Ölçüm Yöntemi	Kullanılan Cihaz
Glukoz	Serum	Kolorimetrik	Roche Cobas 6000
İnsülin	Serum	Elektrokemilüminesans	Roche Cobas E411
Total Kolesterol	Serum	Kolorimetrik	Roche Cobas 6000
HDL Kolesterol	Serum	Kolorimetrik	Roche Cobas 6000
LDL Kolesterol	Serum	Kolorimetrik	Roche Cobas 6000
Trigiserid	Serum	Kolorimetrik	Roche Cobas 6000
Total Testosteron	Serum	Elektrokemilüminesans	Roche Cobas E411
SHBG	Serum	Kemilüminesans	Immulate 2000
FSH	Serum	Elektrokemilüminesans	Roche Cobas E411
LH	Serum	Elektrokemilüminesans	Roche Cobas E411

Çalışmaya alınan bireylerin serumlarından araştırma analitleri olan adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin analizleri Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında çalışıldı (Tablo 7) (Tablo 8).

Tablo 7: Araştırma parametreleri kitleri

- Adiponectin Human Elisa Kit (Boster Immunoleader,China)
- Resistin Human Elisa Kit (Boster Immunoleader, China)
- Ghrelin Human Elisa Kit (Phoenix, USA)
- Visfatin Human Elisa Kit (Phoenix, USA)

Tablo 8: Ölçülen araştırma parametrelerinin yöntemleri ve kullanılan cihazlar

Adiponektin	Serum	ELISA	Rayto RT-2100C
Ghrelin	Serum	ELISA	Rayto RT-2100C
Rezistin	Serum	ELISA	Rayto RT-2100C
Visfatin	Serum	ELISA	Rayto RT-2100C

Rutin Analizler

Glukoz

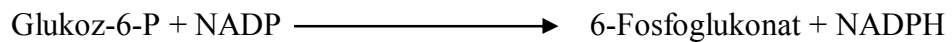
Hekzokinaz glukozun Glukoz-6-fosfata ATP ile fosforilasyonunu katalize eder. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, ortamda NADP bulunduğunda Glukoz-6-fosfatı glukonat-6-fosfata yükseltir . Başka karbonhidrat yükseltgenmez. Tüketilen her mikromol glukoz için bir mikromol NADH üretilir. Bu sırada oluşan absorbans farkı 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

Ölçüm Yöntemi: Enzimatik spektrofotometrik yöntem

Ölçüm İlkesi: Hekzokinaz/G-6-PDH (glukoz 6 fosfat dehidrojenaz)



Glukoz- 6-PDH



Referans Aralığı: 70-105 mg/dL (3.89 - 5.83 mmol/L)

İnsülin

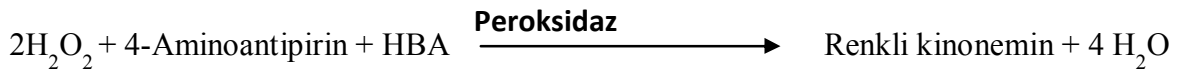
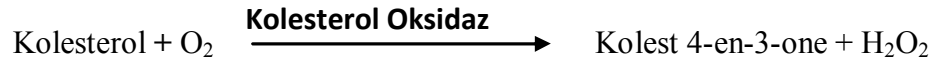
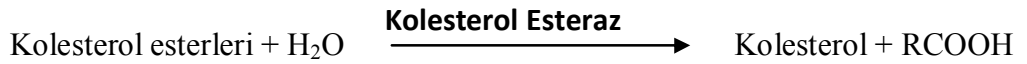
Ruthenyum bağlı elektrokemilüminesans immunölçüm yöntemi ile ölçüldü. İlk adımda örnek, biotinli monoklonal anti-insülin antikolar ve anti-insülin ruthenium etiketli antikolar ile karıştırılır. İlk inkübasyona geçilir. Streptavidin kaplı mikropartiküller ile oluşan karmaşık birleştirilir. Oluşan karışım ölçüm hücresinde mikropartiküller manyetik olarak elektrot ile yakalanır. Bağlanmamış maddeler yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Elektrot tarafından voltaj uygulanması ile oluşan kemilüminesans emisyon relatif ışık üniteleri (RLU) olarak ölçülür.

Total Kolesterol

Total kolesterol enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Kolesterol, kolesterol esteraz ile serbest kolesterol ve yağ asidi oluşturacak şekilde parçalanır. Kolesterol, kolesterol oksidazın yardımı ile oksijen tarafından kolest-4-en-3-one ve hidrojen peroksite dönüştürülür. Açığa çıkan hidrojen peroksidin 4-aminoantipirin ve hidroksibenzoik asitle (HBA) birleşmesiyle renkli bir bileşik olan kinonemin meydana gelir. Renkli bileşiğin absorbansı 500 nm'de spektrofotometrik olarak okunur.

Ölçüm Yöntemi: Kolorimetrik

Ölçüm İlkesi:



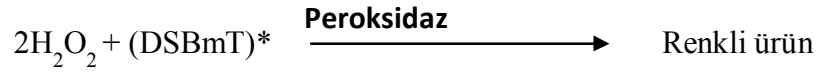
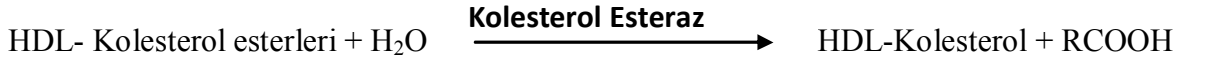
Referans Aralığı: < 200 mg/dl (5.18 mmol/L)'dir.

HDL Kolesterol

Homojen kolorimetrik enzim testidir. Magnezyum iyonları bulunduğunda, dekstran sülfat PEG ile modifiye edilmiş enzimlere karşı direnç gösteren LDL, VLDL ve şilomikronlar ile seçici olarak suda çözünür kompleksler meydana getirir .HDL kolesteroldeki kolesterol konsantrasyonu, amino gruplarına PEG bağlanmış kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz ile enzimatik olarak tayin edilir (yaklaşık %40).

Ölçüm Yöntemi: Kolorimetrik yöntem

Ölçüm İlkesi:



DSBmT: N, N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium

Referans Aralığı: < 200 mg/dl (5.18 mmol/L)'dir.

LDL Kolesterol

LDL Kolesterol test prensibi: VLDL- Kolesterol ve LDL Kolesterol düzeyi "Friedwald" formülüne göre hesaplandı. Serum trigliserid düzeyi 400 mg/dL'nin üzerinde olduğu zaman bu formül kullanılmamaktadır.

Test Prensibi: "Friedwald" formülü (Trigliserid düzeyi <400 mg/dL)

VLDL-kolesterol = Trigliserid/5

LDL-kolesterol = Total kolesterol - [(HDL-kolesterol) + (Trigliserid/5)]

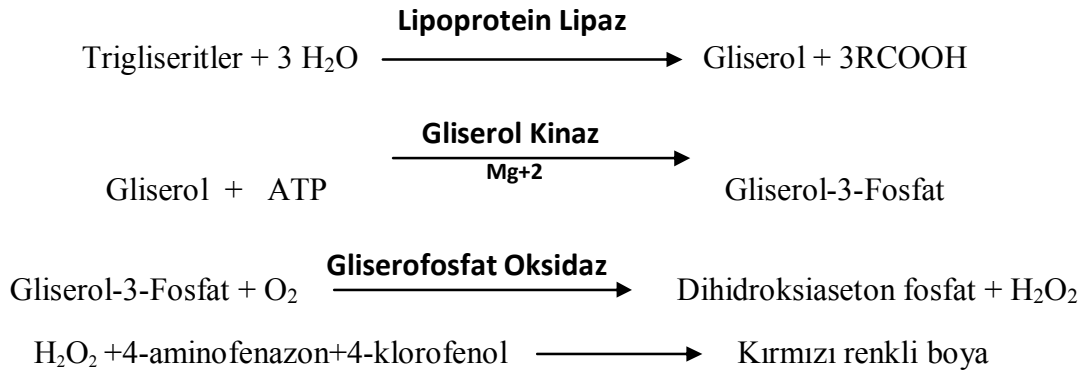
LDL-kolesterolün referans aralığı : 65-175 mg/dL (1,68-4,50 mmol/L)'dir.

Trigliserid

Bu yöntem, Wahlefeld tarafından yapılan ve trigliseridlerin gliserole hızlı ve tam hidrolizi, ardından dihidroksiaseton fosfat ve hidrojen peroksida yükseltgenmesi için mikroorganizmalardan elde edilen lipoprotein lipazın kullanıldığı çalışmaya dayanmaktadır. Oluşan hidrojen peroksit, peroksidazın katalitik etkisi altında 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile reaksiyona girip kırmızı bir boya maddesi oluşturur (Trinder bitim noktalı reaksiyon). Oluşan kırmızı boyanın renk yoğunluğu trigliserid ile doğru orantılıdır.

Ölçüm Yöntemi: Enzimatik kolorimetrik yöntem

Ölçüm İlkesi: Lipoprotein lipaz/Gliserol Kinaz



Referans değerleri: <150 mg/dL (1.70 mmol/L)

Total Testosteron

Solid fazlı, ruthenyum bağlı elektrokemilüminesans immunölçüm yöntemi ile ölçüldü. İlk adımda örnek, biotinli monoklonal anti-testosteron antikolar ve anti-testosteron ruthenyum etiketli antikolar ile karıştırılır. İlk inkübasyona geçilir. Streptavidin kaplı mikropartiküller ile oluşan kompleks birleştirilir. Oluşan karışım ölçüm hücresinde mikropartiküller manyetik olarak elektrot ile yakalanır. Bağlanmamış maddeler yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Elektrot tarafından voltaj uygulanması ile oluşan kemilüminesan emisyon relatif ışık üniteleri (RLU) olarak ölçülür.

SHBG

Solid fazlı, enzim bağı kemilüminesans immunölçüm yöntemi ile ölçüldü. Test ünitesi içine yerleştirilen polistiren boncuk, SHBG için özgün monoklonal murin antikoru ile kaplanmıştır. Hasta örneği ve protein/tampon matrisi test ünitesine eklenir ve 37 °C yaklaşık 20 dakika bekletilir. Bu sürede hasta örneğindeki SHGB monoklonal antikor kaplı boncuğa bağlanır, bağlanmayan serum sentrifugal yıkama ile ayrılır. Daha sonra alkalen fosfataz bağı poliklonal sığır anti-SHBG antikoru eklenir ve test ünitesi 20 dakika daha bekletilir. Bağlanmayan enzim konjugatı santrifugal yıkama ile ayrılır. Test ünitesine substrat eklenir ve 10 dk bekletilir. Kemilüminesans substrat alkalen fosfataz ile hidrolize olur ve ürün oluşur. Oluşan ürün etrafına ışın yayar. Yayılan ışın miktarı (fotonlar) luminometrede okutulur. Luminometrede okunan ışın miktarı ile örnek içindeki SHBG düzeyi doğru orantılıdır.

LH

Ruthenyum bağı elektrokemilüminesans immunölçüm yöntemi ile ölçüldü. İlk adımda örnek, biotinli monoklonal anti-LH antikorlar ve anti-LH ruthenium etiketli antikorlar ile karıştırılır. İlk inkübasyona geçilir. Streptavidin kaplı mikropartiküller ile oluşan kompleks birleştirilir. Oluşan karışım ölçüm hücresinde mikropartiküller manyetik olarak elektrot ile yakalanır. Bağlanmamış maddeler yıkanarak ortamdaki uzaklaştırılır. Elektrot tarafından voltaj uygulanması ile oluşan kemilüminesans emisyon relatif ışık üniteleri (RLU) olarak ölçülür.

FSH

Ruthenyum bağı elektrokemilüminesans immunölçüm yöntemi ile ölçüldü. İlk adımda örnek, biotinli monoklonal anti-FSH antikorlar ve anti-FSH ruthenium etiketli antikorlar ile karıştırılır. İlk inkübasyona geçilir. Streptavidin kaplı mikropartiküller ile oluşan kompleks birleştirilir. Oluşan karışım ölçüm hücresinde mikropartiküller manyetik olarak elektrot ile yakalanır. Bağlanmamış maddeler yıkanarak ortamdaki uzaklaştırılır. Elektrot tarafından voltaj uygulanması ile oluşan kemilüminesans emisyon relatif ışık üniteleri (RLU) olarak ölçülür.

Kalite Kontrol Sonuçları

Çalışmanın yürütüldüğü süre içinde glukoz, total kolesterol, HDL-kolesterol, trigliserid, insülin, total testosteron ve SHBG analitlerinin ölçümünde iç kalite kontrol ve dış kalite değerlendirme programları sonuçları değerlendirildi.

ELISA yöntemiyle tayin edilen parametreler

Adiponektin

Adiponektin düzeyleri “Boster Human Adiponectin ELISA” kiti kullanılarak serumdan Sandwich ELISA immün yöntemi ile çalışıldı.

Reaktifler

1. Antikor kaplı mikrotitrasyon stripleri (her biri 8 kuyucuklu 12 adet strip)
2. Örnek dilüsyon tamponu
3. Standart (human adiponectin)
4. Biotinli Anti-human adiponectin antikor solüsyonu
5. Antikor dilüsyon çözeltisi
6. Avidin-Biotin-Peroksidaz kompleks (ABC)
7. ABC dilüsyon tamponu
8. Düşük/Yüksek kontroller
9. TMB (Tetra metil benzidin) renk oluşturucu ajan
10. Durdurma çözeltisi (%1.96'lık sülfürik asit)

Adiponektin Reaktiflerinin Hazırlanması

Kit analiz öncesi 2-8 °C'de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C'ye getirildi. Liyofilize şekilde bulunan adiponektin standardı kullanımdan 15 dk önce 1 mL örnek dilüsyon tamponu ile çözülerek 100ng/mL'lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu çözülden seri dilüsyon ile 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 ve 0 ng/mL'lik standartlar hazırlandı. (Tablo 9)

Tablo 9: Adiponektin standartlarının hazırlanması

Standart Hacmi	Dilüsyon Tamponu	Düzy
Stok	-	100 ng/mL
Stoktan 300 µL	300 µL	50 ng/mL
50 pg/mL'den 300 µL	300 µL	25 ng/mL
25 ng/mL'den 300 µL	300 µL	12,5 ng/mL
12,5 pg/mL'den 300 µL	300 µL	6,25 ng/mL
6,25 pg/mL'den 300 µL	300 µL	3,13 ng/mL
3,16 pg/mL'den 300 µL	300 µL	1,56 pg/mL

Liyofilize şekilde bulunan Adiponektin düşük düzey kontrol ve yüksek düzey kontrol 0.8 mL dilüsyon tamponu ile çözülerek hazırlandı.

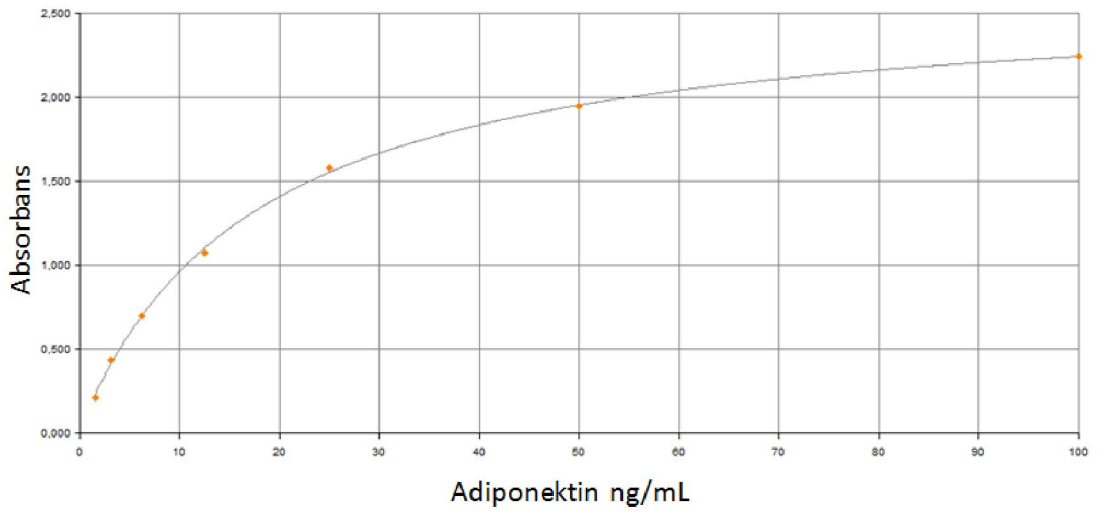
100 mL 10x yıkama tamponu 900 mL distile su ile 10 kat dilüe edilerek kullanıldı.

Adiponektin Çalışma Basamakları

1. Dondurularak saklanmış hasta serumları oda ısısına getirildi. Çözünmesi tamamlandıktan sonra santrifüj edilip 1/50 dilüe edildi.
2. Plakadaki kuyucuklara 100 uL standart, kontrol, dilüsyon tamponu (0 standart) ve serum örnekleri pipetlendi.
3. Kuyucuklar 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi.
4. Kuyucuklar boşaltılır.
5. Her kuyucuğa 100 uL biotinli anti-human adiponektin çözeltisi eklendi
6. Kuyucuklar 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.

7. Kuyucuklar boşaltılıp 300 uL yıkama tamponu ile her seferinde 1 dk kalacak şekilde 3 kez yıkandı
8. Her kuyucuğa 90 uL TMB substrat çözeltisi eklendi
9. Kuyucuklar 37 °C sıcaklığında karanlıkta 25-30 dakika bekletildi.
10. Her kuyucuğa 100 uL durdurma çözeltisi eklendi
11. 5 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri (OD) okundu.

$OD_{450} = [OD_{450} \text{ her kuyucuk} - OD_{450} 0 \text{ standart}]$; formülasyonu ile hesaplanarak çalışılan adiponektin standartları ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 9). Örneklerin değerleri hesaplandı. Kontrol düzeylerinin kit prospektüsünde verilen aralık içerisinde olduğu görüldü.



Şekil 9: Adiponektin kalibrasyon eğrisi

Ghrelın

Ghrelın düzeyleri “Phoenix Human Ghrelın EIA ” kiti kullanılarak serumdan Competitive ELISA immün yöntemi ile çalışıldı.

Reaktifler

1. Antikor kaplı mikrotitrasyon stripleri (her biri 8 kuyucuklu 12 adet strip)
2. 20x Test tamponu
3. Standart (human ghrelın)
4. Biotinli Anti-human ghrelın antikor solüsyonu
5. Primer antikor zeltisi (Tavşan anti-peptit IgG)
6. Streptavidin-Peroksidaz zeltisi
7. Pozitif kontrol
8. TMB (Tetra metil benzidin) renk oluşturucu ajan
9. Durdurma zeltisi 2N HCl

Ghrelın Reaktiflerinin Hazırlanması

Kit analiz ncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm ncesi 18-28 °C’ye getirildi. 20x konsantre test tamponu 950 ml distile su ile sulandırılır. Liyofilize şekilde bulunan ghrelın standardı kullanımdan 15 dk önce 1 mL test tamponu ile çözülerek 1000ng/mL’lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu zeltiden seri dilüsyon ile 100, 10, 1, 0,1 ng/mL’lik standartlar hazırlandı (Tablo 10).

Tablo 10: Ghrelın standartlarının hazırlanması

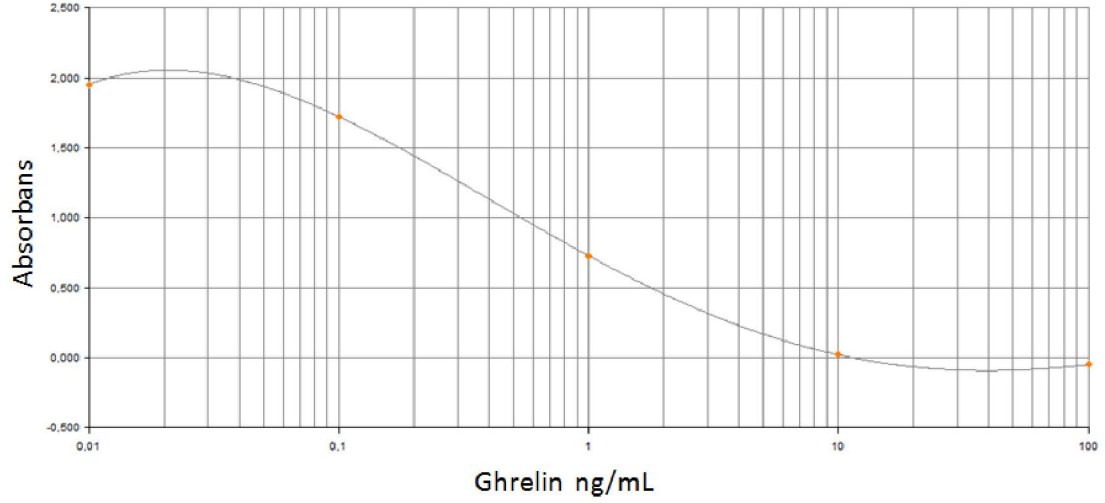
Standart Hacmi	Test Tamponu	Düzey
Stok	-	1000 ng/mL
Stoktan 100 µL	900 µL	100 ng/mL
100 ng/mL’den 100 µL	900 µL	10 ng/mL
10 ng/mL’den 100 µL	900 µL	1 ng/mL
1 ng/mL’den 100 µL	900 µL	0,1 ng/mL
0,1 ng/mL’den 100 µL	900 µL	0,01 ng/mL

Primer antikor çözeltisi 5 mL test tamponu ile sulandırıldı. Biotinli peptit çözeltisi 5 mL test tamponu ile sulandırılır. Pozitif kontrol viyali 200 uL test tamponu ile sulandırılır.

Ghrelın Çalışma Basamakları

1. Dondurularak saklanmış hasta serumları oda ısısına getirildi. Çözünmesi tamamlandıktan sonra santrifüj edildi.
2. Plakadaki kör kuyucuğu boş bırakıldı. Total bağlama kuyucukları olan B1 ve B2 ye 50 uL test tamponu konuldu. Diğer kuyucuklara 50 uL standart, kontrol ve serum örnekleri konuldu.
3. Hemen arkasından hazırlanan primer antikor çözeltisinden 25uL kör bulunan kuyucuk hariç hepsine konur.
4. Biotinli peptit solüsyonu kör kuyucuğu hariç diğer kuyucuklara 25 uL konuldu.
5. Kuyucuklar 25 °C'de 120 dakika inkübe edildi.
6. Tüm kuyucuklara 350 uL test tamponu konarak 4 kere yıkandı.
7. Her kuyucuğa 100 uL Streptavidin-HRP çözeltisi konuldu.
8. Kuyucuklar 25 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
9. Tüm kuyucuklara 350 uL test tamponu konarak 4 kere yıkandı.
10. Her kuyucuğa 100 uL TMB substrat çözeltisi eklendi
11. Kuyucuklar 25 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
12. Her kuyucuğa 100 uL durdurma çözeltisi eklendi
13. 20 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu

Çalışılan ghrelin standartları ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 10). Örneklerin değerleri hesaplandı. Kontrol düzeylerinin kit prospektüsünde verilen aralık içerisinde olduğu görüldü.



Şekil 10: Ghrelin kalibrasyon eğrisi

Rezistin

Rezistin düzeyleri “Boster Human Resistin ELISA” kiti kullanılarak serumdan Sandwich ELISA immün yöntemi ile çalışıldı.

Reaktifler

1. Antikor kaplı mikrotitrasyon stripleri (her biri 8 kuyucuklu 12 adet strip)
2. Örnek dilüsyon tamponu
3. Standart (human resistin)
4. Biotinli Anti-human rezistin antikor solüsyonu
5. Antikor dilüsyon çözeltisi
6. Avidin-Biotin-Peroksidaz kompleks (ABC)
7. ABC dilüsyon tamponu
8. Düşük/Yüksek kontroller
9. TMB (Tetra metil benzidin) renk oluşturucu ajan
10. Durdurma çözeltisi (%1.96'lık sülfürik asit)

Rezistin Reaktiflerinin Hazırlanması

Kit analiz öncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C’ye getirildi. Liyofilize şekilde bulunan rezistin standardı kullanımdan 15 dk önce 1 mL örnek dilüsyon tamponu ile çözülerek 2500pg/mL’lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden seri dilüsyon ile 2500, 1250, 625, 312, 156, 78 ve 0 pg/mL’lik standartlar hazırlandı (Tablo 11).

Tablo 11: Rezistin standartlarının hazırlanması

Standart Hacmi	Dilüsyon Tamponu	Düzy
Stok	-	5000 pg/mL
Stoktan 300 µL	300 µL	2500 pg/mL
2500 pg/mL’den 300 µL	300 µL	1250 ng/mL
1250 ng/mL’den 300 µL	300 µL	625 ng/mL
625 pg/mL’den 300 µL	300 µL	312 ng/mL
312 pg/mL’den 300 µL	300 µL	156 ng/mL
156 pg/mL’den 300 µL	300 µL	78 pg/mL

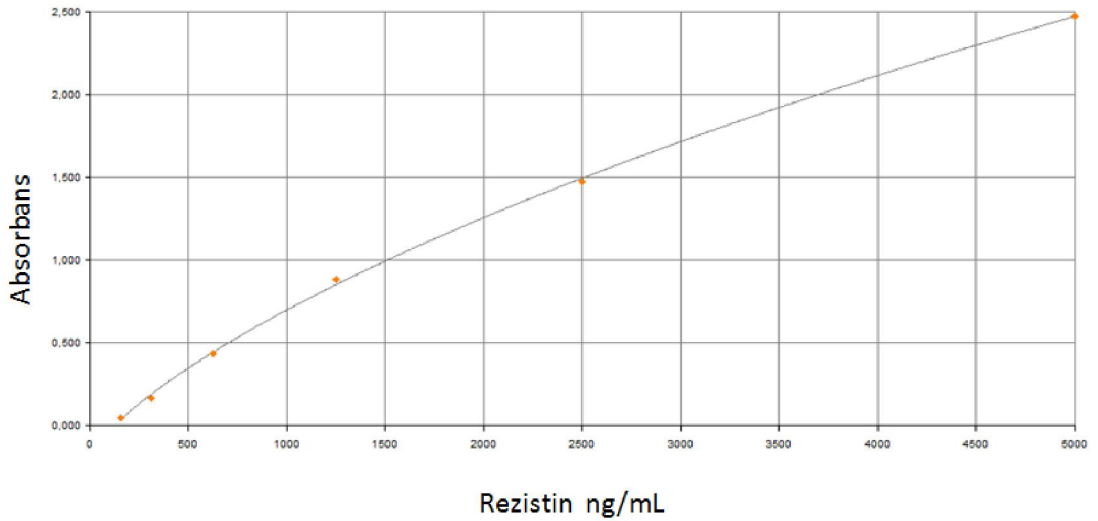
Liyofilize şekilde bulunan rezistin düşük düzey kontrol ve yüksek düzey kontrol 0.8 mL dilüsyon tamponu ile çözülerek hazırlandı. 100 mL 10x yıkama tamponu 900 mL distile su ile 10 kat dilüe edilerek kullanıldı.

Rezistin Çalışma Basamakları

1. Dondurularak saklanmış hasta serumları oda ısısına getirildi. Çözünmesi tamamlandıktan sonra santrifüj edilip 2 kat dilüe edildi.
2. Plakadaki kuyucuklara 100 uL standart, kontrol, dilüsyon tamponu (0 standart) ve serum örnekleri pipetlendi.
3. Kuyucuklar 37 °C 90 dakika inkübe edildi.
4. Kuyucuklar boşaltılır.

5. Her kuyucuğa 100 uL biotinli ant-human rezistin çözeltisi eklendi
6. Kuyucuklar 37 °C 60 dakika inkübe edildi.
7. Kuyucuklar boşaltılıp 300 uL yıkama tamponu ile her seferinde 1 dk kalacak şekilde 3 kez yıkandı
8. Her kuyucuğa 90 uL TMB substrat çözeltisi eklendi
9. Kuyucuklar 37 °C sıcaklığında karanlıkta 25-30 dakika beklenildi.
10. Her kuyucuğa 100 uL durdurma çözeltisi eklendi
11. 5 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

$O.D._{450} = [O.D._{450} \text{ her kuyucuk} - O.D._{450} 0 \text{ standart}]$; formülasyonu ile hesaplanarak çalışılan rezistin standartları ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 11). Örneklerin değerleri hesaplandı. Kontrol düzeylerinin kit prospektüsünde verilen aralık içerisinde olduğu görüldü.



Şekil 11: Rezistin kalibrasyon eğrisi

Visfatin

Visfatin düzeyleri “Phoenix Human Visfatin ELISA” kiti kullanılarak serumdan Sandwich ELISA immün yöntemi ile çalışıldı.

Reaktifler

1. Antikor kaplı mikrotitrasyon stripleri (her biri 8 kuyucuklu 12 adet strip)
2. 20x Test tamponu
3. Standart (human visfatin)
4. Biotinli Anti-human visfatin antikor solüsyonu
5. Primer antikor çözeltisi
6. Streptavidin-Peroksidaz çözeltisi(ABC)
7. Pozitif kontrol
8. TMB (Tetra metil benzidin) renk oluşturucu ajan
9. Durdurma çözeltisi (%1.96’lık sülfürik asit)

Visfatin Reaktiflerinin Hazırlanması

Kit analiz öncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C’ye getirildi. 20 kat konsantre test tamponu 950 ml distile su ile sulandırılır. Liyofilize şekilde bulunan visfatin standardı kullanımdan 15 dk önce 1 mL test tamponu ile çözülerek 1000ng/mL’lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden seri dilüsyon ile 100; 10; 1; 0,1 ng/mL’lik standartlar hazırlandı (Tablo 12).

Tablo 12: Visfatin standartlarının hazırlanması

Standart Hacmi	Test Tamponu	Düzye
Stok	-	1000 ng/mL
Stoktan 100 µL	900 µL	100 ng/mL
100 ng/mL’den 100 µL	900 µL	10 ng/mL
10 ng/mL’den 100 µL	900 µL	1 ng/mL
1 pg/mL’den 100 µL	900 µL	0,1 ng/mL

Liyofilize şekilde bulunan Visfatin pozitif düzey kontrol 200 uL test tamponu ile çözülerek hazırlandı. Konsantre primer antikor çözeltisinden 100 uL alınarak 2.5 mL test tamponunda dilüe edilerek, 1:25 dilüsyon yapılmış olur. Konsantre biotinli peptit solüsyonu da aynı şekilde hazırlanır. Biotinli peptit konsantresinden 100 uL alınarak 2,5 mL test tamponu içinde çözündürüldü. Streptavidin-HRP konsantresinden 12 uL alınarak 12 mL test tamponunda çözündürüldü.

Visfatin Çalışma Basamakları

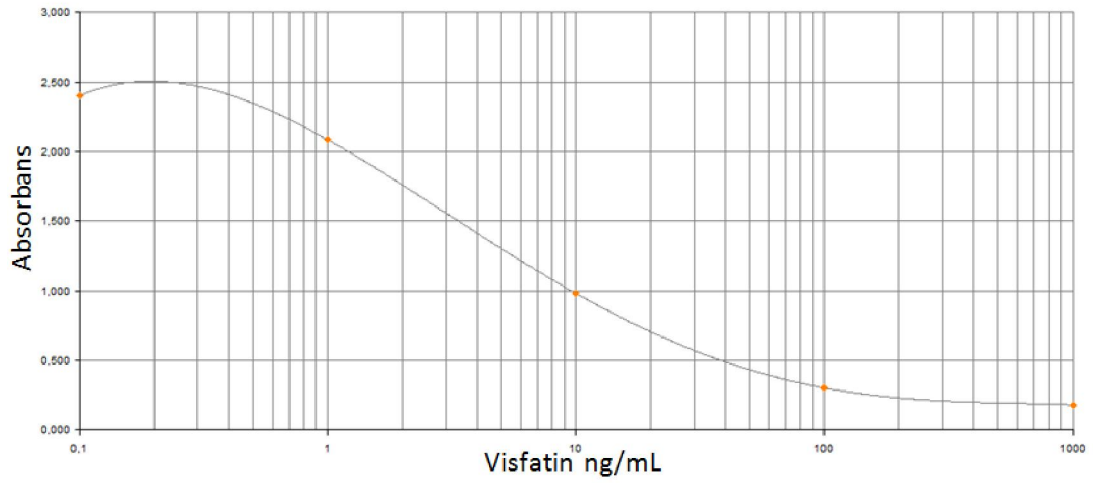
1. Dondurularak saklanmış hasta serumları oda ısısına getirildi. Çözünmesi tamamlandıktan sonra santrifüj edildi.
2. Her kuyucuğa 300 uL test tamponu ile 5 dk yıkandı.
3. Pozitif kontrol 200 uL ile dilüe edildi. Beş dakika beklendi.
4. Plakadaki kör kuyucuğu boş bırakıldı. Total bağlama kuyucukları olan B1 ve B2 ye 50 uL test tamponu konuldu. Diğer kuyucuklara 50 uL standart, kontrol ve serum örnekleri konuldu.
5. Hemen arkasından hazırlanan primer antikor çözeltisinden 25uL kör bulunan kuyucuk hariç hepsine konur.
6. Biotinli peptit solüsyonu kör kuyucuğu hariç diğer kuyucuklara 25 uL konuldu.
7. Kuyucuklar 25 °C'de 120 dakika inkübe edildi.
8. Tüm kuyucuklara 350 uL test tamponu konarak 4 kere yıkandı.
9. Her kuyucuğa 100 uL Streptavidin-HRP çözeltisi konuldu.
10. Kuyucuklar 25 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
11. Tüm kuyucuklara 350 uL test tamponu konarak 4 kere yıkandı.
12. Her kuyucuğa 100 uL TMB substrat çözeltisi eklendi

13. Kuyucuklar 25 °C’de 60 dakika inkübe edildi.

14. Her kuyucuğa 100 uL durdurma çözeltisi eklendi

15. 20 dakika içinde ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu

Çalışılan visfatin standartları ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu (Şekil 12). Örneklerin değerleri hesaplandı. Kontrol düzeylerinin kit prospektüsünde verilen aralık içerisinde olduğu görüldü.



Şekil 12: Visfatin kalibrasyon eğrisi

İstatistiksel Analiz

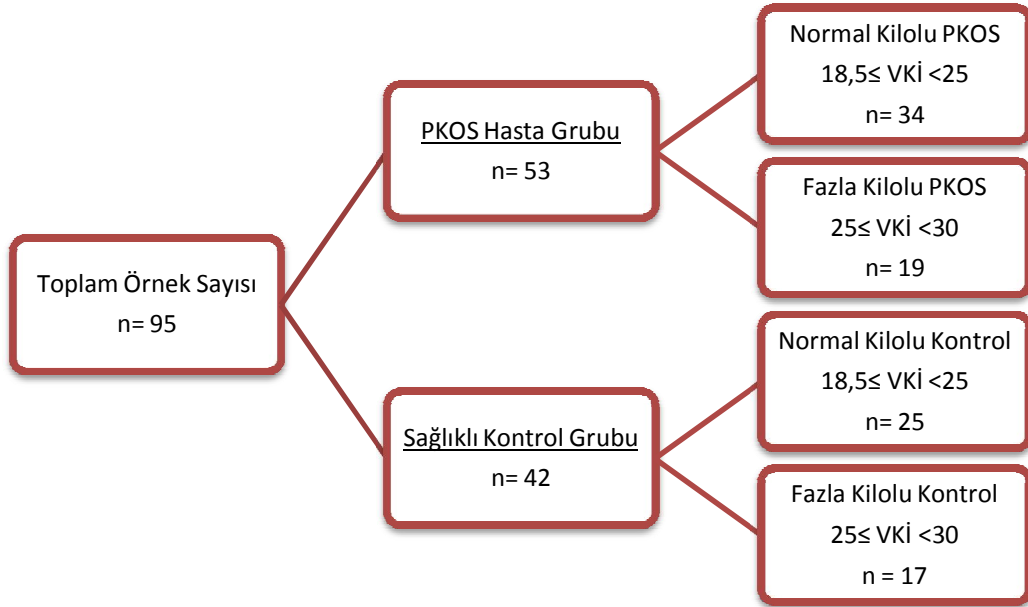
Verilerin kaydında Microsoft Excel, istatistiksel analizlerinde ise SPSS 15.0 (Chicago, ABD) istatistik programları kullanıldı. Tüm verilerin normal dağılıma uygunluk testleri yapıldı. Normal dağılıma uygunluğun sağlanamadığı analizlerde, verilerin logaritma cinsinden değerleri hesaplanarak, normal dağılıma uygun hale getirildi. Veriler ortalama \pm SD olarak verildi. Düzeyler aritmetik ortalama \pm standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak belirtildi.

Verilerin analizinde independent sample t test; bağıntı analizi için de Pearson korelasyon analizi ve normal dağılımın sağlanamadığı analizlerde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Ölçümsel olmayan değişkenler için Kikare testi kullanıldı. Her analizde p değerinin $<0,05$ olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

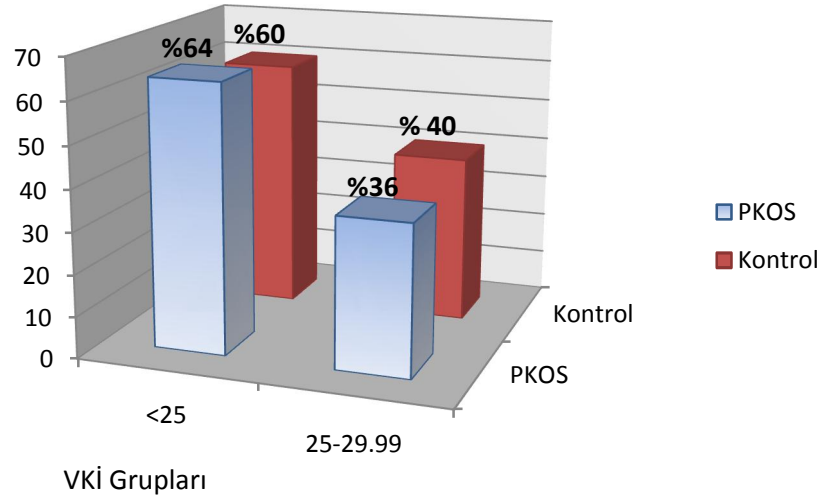
Değişkenler arasındaki ilişkinin gücünü belirlemek amacıyla korelasyon analizi yapıldı. Korelasyon analizinde r (Pearson korelasyon katsayısı) değeri 0,000-0,49 aralığı zayıf ilişki, 0,50-0,69 aralığı orta ilişki, $\geq 0,70$ olanlar güçlü ilişki olarak kabul edildi.

BULGULAR

Pamukkale Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılan bu prospektif, kontrollü, klinik çalışmaya PKOS tanısı almış 53 hasta ile kontrol grubunda yer alan 42 sağlıklı olgu dahil edildi. Çalışmaya alınan toplam olgu sayısı 95 idi. Hasta ve kontrol grubunda yer alan olgular, vücut kitle indekslerine göre; normal kilolu (VKİ: 18,5-24.9), fazla kilolu (VKİ: 25-29,9) olmak üzere iki alt bölümde gruplandırıldı. Buna gruplandırmaya göre çalışmaya; 34 normal kilolu, 19 fazla kilolu PKOS'lu hasta dahil edildi. Kontrol grubuna; 25 normal kilolu, 17 fazla kilolu dahil edildi (Şekil 13).



Şekil 13: Çalışmada kullanılan örneklerin gruplandırılması



Şekil 14: PKOS ve kontrol gruplarının VKİ'ne göre frekansları

PKOS'lu grubun 19/53 ü % 36 sı VKİ \geq 25 üzerindedi. 34/53'ü olan %64'ü ise VKİ<25 altında kaldı. Kontrol grubunda benzer özelliklerde olduğu görüldü.

Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri Tablo 13'de gösterildi. PKOS'lu hasta ve kontrol grubu arasında yaş ($p=0,125$) ve VKİ ($p=0,406$) açısından istatistiksel fark saptanmadı ($p>0,05$). Ferriman Galleway skoru açısından gruplar arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,001$).

Tablo 13: Hasta ve kontrol grubunun özelliklerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Kontrol Grubu n = 53 ($\bar{X} \pm SD$)	PKOS Hasta Grubu n = 42 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Yaş	22,98 \pm 3,9	21,64 \pm 4,3	0,125
VKİ (kg/m ²)	23,92 \pm 4,93	24,78 \pm 5,02	0,406
BKO	0,77 \pm 0,05	0,77 \pm 0,05	0,718
Bel çevresi (cm)	78,43 \pm 10,3	78,22 \pm 11,6	0,926
Kalça çevresi (cm)	101,82 \pm 10,8	100,61 \pm 11,7	0,673
mFGS	3,52 \pm 2,4	10,80 \pm 6,1	0,000*

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, $p<0,005$

Diğer demografik özellikleri olan bel çevresi, BKO ve kalça çevresi yönünden değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla p=0,718; p=0,926; p=0,673).

PKOS hasta grubu ile kontrol grubu arasında insülin (p=0.021), HOMA-IR insülin direnci (p=0,022), total testosteron (p=0,000), serbest androjen indeksi (p=0,000), FSH (p=0,000), LH (p=0,001) ve LH/FSH oranı (p=0,000), adiponektin (p=0,040), ghrelin (p=0,041), rezistin (p=0,023) ve visfatin (p=0,024) arasında anlamlı fark bulundu. Diğer testler açısından anlamlı fark saptanmadı (p>0,05) (Tablo 14).

Tablo 14:Hasta ve kontrol grupları parametrelerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Kontrol Grubu n = 53 ($\bar{X} \pm SD$)	PKOS Hasta Grubu n = 42 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Glukoz (mg/dL)	85,6 ± 9,4	86,3 ± 10,8	0,286
İnsülin (mIU/ml)	7,77 ± 3,6	9,2 ± 3,3	0,021*
HOMA-IR	1,63 ± 0,7	1,97 ± 0,7	0,022*
Total kolesterol (mg/dL)	153,5 ± 22,2	163,1 ± 29,5	0,617
HDL-Kolesterol (mg/dL)	53,4 ± 9,8	59,5 ± 13,6	0,301
LDL-Kolesterol (mg/dL)	80,6 ± 17,4	90,06 ± 26,7	0,322
Trigiserid (mg/dL)	74,76 ± 45,2	67,78 ± 37,9	0,270
T. Testosteron (ng/ml)	0,25 ± 0,12	0,42 ± 0,17	0,000*
SHBG (nmol/L)	59,0 ± 22,7	50,36 ± 37,3	0,098
SAİ	1,87 ± 1,6	3,85 ± 2,2	0,000*
FSH (mIU/mL)	7,17 ± 2,4	5,88 ± 1,5	0,000*
LH (mIU/mL)	5,9 ± 1,84	9,13 ± 4,4	0,001*
LH/FSH	0,89 ± 0,35	1,56 ± 0,72	0,000*
Adiponektin (ng/ml)	1819,94±417,71	1585,96±327,31	0,040*
Ghrelin (ng/ml)	5,92±1,84	6,87±2,58	0,041*
Rezistin (ng/ml)	3,16±0,78	3,50±0,63	0,023*
Visfatin (ng/ml)	28,38±18,66	20,96±10,06	0,024*

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, p<0.005

Normal kilolu PKOS'lu hasta ve normal kilolu kontrol grubu arasında yaş ve VKİ açısından istatistiksel fark saptanmadı ($p>0,05$). Ferriman Gallawey skoru açısından anlamlı fark vardı ($p=0,000$). Diğer demografik özellikleri olan bel çevresi, BKO ve kalça çevresi yönünden değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0,279$; $p=0,176$; $p=0,458$) (Tablo 15).

Tablo 15: Normal kilolu PKOS ve normal kilolu kontrol gruplarının özelliklerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Normal Kilolu Kontrol Grubu n = 34 ($\bar{X} \pm SD$)	Normal Kilolu PKOS Hasta Grubu n = 25 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Yaş	21,28±2,93	20,94±2,93	0,441
VKİ (kg/m²)	21,96±1,50	21,16±1,84	0,181
BKO	0,75±0,041	0,76±0,058	0,176
Bel çevresi(cm)	74,32±5,5	74±7,0	0,279
Kalça çevresi(cm)	98,3±5,6	97±6,7	0,458
mFGS	3,76±2,61	10,26±6,86	0,000*

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, $p<0.005$

Normal kilolu PKOS'lu hastaların açlık kan şekeri, açlık insülin ve HOMA-IR normal kilolu kontrol grubundan yüksek bulundu ancak anlamlı değildi ($p>0,05$)

PKOS hasta grubu ile kontrol grubu arasında serbest androjen indeksi ($p=0,000$), FSH ($p=0,000$), LH ($p=0,001$) ve LH/FSH oranı ($p=0,000$) arasında anlamlı fark bulundu. Diğer testler açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Normal kilolu PKOS'lu hasta ve normal kilolu kontrol grubu arasında serum adiponektin ($p=0,003$) ve visfatin ($p=0,015$) düzeyleri açısından anlamlı fark saptandı. Ghrelin ve rezistin düzeyleri açısından istatistiksel anlamda fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 16).

Tablo 16:Normal kilolu PKOS ve normal kilolu kontrol grubunun parametrelerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Normal Kilolu Kontrol Grubu n = 34 ($\bar{X} \pm SD$)	Normal Kilolu PKOS Hasta Grubu n = 25 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Glukoz (mg/dL)	85,61 ± 9,42	86,25 ± 10,80	0,294
İnsülin (mIU/ml)	7,76 ± 3,62	9,21 ± 3,34	0,118
HOMA-IR	1,63 ± 0,73	1,97 ± 0,76	0,093
Total kolesterol (mg/dL)	153,46 ± 22,19	163,134 ± 29,5	0,175
HDL-Kolesterol (mg/dL)	59,41 ± 9,87	53,51 ± 13,66	0,063
LDL-Kolesterol (mg/dL)	80,64 ± 17,40	90,06 ± 26,71	0,130
Trigiserid (mg/dL)	74,76 ± 45,2	67,78 ± 37,9	0,428
T. Testosteron (ng/ml)	0,25 ± 0,12	0,42 ± 0,17	0,000*
SHBG (nmol/L)	59,0 ± 22,7	50,36 ± 37,3	0,309
SAİ	1,87 ± 1,6	3,85 ± 2,2	0,000*
FSH (mIU/mL)	7,17 ± 2,4	5,88 ± 1,5	0,000*
LH (mIU/mL)	5,9 ± 1,84	9,13 ± 4,4	0,001*
LH/FSH	0,89 ± 0,35	1,56 ± 0,72	0,000*
Adiponektin (ng/ml)	1910,79±391,36	1609,01±314,55	0,003*
Ghrelin (ng/ml)	6,12±1,83	7,05±2,61	0,111
Rezistin (ng/ml)	3,13±0,68	3,49±0,68	0,064
Visfatin (ng/ml)	29,28±16,67	20,94±16,67	0,015*

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, p<0.005

Fazla kilolu PKOS'lu hasta ve fazla kilolu kontrol grubu arasında yaş ve VKİ açısından istatistiksel fark saptanmadı (p>0,05). Ferriman Gallawey skoru açısından anlamlı fark vardı (p=0,000). Diğer demografik özellikleri olan bel çevresi, BKO ve kalça çevresi yönünden değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark yoktu (sırasıyla p=0,777; p=0,696; p=0,892) (Tablo 17).

Tablo 17: Fazla kilolu PKOS ve fazla kilolu kontrol gruplarının özelliklerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Fazla Kilolu Kontrol Grubu n = 17 ($\bar{X} \pm SD$)	Fazla Kilolu PKOS Hasta Grubu n = 19 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Yaş	25,47±3,57	22,89±6,03	0,125
VKİ	28,93±5,32	28,87±5,14	0,971
BKO	0,78±0,04	0,79±0,05	0,696
Bel çevresi (cm)	84,47±12,56	85,76±14,40	0,777
Kalça çevresi (cm)	107±13,4	107±15,3	0,892
mFGS	3,18±2,0	11,78±4,4	0,000*

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, $p < 0.005$

Fazla kilolu PKOS'lu hastaların açlık kan şekeri, fazla kilolu kontrol grubundan yüksek bulundu ancak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Fazla kilolu PKOS hasta grubu ile fazla kilolu kontrol grubu arasında açlık insülin ($p=0,029$), HOMA-IR ($p=0,032$), serbest androjen indeksi ($p=0,011$), FSH ($p=0,007$), LH ($p=0,003$) ve LH/FSH oranı ($p=0,000$) arasında anlamlı fark bulundu. Diğer testler açısından anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Fazla kilolu PKOS'lu hasta ve fazla kilolu kontrol grubu arasında serum adiponektin ($p=0,288$), ghrelin ($p=0,245$), rezistin ($p=0,163$) ve visfatin ($p=0,310$) düzeyleri açısından istatistiksel anlamda fark saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 18).

Tablo 18: Fazla kilolu PKOS ve fazla kilolu kontrol grubunun parametrelerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Fazla kilolu Kontrol Grubu n = 17 ($\bar{X} \pm SD$)	Fazla kilolu PKOS Hasta Grubu n = 19 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Glukoz (mg/dL)	84,77 ± 9,90	89,78 ± 10,07	0,143
İnsülin (mIU/ml)	9,01 ± 4,05	19,76 ± 9,01	0,029*
HOMA-IR	1,87 ± 0,83	4,44 ± 4,66	0,032*
Total kolesterol (mg/dL)	175,18 ± 25,38	168,79 ± 30,68	0,503
HDL-Kolesterol (mg/dL)	57,71 ± 16,09	55,90 ± 18,2	0,755
LDL-Kolesterol (mg/dL)	95,12 ± 17,1	93,11 ± 23,27	0,772
Trigiserid (mg/dL)	111,11 ± 64,02	98,89 ± 53,96	0,539
T. Testosteron (ng/ml)	0,17 ± 0,08	0,34 ± 0,16	0,001
SHBG (nmol/L)	62,31 ± 36,15	45,81 ± 37,90	0,018
SAİ	1,44 ± 1,26	4,38 ± 4,29	0,011
FSH (mIU/mL)	7,31 ± 1,95	5,74 ± 1,31	0,007*
LH (mIU/mL)	5,80 ± 2,79	7,44 ± 2,89	0,003*
LH/FSH	0,89 ± 0,35	1,56 ± 0,72	0,000*
Adiponektin (ng/ml)	1886,3±430,7	1544,7±355,5	0,288
Ghrelin (ng/ml)	5,64±1,87	6,53±2,56	0,245
Rezistin (ng/ml)	3,21±0,76	3,52±0,54	0,163
Visfatin (ng/ml)	27,05±21,73	21,00±12,78	0,310

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, p<0.005

Normal kilolu PKOS'lu hastalar ile fazla kilolu PKOS hastalar kendi içinde karşılaştırıldığında; yaş ve BKO açısından istatistiksel fark saptanmadı (p>0,05). Ferriman Gallawey skoru açısından anlamlı fark vardı (p=0,000). Diğer demografik özellikleri olan bel çevresi (p=0,003) ve kalça çevresi (p=0,007) yönünden değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulundu (Tablo 19).

Tablo 19: Normal kilolu PKOS hastaları ile fazla kilolu PKOS hastalarının özelliklerin karşılaştırılması

Ölçümler	Normal Kilolu PKOS n = 34 ($\bar{X} \pm SD$)	Fazla Kilolu PKOS n = 19 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Yaş	20,94±2,93	22,89±6,03	0,118
VKİ	21,16±1,85	28,87±5,14	0,000*
BKO	0,76±0,06	0,79±0,05	0,079
Bel çevresi (cm)	74,0±7,0	85,76±14,40	0,003*
Kalça çevresi (cm)	96,68±6,8	107,66±15,3	0,007*
mFGS	10,26±6,86	11,78±4,4	0,000*

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, $p < 0.005$

Normal kilolu PKOS hasta grubu ile fazla kilolu PKOS grubu arasında açlık insülin ($p=0,028$), HOMA-IR ($p=0,034$) ve trigiserid ($p=0,003$) arasında anlamlı bir fark görüldü (Tablo 20).

Normal kilolu PKOS hasta grubu ile fazla kilolu PKOS grubu arasında glukoz, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, total testosteron, SHBG, SAI, FSH, LH, LH/FSH, adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 20).

Tablo 20: Normal kilolu PKOS ve fazla kilolu PKOS grubunun parametrelerinin karşılaştırılması

Ölçümler	Normal Kilolu PKOS n = 34 ($\bar{X} \pm SD$)	Fazla Kilolu PKOS n = 19 ($\bar{X} \pm SD$)	P
Glukoz (mg/dL)	86,26 ± 10,8	89,84 ± 10,1	0,241
İnsülin (mIU/ml)	9,21 ± 3,4	19,1 ± 19,06	0,028*
HOMA-IR	1,97 ± 0,7	4,44 ± 0,7	0,034*
Total kolesterol (mg/dL)	163,3 ± 29,5	168,8 ± 30,7	0,512
HDL-Kolesterol (mg/dL)	53,4 ± 9,8	59,5 ± 13,6	0,416
LDL-Kolesterol (mg/dL)	90,06 ± 26,7	93,11 ± 23,3	0,668
Trigiserid (mg/dL)	67,78 ± 37,9	98,89 ± 53,96	0,003*
T. Testosteron (ng/ml)	0,42 ± 0,17	0,34 ± 0,16	0,107
SHBG (nmol/L)	50,36 ± 37,3	45,81 ± 37,9	0,674
SAİ	3,85 ± 2,2	4,38 ± 4,3	0,555
FSH (mIU/mL)	5,88 ± 1,5	5,74 ± 1,3	0,731
LH (mIU/mL)	9,13 ± 4,4	7,4 ± 4,1	0,178
LH/FSH	1,56 ± 0,72	1,37 ± 0,81	0,392
Adiponektin (ng/ml)	1609,01±314,55	1544,70±355,59	0,515
Ghrelin (ng/ml)	7,05±2,61	6,53±2,56	0,488
Rezistin (ng/ml)	3,49±0,68	3,52±0,54	0,879
Visfatin (ng/ml)	20,94±8,39	21,01±12,78	0,983

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, p<0.005

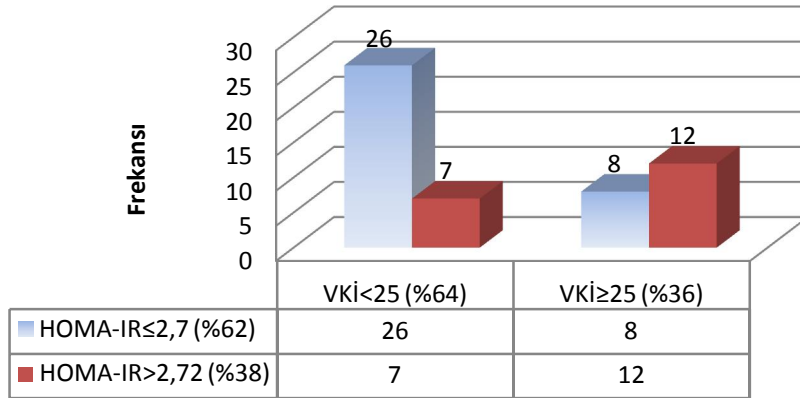
HOMA-IR'nin 2,7 üzerindeki değerlerinin, insülin direnci varlığını yansıttığı göz önüne alındığında, PKOS hastalarının 20/53 alındığında %37,7; kontrol hastalarının 4/42 alındığında % 9,5 idi. Hasta ve kontrol grupları arasında insülin rezistansı yönünden ki-kare testi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulundu (p=0,000) (Tablo 21).

Tablo 21: PKOS ve kontrol grubunun HOMA-IR indeksi 2,7 göre frekansları

	HOMA-IR<2,7	HOMA-IR>2,7	Toplam
Kontrol	38 (%90,5)	4 (%9,5)	42
PKOS	33 (%62,3)	20 (%37,7)	53
Toplam	71 (%74,7)	24 (%25,3)	95

Alt gruplar yönünden bakıldığında fazla kilolu PKOS'lu hastaların %22'inde (12 hasta) ve normal kilolu PKOS'lu hastaların % 14'inde (7 hasta) insülin direnci varlığı bulundu (Şekil 15).

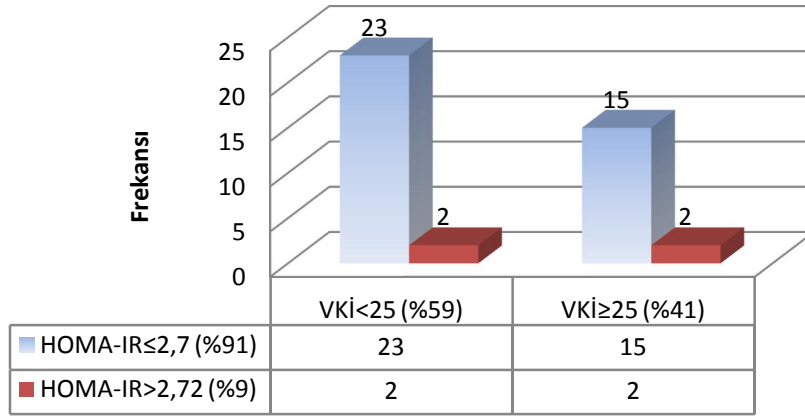
PKOS



Şekil 15: PKOS hasta grubunun insülin direnci ve VKİ'ye göre dağılımı

PKOS hasta grubu içinde normal kilolu ile fazla kilolu alt grup rasında insülin direnci yönünden ki kare testi yapıldığında yine anlamlı farklılık vardı. ($p=0,007$) (Şekil 15). Kontrol grubunun kendi içinde anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 16).

Kontrol



Şekil 16: Kontrol grubunun insülin direnci ve VKİ'ye göre dağılımı

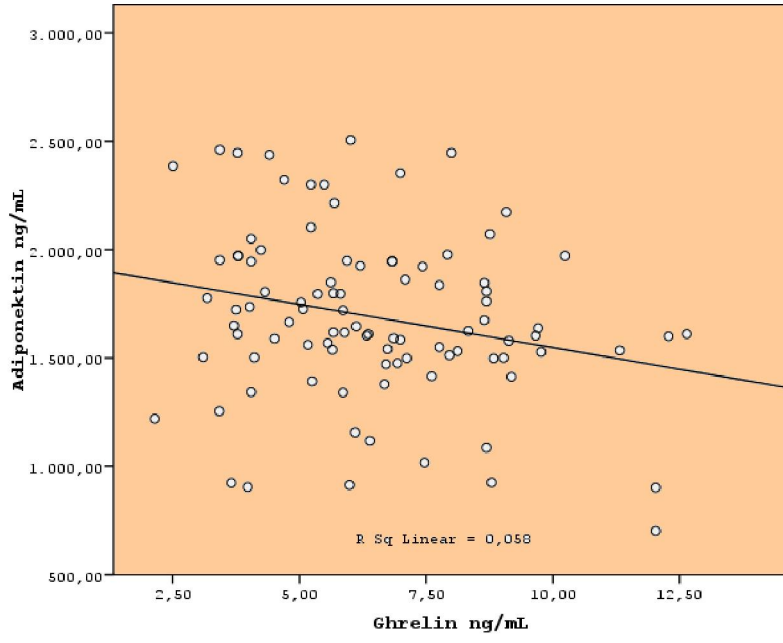
Çalışılan tüm grupta insülin rezistansı gösteren parametreler olan adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin ile diğer parametreler arasındaki ilişkiye ait sonuçlar Tablo 22'de verilmiştir.

Tablo 22: Çalışılan parametrelerin birbirleri ile korelasyonları

	Adiponektin		Ghrelin		Rezistin		Visfatin	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Yaş	-0,217	0,118	0,145	0,160	0,104	0,318	0,081	0,437
VKİ	-0,267	0,053	-0,014	0,890	0,101	0,328	0,015	0,883
Bel Çevresi (cm)	-0,190	0,174	-0,008	0,936	0,124	0,230	-0,012	0,904
Kalça Çevresi (cm)	-0,251	0,070	0,007	0,944	0,135	0,192	-0,053	0,608
Açlık İnsülin (uU/mL)	0,023	0,869	0,011	0,919	0,057	0,582	-0,094	0,367
HOMA-IR	0,015	0,913	0,021	0,842	0,015	0,913	-0,107	0,303
T.Kolesterol (mg/dL)	0,038	0,786	0,050	0,627	0,122	0,240	-0,052	0,026*
LDL-Kolesterol (mg/dL)	0,010	0,941	0,113	0,277	0,127	0,220	-0,041	0,695
HDL-Kolesterol (mg/dL)	0,023	0,868	0,010	0,925	0,135	0,192	-0,185	0,073
Trigliserid (mg/dL)	0,071	0,615	-0,112	0,280	-0,146	0,159	0,228	0,026*
LH (mIU/mL)	-0,033	0,815	0,111	0,284	-0,033	0,815	-0,174	0,092
FSH (mIU/mL)	0,124	0,375	0,144	0,163	-0,138	0,181	0,124	0,232
T.Testosteron (ng/dL)	-0,091	0,515	0,012	0,907	0,235	0,022*	-0,188	0,068
SHBG (mmol/L)	0,176	0,207	-0,095	0,358	0,063	0,541	-0,077	0,459
SAİ	0,012	0,934	0,046	0,662	0,168	0,104	-0,155	0,134
Adiponektin (ng/ml)	1		-0,240	0,019*	0,037	0,718	0,070	0,500
Ghrelin (ng/ml)	-0,240	0,019*	1		-0,086	0,406	-0,021	0,837
Rezistin (ng/ml)	0,037	0,718	-0,086	0,406	1		0,007	0,946
Visfatin (ng/ml)	0,070	0,500	-0,021	0,837	0,007	0,946	1	

*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, $p < 0.005$

Sadece adiponektin ile ghrelin arasında ters yönlü zayıf bir korelasyon saptandı ($r = -0,240$; $p = 0,019$) (Şekil 17).



Şekil 17: Adiponektin ve ghrelin arasındaki saçılım grafiği

TARTIŞMA

PKOS doğurganlık çağındaki kadınlarda görülen en sık endokrin bozukluktur (%5-10). Multisistemik, reproduktif-metabolik bir sendrom olarak tip 2 diyabet, dislipidemi, kardiyovasküler hastalık ve endometriyal karsinoma gibi uzun dönem sağlık riskleri taşıması nedeniyle günümüzde bir halk sağlığı problemi olarak ön plana çıkmaktadır (1, 12). PKOS patofizyolojisinde insülin direncinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (3, 38).

Epidemiyolojik çalışmalarda belirtildiği üzere obezitenin PKOS'a eşlik ettiği saptanmıştır (40). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak hastaların % 35'nin VKİ'si 25 ve daha büyük olduğu görüldü.

Serum LH konsantrasyonlarının artmış olması patognomik olmasına karşın, tanı için gerekli değildir. LH/FSH oranı kullanımı daha yararlı bir parametre olarak kullanılmaktadır. Buna karşılık son alman konsensus kararına göre LH ve FSH düzeyleri ve oranı tanı kriterleri arasında yer almamaktadır (17, 88, 89).

Çalışmamızdaki, hasta grubundaki serum LH düzeyleri ve LH/FSH oranları kontrol grubuna göre belirgin anlamda yüksek bulundu. Bu sonuç, PKOS patofizyolojisinde yer alan hipotalamus-hipofiz-over aks fonksiyon bozukluğunun gösterilmesi açısından anlamlı olarak değerlendirildi ve literatürle uyumlu bulundu (88).

PKOS'lu hastalardaki androjen fazlalığının gösterilmesi açısından önerilen yöntemlerden biri de dolaşımdaki androjen seviyelerinin belirlenmesidir (90). Literatürde, hiperandrojenizmin belirlenmesinde, total testosteron ölçümlerinin tek

başına yeterli olmadığı, serbest testosteron veya SAI' nin duyarlı metodlar olduğu bildirilmiştir (17). SAI de hiperandrojenizm kestirim değeri 1,44 olarak bildirilmiştir (37). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak, bu total testosteron ile SAI'nin parametrenin de hasta grubunda, kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğunu gözlemledik. Hiperandrojenizmin PKOS'un değişmez bir bulgusu olduğu görülmüştür.

PKOS'lu kadınların; yüksek LDL kolesterol ve artmış trigliserid, düşük HDL kolesterol, hipertansiyon, insülin direnci ve koagülasyon ve fibrinolitik sistem anormallikleri gibi koroner kalp hastalığı riskini artıran faktörleri taşıdıkları gösterildi (91). Wild ve arkadaşları, PKOS'lu kadınlarda düzenli menstruel siklusu olan kadınlara göre HDL düzeyinin daha düşük, TG düzeyinin daha yüksek ve LDL/HDL oranının daha büyük olduğunu gösteren ilk araştırmacılarıdır (92). Çalışmamızda nonobez PKOS'lu kadınlarda kan lipid düzeylerinin normal sağlıklı kontrol grubu kadınlarla karşılaştırıldığında benzer olduğunu ve anlamlı bir fark olmadığını gördük. Benzer sonuçlar Moghetti ve arkadaşları (93) ile Fleming ve arkadaşları tarafından da bildirilmiştir (94).

Çalışmamızda oluşturulan kontrol grubunun genel bir toplum örneği olmayıp hasta grubuna yaş ve daha önemlisi VKİ yönünden benzer bireylerden seçilmiştir. Bizim çalışmamızda PKOS ve kontrol grubu arasında lipid tablosu açısından anlamlı farklılık bulunmadı. PKOS'lu kadınlarda normal kan lipid profilinin gösterilmesi toplumumuzun beslenme alışkanlıklarıyla, etnik grup farklılıklarıyla ve erken dönem PKOS tanısı konulmuş hastalar olması ile ilişkili olabilir.

Bölgesel yağ birikimi metabolik bozukluğun derecesinin önemli bir belirleyicisidir. Visseral yağ depolanması dislipidemi ve hiperinsülinemi ile subkütan yağ toplanmasından çok daha yakın ilişkilidir. PKOS'lulardaki android

(santral) obezite artmış BKO ile birlikte. Visseral dokularda yağ birikimi kliniğe BKO artması (>0.85) şeklinde yansır ve zayıf PKOS'luların da yaklaşık %70'i android yağ birikim paternine sahiptir (35, 95). Çalışmamızda her iki grup bel çevresi, kalça çevresi ve BKO gibi antropometrik ölçümler yönünden karşılaştırıldı, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Normal kilolu PKOS'lu hastalarımızın, bel çevresi ve bel kalça oranları normal kadınlardan farklı değildi. Normal kilolu PKOS'lu hastalarda android tipte yağ dağılımının olduğunu gösteren çalışmalar olmakla beraber (35, 96, 97) olmadığını gösteren çalışmada mevcuttur (98).

PKOS insülin direncinin de bulunduğu heterojen bir tablodur. Yapılan çalışmalarda insülin direnci belirgin şekilde artmaktadır (99–101). PKOS'da insülin etki anormalliklerinin mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte postreseptör defekt, beta hücre disfonksiyonu, insülin metabolizmasının bozulması veya bunlardan birkaçının birlikte rol oynayabileceği düşünülmektedir (38, 102, 103).

PKOS'da insülin direnci mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar insülin reseptörlerinde sinyal alımı sonrasında ileti defekti olduğunu göstermektedir (43). İnsülin, tirozin kinaz reseptörünün alfa alt birimine bağlandığında hücre içine iletilen sinyal, protein fosforilasyonunu başlatmaktadır. İnsülin direnci olan olgularda ise tirozin yerine serin fosforile olmaktadır. Bu defekt hücre içinde sinyal iletiminin aksamasına ve insülin etkisinin azalmasına neden olmaktadır (41, 104). Visfatin insülin hormonu sinyalini farklı bir yoldan etkilemekte olduğu bildirilmiştir (105). Çalışmamızda PKOS ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmuş, ama ilişki tespit edilememiştir. Bu ilişkinin hasta sayısı yeterince yüksek olduğu çalışmalarca tespit edilebileceği kanaatindeyiz.

İlk kez 1980 yılında Burghen ve arkadaşları (106) tarafından PKOS'lu hastalarda hiperandrojenizm ve hiperinsülineminin pozitif lineer korelasyonunun bulunmasının ardından birçok çalışmada zayıf ve obez PKOS hastalarında insülin direnci gösterilmiştir. Ancak ne obezite ne de tek başına hiperandrojenizm PKOS'de görülen insülin etki bozukluğunu açıklamamaktadır (3).

İnsülin direnci, PKOS'un patofizyolojisinde önemli rol oynayan ve hastaların yaklaşık % 50'sinde saptanan önemli bir parametre olarak karşımıza çıkmaktadır (38). Obezite varlığında bu ilişkinin daha da kuvvetli hale geldiği bilinmektedir (107). Öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği insülin direncini değerlendirmede altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak HOMA-IR'nın, insülin direncini değerlendirmede öglisemik hiperinsülinemik klemp tekniği kadar duyarlı olduğu gösterilmiştir (44).

Çalışmamızda, HOMA-IR'nin 2,7 üzerindeki değerlerin insülin direnci olarak kabul edildiğinde hastaların toplam %38'de insülin direnci varlığını tespit ettik. PKOS hastalarının % 38'de, kontrol grubunun %9 da HOMA-IR 2,7'nin üzerindeydi. Hastalar VKİ'ye göre gruplandırıldığında, ilişkinin daha belirgin hale geldiği görüldü. Fazla kilolu PKOS hastalarında %67'sinde HOMA-IR 2,7 den büyüktü. Kontrol grubunda bu oran %13'de kaldı (Şekil 15,16).

PKOS'lu hastalar ve kontrol grubunu HOMA-IR değerleri karşılaştırıldığında PKOS'lu hastaların değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik tespit edildi. Alt gruplar düzeyinde baktığımızda ise, normal kilolu PKOS'lu hastaların, normal kilolu kontrol grubuna göre HOMA-IR değerleri arasında fark bulunmadı. Ancak fazla kilolu PKOS'lu hasta grubu ile fazla kilolu kontrol grubu arasında anlamlı olarak fark bulundu. Elde edilen sonuçlar literatürle uygun bulundu.

Adipoz dokunun; metabolizmanın düzenlenmesinde oldukça önemli bir görevi olduğu bilinmektedir (108). Yağ dokusunun vücudumuzun enerji metabolizmasını düzenlemekle kalmayıp, aynı zamanda periferik insülin duyarlılığına katkıda bulunan ve adipo(sito)kin adı verilen birçok biyolojik molekül salgıladığı tespit edilmiştir (48, 54). İnsülin direnci ve santral obezitenin önemli özellikleri arasında sayıldığı PKOS'da da, adipokinlerin sendromun patogeneziindeki yeri merak konusu olmuştur. Adiponektin, rezistin ve visfatin adipoz dokudan elde edilen adipokinlerdir.

Obez ve obez olmayan PKOS grupları arasında adiponektin düzeyi açısından anlamlı farklılık olmadığını belirten çalışmalar olsa da (62) santral obezite bulunan vakalarda kan adiponektin düzeyinin düşük olduğu bildirilmiştir (109). Çalışmamızda, PKOS'lu hastalar ile kontrol grubu arasında serum adiponektin düzeyleri arasında fark saptandı. Hasta alt gruplarının incelenmesinde ise normal kilolu PKOS'lu hastalar ile normal kilolu kontrol grubu arasında anlamlı farklılık saptandı. Fazla kilolu PKOS'lu hastalar ile fazla kilolu kontrol grubu arasında serum adiponektin seviyeleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Fazla kilolu PKOS ile normal kilolu PKOS kendi arasında karşılaştırılmasında adiponektin düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı.

PKOS'daki insülin direnci ile adiponektin arasındaki ilişki halen tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar, PKOS'lu hastalarda adiponektin konsantrasyonlarındaki değişikliğin yağ dokusu miktarındaki değişikliklere bağlı olduğunu ileri sürerken (60), bazı araştırmacılar ise adiponektinin, obeziteden bağımsız şekilde PKOS'daki insülin direnci ile ilişkili olduğu görüşünü savunmuşlardır (62).

Ghrelinin mide mukozasından salınan bir peptittir. Özellikle enerji dengesi, besin alımı ve kilonun düzenlenmesinde aktif rol oynadığı tespit edilen ghrelin (110) seviyesinin PKOS'lu hastalarla ilgili yapılmış olan çalışmalarda çelişkili

sonuçlara ulaşılmış, polikistik over sendromlu olgularda bazı çalışmalarda serum ghrelini baskılanırken (111), bazılarında değişmemiş (112), bazı çalışmalarda artmıştır (113).

Ghrelin düzeyleri için elde edilen çelişkili sonuçların polikistik over sendromunun oldukça heterojen seyirli bir hastalık olmasıyla açıklanabilir. Bizim çalışmamızda ghrelin düzeylerini PKOS'lu hastalarda yüksek bulunmuştur. PKOS'lu normal kilolu hastalar ile PKOS'lu fazla kilolu hastalar arasında anlamlı fark olmaması obesiteden etkilenmediğini göstermektedir. Bunun yanısıra çalışmamızın ilginç noktalarından bir tanesi, adiponektin ile ghrelin arasında zayıf ters korelasyona sahip olmasıdır. Ghrelin ve adiponektin arasında obezite üzerinden bir ilişki olmadığını düşündürdü.

Rezistin, obezite ve insülin direnci ile ilişkisi bugün için henüz netlik kazanmamış, insanlarda yağ dokusundan başka, yüksek oranda makrofajlardan da salgılandığı ileri sürülen bir adipokindir (114). Farelerde serum rezistin seviyelerinin obezite ile artarken, bir antidiyabetik ajan olan roziglitazon ile azaldığının gösterilmesi; yine farelerde rekombinant rezistin uygulanması ile glukoz toleransında ve insülin etkisinde bozulmanın gösterilmesi, insülin direncine yol açan bir hormon olarak anılmasına sebep olmuştur. Stepan ve arkadaşları bu yüzden yeni hormona (resist+in[sulin]) ismini vermişlerdir (77). Rezistin ile obezite ve insülin direnci arasındaki ilişkiyi destekleyen çalışmalar olduğu gibi, tersi yönde görüş bildiren çalışmalar da mevcuttur (78, 115).

PKOS'lu hasta ve kontrol grupları arasında PKOS lehine serum rezistin düzeyleri açısından anlamlı fark saptandı. Panidis ve arkadaşları PKOS'lu hastalarda serum rezistin düzeyleri ile VKİ arasında pozitif bir ilişki saptamışlar ve rezistinin PKOS'daki insülin direnci patogenezinde rol oynamadığını ancak obezite ile ilişkili

olabileceğini vurgulamışlardır (116). Seow ve arkadaşları ise PKOS'lu hastalarda serum rezistin seviyelerini kontrol grubuna benzer bulmakla birlikte, adipositlerde rezistin mRNA ekspresyonunun, PKOS'lu hasta grubunda kontrol grubuna göre 2 kat yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (78). Bu bulgudan yola çıkarak rezistin, obezite ve PKOS'daki insülin direncinde lokal parakrin bir etkisi olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda PKOS grubu ile kontrol grubu arasında rezistin düzeyleri açısından anlamlı fark saptandı. Ancak alt gruplarda anlamlı fark saptanmadı. Normal kilolu PKOS ile fazla kilolu PKOS arasında da fark saptanmadı. Çalışma grubumuzda yeterli sayıda obez hastanın olmayışının sonuçlar üzerinde etkili olabileceğini düşünüyoruz.

Visfatin, fare ve insanlarda visceral yağ dokusundan subkutan yağ dokusuna göre daha fazla salgılanan bir adipositokindir (83). Visfatinin, insüline duyarlı hücrelerde, insülin reseptörüne bağlanarak insülin mimetik etki gösterdiği bulunmuştur (83). İnsülin direncinin olduğu çeşitli klinik durumda, visfatinin plazma düzeyi ile ilgili çelişkili sonuçlar vardır (7, 117–121). Pagona ve arkadaşları, obez insanlarda plazma visfatin düzeyini düşük (117), Zahorska-Markewicz ve arkadaşları ise obez kadınlarda plazma visfatin düzeyini yüksek bulmuşlardır (121). Tan ve arkadaşları, obez PKOS'lu hastalarda plazma visfatin düzeyinin arttığını (119), Kowalska ve arkadaşları obez PKOS'lu hastalarda plazma visfatin düzeyinin kontrol grubuyla benzer olduğunu, normal kilolu PKOS'lu hastalarda ise serum visfatin düzeyinin kontrol grubundan yüksek olduğunu göstermişlerdir (120).

Çalışmamızda, PKOS'lu hastaların serum visfatin düzeyleri, benzer VKİ'ne sahip sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin anlamda düşük tespit edildi. Normal kilolu PKOS'lu hasta ve normal kilolu kontrol grubu arasında serum visfatin

düzeyleri arasında anlamlı fark saptandı. Fazla kilolu PKOS'lu hastalarda fazla kilolu kontrollere göre anlamlı fark görülmedi. Tüm PKOS'lu grup, kilolu-obeze PKOS'lu alt grup ve normal kilolu PKOS'lu alt grupta, plazma visfatin düzeyinin VKI, bel çevresi ve BKO ile bir ilişkisinin olmadığı saptandı. Visfatin düzeylerinin düşmesi insülin direncinin oluşması açısından anlamlıydı. Fazla kilolu grubumuzda bu ilişkinin çıkmaması örnek sayımızın yeterli olmadığından olabilir.

PKOS patogeneğinde insülin direnci önemli bir bulgudur. Adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin insülin direncinde rol oynadığı düşünülen moleküllerdir. Bu çalışmamızda insülin direncini gösteren parametrelerin (adiponektin, ghrelin, rezistin ve visfatin) PKOS'lu hastalardaki değişimlerin bize gösterdiği sonuç; insülin direncinin polikistik over sendromun patogeneğinde önemli bir yere sahip olduğudur. Ancak bu parametrelerle ilgili olan ilişkiler ve değişikliklerin daha iyi ve anlamlı olarak ortaya çıkarabilmesi için daha fazla sayıdaki gruplarla ileri prospektif çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

- Hasta grupları ile kontrol grubu arasında yaş ($p=0,125$) ve VKİ ($p=0,406$) olarak fark yoktu.
- PKOS hasta grubu ile kontrol grubu arasında demografik parametreler açısından bel çevresi ($p=0,926$), kalça çevresi ($p=0,673$) ve BKO ($p=0,718$) açısından benzerlik göstermekteydi . mFGS skorlanması ($p=0,000$) ise anlamlı idi
- PKOS hasta grupları ile kontrol grubu arasında insülin direnci parametreleri yönünden insülin ($p=0,021$), HOMA-IR ($p=0,022$) parametreleri açısından anlamlı fark vardı. Açlık Glukoz ($p=0,286$) açısından anlamlı fark bulunmadı.
- PKOS hasta grubu ile kontrol grubu arasında hiperandrojenemi açısından total testosteron ($p=0,000$) ve SAI ($p=0,000$) anlamlı fark bulundu. SHBG ($p=0,098$) açısından anlamlı fark bulunmadı.
- PKOS hasta grubu ile kontrol grubu arasında insülin direnci ilişkisini araştırdığımız adiponektin ($p=0,040$), ghrelin ($p=0,041$), rezistin ($p=0,023$) ve visfatin ($p=0,024$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu.
- PKOS grubu ile kontrol grubu arasında lipid profili açısından total kolesterol ($p=0,617$), HDL kolesterol ($p=0,301$), LDL kolesterol ($p=0,322$), trigliserid ($p=0,270$) olup istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- PKOS grubu ile kontrol grubu arasında hipofizer hormonlar arasından FSH ($p=0,000$), LH ($p=0,001$), LH/FSH oranı ($p=0,000$) istatistiksel olarak fark tespit edildi.

- Normal kilolu PKOS ile normal kilolu kontrol grubunun demografik özellikleri arasından yaş ($p=0,441$), VKİ ($p=0,181$), bel çevresi ($p=0,279$), kalça çevresi ($p=0,458$) ve BKO ($p=0,176$) arasından anlamlı fark bulunmadı. mFGS ($p=0,000$) ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı.
- Normal kilolu PKOS ile normal kilolu kontrol grubunun insülin direnci özellikleri arasından glukoz ($p=0,294$), insülin ($p=0,118$) ve HOMA-IR ($p=0,093$) ile anlamlı fark bulunmadı.
- Normal kilolu PKOS ile normal kilolu kontrol grubunun hiperandrojenemi özellikleri arasından total testosteron ($p=0,000$) ve SAI ($p=0,000$) anlamlı farklılık vardı. SHBG ($p=0,309$) açısından anlamlı farklılık yoktu.
- Normal kilolu PKOS grubu ve normal kilolu kontrol grubunda insülin direnci ilişkisini araştırdığımız adiponektin ($p=0,003$) ve visfatin ($p=0,015$) anlamlı farklılık bulundu. Ghrelin ($p=0,111$) ve rezistin ($p=0,064$) açısından anlamlı farklılık yoktu.
- Normal kilolu PKOS grubu ile normal kilolu kontrol grubu arasında lipid profili açısından total kolesterol ($p=0,175$), HDL kolesterol ($p=0,063$), LDL kolesterol ($p=0,130$), trigliserid ($p=0,428$) olup istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- Normal kilolu PKOS grubu ile normal kilolu kontrol grubu arasında hipofizer hormonlar arasından FSH ($p=0,000$), LH ($p=0,001$), LH/FSH oranı ($p=0,000$) istatistiksel olarak fark tespit edildi.
- Fazla kilolu PKOS ile fazla kilolu kontrol grubunun demografik özellikleri arasından yaş ($p=0,125$), VKİ ($p=0,971$), bel çevresi ($p=0,777$), kalça çevresi ($p=0,458$) ve BKO ($p=0,892$) arasından anlamlı fark bulunmadı. mFGS ($p=0,000$) ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı.

- Fazla kilolu PKOS ile fazla kilolu kontrol grubunun insülin direnci özellikleri arasından glukoz ($p=0,143$) için anlamlı fark bulunmadı. Buna karşılık insülin ($p=0,029$) ve HOMA-IR ($p=0,032$) için anlamlı fark tespit edildi.
- Fazla kilolu PKOS ile fazla kilolu kontrol grubunun hiperandrojenemi özellikleri arasından total testosteron ($p=0,001$), SHBG ($p=0,018$) ve SAI ($p=0,011$) açısından anlamlı farklılık vardı.
- Fazla kilolu PKOS ile fazla kilolu kontrol grubunun insülin direnci ilişkisini araştırdığımız adiponektin ($p=0,288$), ghrelin ($p=0,245$), rezistin ($p=0,163$) ve visfatin ($p=0,310$) açısından anlamlı farklılık yoktu.
- Fazla kilolu PKOS ile fazla kilolu kontrol grubunun arasında lipid profili açısından total kolesterol ($p=0,503$), HDL kolesterol ($p=0,755$), LDL kolesterol ($p=0,772$), trigliserid ($p=0,539$) olup istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- Fazla kilolu PKOS ile fazla kilolu kontrol grubunun arasında hipofizer hormonlar arasından FSH ($p=0,007$), LH ($p=0,003$), LH/FSH oranı ($p=0,000$) istatistiksel olarak fark tespit edildi.
- HOMA-IR'nin 2,7 üzerindeki değerlerinin, insülin direnci varlığını yansıttığı göz önüne alındığında, PKOS hastalarının 20/53 alındığında %37,7, kontrol hastalarının 4/42 alındığında % 9,5 idi. Hasta ve kontrol grupları arasında insülin rezistansı yönünden Ki kare testi ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,000$).

KAYNAKLAR

1. Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(7):2434-8.
2. Cibula D. Prediction of Insulin Sensitivity in Nonobese Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(12):5821-5825.
3. Tsilchorozidou T, Overton C, Conway GS. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology*. 2004;60(1):1-17.
4. Teede H, Deeks a, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC medicine*. 2010;841.
5. Beltowski J. Adiponectin and resistin--new hormones of white adipose tissue. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2003;9(2):RA55-61.
6. Broglio F, Gottero C, Arvat E, Ghigo E. Endocrine and non-endocrine actions of ghrelin. *Hormone research*. 2003;59(3):109-17.
7. Krzyzanowska K, Krugluger W, Mittermayer F, Rahman R, Haider D, Shnawa N, Scherthaner G. Increased visfatin concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2006;110(5):605-9.
8. Stein I, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 1935;29:181-186.

9. Yen SS. The polycystic ovary syndrome. *Clinical endocrinology*. 1980;12(2):177-207.
10. Carmina E, Rosato F, Janni a, Rizzo M, Longo R a. Extensive clinical experience: relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(1):2-6.
11. Ehrmann D a. Polycystic ovary syndrome. *The New England journal of medicine*. 2005;352(12):1223-36.
12. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(6):2745-9.
13. Adams J, Polson DW, Franks S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *British medical journal (Clinical research ed.)*. 1986;293(6543):355-9.
14. Azziz R, Marin C, Hoq L, Badamgarav E, Song P. Health care-related economic burden of the polycystic ovary syndrome during the reproductive life span. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(8):4650-8.
15. Yildiz BO. Glucose Intolerance, Insulin Resistance, and Hyperandrogenemia in First Degree Relatives of Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(5):2031-2036.
16. Govind a, Obhrai MS, Clayton RN. Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: analysis of 29 polycystic ovary syndrome and 10 control families. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84(1):38-43.

17. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction*. 2004;19(1):41-47.
18. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet*. 2007;370(9588):685-97.
19. Hart R, Hickey M, Franks S. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*. 2004;18(5):671-83.
20. Kopera D, Wehr E, Obermayer-Pietsch B. Endocrinology of hirsutism. *International journal of trichology*. 2010;2(1):30-5.
21. Yildiz BO, Bolour S, Woods K, Moore A, Azziz R. Visually scoring hirsutism. *Human reproduction update*. 2010;16(1):51-64.
22. Kumar A, Woods KS, Bartolucci AA, Azziz R. Prevalence of adrenal androgen excess in patients with the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Clinical Endocrinology*. 2005;644- 649.
23. Nelson VL, Qin KN, Rosenfield RL, Wood JR, Penning TM, Legro RS, Strauss JF, McAllister JM. The biochemical basis for increased testosterone production in theca cells propagated from patients with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(12):5925-33.
24. Maciel G a R, Baracat EC, Benda JA, Markham SM, Hensinger K, Chang RJ, Erickson GF. Stockpiling of transitional and classic primary follicles in ovaries of women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(11):5321-7.
25. Vendola K a, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy C a. Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *The Journal of clinical investigation*. 1998;101(12):2622-9.

26. Welt CK, Gudmundsson J a, Arason G, Adams J, Palsdottir H, Gudlaugsdottir G, Ingadottir G, Crowley WF. Characterizing discrete subsets of polycystic ovary syndrome as defined by the Rotterdam criteria: the impact of weight on phenotype and metabolic features. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(12):4842-8.
27. Jonard S. Ultrasound examination of polycystic ovaries: is it worth counting the follicles? *Human Reproduction*. 2003;18(3):598-603.
28. Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 1976;57(5):1320-9.
29. Ehrmann DA, Rosenfield RL, Barnes RB, Brigell DF, Sheikh Z. Detection of functional ovarian hyperandrogenism in women with androgen excess. *The New England journal of medicine*. 1992;327(3):157-62.
30. Azziz R, Black V, Hines G a, Fox LM, Boots LR. Adrenal androgen excess in the polycystic ovary syndrome: sensitivity and responsivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1998;83(7):2317-23.
31. Carmina E, Orio F, Palomba S, Longo R a, Cascella T, Colao a, Lombardi G, Rini GB, Lobo R a. Endothelial dysfunction in PCOS: role of obesity and adipose hormones. *The American journal of medicine*. 2006;119(4):356.e1-6.
32. Rajkhowa M, Neary RH, Kumpatla P, Game FL, Jones PW, Obhrai MS, Clayton RN. Altered composition of high density lipoproteins in women with the polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1997;82(10):3389-94.
33. Sam S, Legro RS, Bentley-Lewis R, Dunaif A. Dyslipidemia and metabolic syndrome in the sisters of women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(8):4797-802.

34. Pirwany IR, Fleming R, Greer I a, Packard CJ, Sattar N. Lipids and lipoprotein subfractions in women with PCOS: relationship to metabolic and endocrine parameters. *Clinical endocrinology*. 2001;54(4):447-53.
35. Kirchengast S, Huber J. Body composition characteristics and body fat distribution in lean women with polycystic ovary syndrome. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2001;16(6):1255-60.
36. Holte J, Gennarelli G, Wide L, Lithell H, Berne C. High prevalence of polycystic ovaries and associated clinical, endocrine, and metabolic features in women with previous gestational diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1998;83(4):1143-50.
37. Bako a, Morad S, Atiomo W. Polycystic ovary syndrome: An overview. *Reviews in Gynaecological Practice*. 2005;5(2):115-122.
38. Dunaif a. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocrine reviews*. 1997;18(6):774-800.
39. Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Molecular mechanisms of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Trends in molecular medicine*. 2006;12(7):324-32.
40. Barber TM, McCarthy MI, Wass J a H, Franks S. Obesity and polycystic ovary syndrome. *Clinical endocrinology*. 2006;65(2):137-45.
41. Dunaif a, Xia J, Book CB, Schenker E, Tang Z. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle. A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 1995;96(2):801-10.
42. Bollag GE, Roth R a, Beaudoin J, Mochly-Rosen D, Koshland DE. Protein kinase C directly phosphorylates the insulin receptor in vitro and reduces its protein-tyrosine kinase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986;83(16):5822-4.

43. Karasik a, Rothenberg PL, Yamada K, White MF, Kahn CR. Increased protein kinase C activity is linked to reduced insulin receptor autophosphorylation in liver of starved rats. *The Journal of biological chemistry*. 1990;265(18):10226-31.
44. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes care*. 2000;23(1):57-63.
45. Espinós-Gómez JJ, Corcoy R, Calaf J. Prevalence and predictors of abnormal glucose metabolism in Mediterranean women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*. 2009;25(3):199-204.
46. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
47. Legro RS, Castracane VD, Kauffman RP. Detecting insulin resistance in polycystic ovary syndrome: purposes and pitfalls. *Obstetrical & gynecological survey*. 2004;59(2):141-54.
48. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(6):2548-56.
49. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of biological chemistry*. 1995;270(45):26746-9.
50. Chandran M, Phillips S a, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes care*. 2003;26(8):2442-50.

51. Kleiblová P, Springer D, Haluzík M. The influence of hormonal changes during menstrual cycle on serum adiponectin concentrations in healthy women. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 2006;55(6):661-6.
52. Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M, Scherer PE. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(11):9073-85.
53. Tsao T-S, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB, Heuser JE, Lodish HF. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(50):50810-7.
54. Frühbeck G, Gómez-Ambrosi J, Muruzábal FJ, Burrell M a. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2001;280(6):E827-47.
55. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocrine reviews*. 2005;26(3):439-51.
56. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *Journal of biochemistry*. 1996;120(4):803-12.
57. Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(2):447-52.
58. Wu X, Motoshima H, Mahadev K, Stalker TJ, Scalia R, Goldstein BJ. Involvement of AMP-activated protein kinase in glucose uptake stimulated by the globular domain of adiponectin in primary rat adipocytes. *Diabetes*. 2003;52(6):1355-63.

59. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H, Matsuda M, Kondo H, Furuyama N, Kihara S, Nakamura T, Tochino Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*. 2002;51(9):2734-41.
60. Orio F, Palomba S, Cascella T, Milan G, Mioni R, Pagano C, Zullo F, Colao A, Lombardi G, Vettor R. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(6):2619-23.
61. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and biophysical research communications*. 1999;257(1):79-83.
62. Spranger J, Möhlig M, Wegewitz U, Ristow M, Pfeiffer AFH, Schill T, Schlösser HW, Brabant G, Schöfl C. Adiponectin is independently associated with insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Clinical endocrinology*. 2004;61(6):738-46.
63. Lewandowski KC, Szosland K, O'Callaghan C, Tan BK, Randeve HS, Lewinski A. Adiponectin and resistin serum levels in women with polycystic ovary syndrome during oral glucose tolerance test: a significant reciprocal correlation between adiponectin and resistin independent of insulin resistance indices. *Molecular genetics and metabolism*. 2005;85(1):61-9.
64. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Tenner AJ, Tomiyama Y, Matsuzawa Y. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*. 2000;96(5):1723-32.

65. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999;100(25):2473-6.
66. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozawa N, Hioki K, Uchida S, Ito Y, Takakuwa K, Matsui J, Takata M, Eto K, Terauchi Y, Komeda K, Tsunoda M, Murakami K, Ohnishi Y, Naitoh T, Yamamura K, Ueyama Y, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(4):2461-8.
67. Vionnet N, Hani EH, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, Matos F De, Durand E, Leprêtre F, Lecoœur C, Gallina P, Zekiri L, Dina C, Froguel P. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *American journal of human genetics*. 2000;67(6):1470-80.
68. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(4):2005-10.
69. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clinical chemistry*. 2004;50(9):1511-25.
70. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochemical and biophysical research communications*. 2000;279(3):909-13.

71. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin--a hormone with multiple functions. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2004;25(1):27-68.
72. Pöykkö SM, Ukkola O, Kauma H, Kellokoski E, Hörkkö S, Kesäniemi Y a. The negative association between plasma ghrelin and IGF-I is modified by obesity, insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2005;48(2):309-16.
73. Roux CW le, Patterson M, Vincent RP, Hunt C, Ghatei M a, Bloom SR. Postprandial plasma ghrelin is suppressed proportional to meal calorie content in normal-weight but not obese subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(2):1068-71.
74. Parker B a, Doran S, Wishart J, Horowitz M, Chapman IM. Effects of small intestinal and gastric glucose administration on the suppression of plasma ghrelin concentrations in healthy older men and women. *Clinical endocrinology*. 2005;62(5):539-46.
75. Kageyama H, Funahashi H, Hirayama M, Takenoya F, Kita T, Kato S, Sakurai J, Lee EY, Inoue S, Date Y, Nakazato M, Kangawa K, Shioda S. Morphological analysis of ghrelin and its receptor distribution in the rat pancreas. *Regulatory peptides*. 2005;126(1-2):67-71.
76. Yabuki A, Taharaguchi S, Ichii O, Kojima M, Nishi Y, Mifune H, Kamimura R, Matsumoto M, Suzuki S. Immunohistochemical localization of ghrelin in rodent kidneys. *Histochemistry and cell biology*. 2006;126(2):231-8.
77. Stepan CM, Lazar M a. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2002;13(1):18-23.
78. Seow K-M, Juan C-C, Wu L-Y, Hsu Y-P, Yang W-M, Tsai Y-L, Hwang J-L, Ho L-T. Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome with insulin resistance. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2004;19(1):48-53.

79. Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin family hormones. *Science (New York, N.Y.)*. 2004;304(5674):1154-8.
80. Rea R, Donnelly R. Resistin: an adipocyte-derived hormone. Has it a role in diabetes and obesity? *Diabetes, obesity & metabolism*. 2004;6(3):163-70.
81. Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *The Journal of clinical investigation*. 2003;111(2):225-30.
82. Banerjee RR, Lazar MA. Resistin: molecular history and prognosis. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 2003;81(4):218-26.
83. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science (New York, N.Y.)*. 2005;307(5708):426-30.
84. Revollo JR, Körner A, Mills KF, Satoh A, Wang T, Garten A, Dasgupta B, Sasaki Y, Wolberger C, Townsend RR, Milbrandt J, Kiess W, Imai S-I. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell metabolism*. 2007;6(5):363-75.
85. Pfützner A, Forst T. Comment on: Haider DG, Schaller G, Kapiotis S, Maier C, Luger A, Wolzt M (2006) the release of the adipocytokine visfatin is regulated by glucose and insulin. *Diabetologia* 49:1909-1914. *Diabetologia*. 2006;49(11):2795; author reply 2796.
86. Uzunlulu M. Cut-off values for waist circumference in Turkish population : Is there a threshold to predict insulin resistance ? *Training*. 2009;17-23.

87. Miller KK, Rosner W, Lee H, Hier J, Sesmilo G, Schoenfeld D, Neubauer G, Klibanski A. Measurement of free testosterone in normal women and women with androgen deficiency: comparison of methods. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(2):525-33.
88. Taylor a E, McCourt B, Martin K a, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, Hall JE. Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1997;82(7):2248-56.
89. Laven JSE, Imani B, Eijkemans MJC, Fauser BCJM. New approach to polycystic ovary syndrome and other forms of anovulatory infertility. *Obstetrical & gynecological survey*. 2002;57(11):755-67.
90. Legro RS, Driscoll D, Strauss JF, Fox J, Dunaif a. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(25):14956-60.
91. Wiltgen D, Benedetto IG, Mastella LS, Spritzer PM. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2009;24(7):1726-31.
92. Wild RA, Painter PC, Coulson PB, Carruth KB, Ranney GB. Lipoprotein lipid concentrations and cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1985;61(5):946-51.
93. Tosi F, Dorizzi R, Castello R, Maffeis C, Spiazzi G, Zoppini G, Muggeo M, Moghetti P. Body fat and insulin resistance independently predict increased serum C-reactive protein in hyperandrogenic women with polycystic ovary syndrome. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2009;161(5):737-45.

94. Ehrmann D a, Cavaghan MK, Imperial J, Sturis J, Rosenfield RL, Polonsky KS. Effects of metformin on insulin secretion, insulin action, and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1997;82(2):524-30.
95. Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *The Journal of clinical investigation*. 1996;97(12):2859-65.
96. Douchi T, Ijuin H, Nakamura S, Oki T, Yamamoto S, Nagata Y. Body fat distribution in women with polycystic ovary syndrome. *Obstetrics and gynecology*. 1995;86(4 Pt 1):516-9.
97. Lefebvre P, Bringer J, Renard E, Boulet F, Clouet S, Jaffiol C. Influences of weight, body fat patterning and nutrition on the management of PCOS. *Human reproduction (Oxford, England)*. 1997;12 Suppl 172-81.
98. Good C, Tulchinsky M, Mauger D, Demers LM, Legro RS. Bone mineral density and body composition in lean women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility*. 1999;72(1):21-5.
99. Samy N, Hashim M, Sayed M, Said M. Clinical significance of inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: their relationship to insulin resistance and body mass index. *Disease markers*. 2009;26(4):163-70.
100. Legro RS, Kunselman a R, Dodson WC, Dunaif a. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84(1):165-9.
101. Weerakiet S, Srisombut C, Bunnag P, Sangtong S, Chuangsoongnoen N, Rojanasakul a. Prevalence of type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Asian women with polycystic ovary syndrome. *International*

journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics. 2001;75(2):177-84.

102. O'Meara NM, Blackman JD, Ehrmann DA, Barnes RB, Jaspan JB, Rosenfield RL, Polonsky KS. Defects in beta-cell function in functional ovarian hyperandrogenism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1993;76(5):1241-7.
103. Venkatesan a M, Dunaif A, Corbould A. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome: progress and paradoxes. *Recent progress in hormone research*. 2001;56:295-308.
104. Kusari J, Takata Y, Hatada E, Freidenberg G, Kolterman O, Olefsky JM. Insulin resistance and diabetes due to different mutations in the tyrosine kinase domain of both insulin receptor gene alleles. *The Journal of biological chemistry*. 1991;266(8):5260-7.
105. Sethi JK, Vidal-Puig A. Visfatin: the missing link between intra-abdominal obesity and diabetes? *Trends in molecular medicine*. 2005;11(8):344-7.
106. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1980;50(1):113-6.
107. Kiddy DS, Sharp PS, White DM, Scanlon MF, Mason HD, Bray CS, Polson DW, Reed MJ, Franks S. Differences in clinical and endocrine features between obese and non-obese subjects with polycystic ovary syndrome: an analysis of 263 consecutive cases. *Clinical endocrinology*. 1990;32(2):213-20.
108. Schinner S, Scherbaum W a, Bornstein SR, Barthel a. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2005;22(6):674-82.
109. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni P a. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close

- association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(5):1930-5.
110. Otto B, Spranger J, Benoit SC, Clegg DJ, Tschöp MH. The many faces of ghrelin: new perspectives for nutrition research? *British Journal of Nutrition*. 2007;93(06):765.
 111. Schöfl C, Horn R, Schill T, Schlösser HW, Müller MJ, Brabant G. Circulating ghrelin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(10):4607-10.
 112. Orio F, Lucidi P, Palomba S, Tauchmanova L, Cascella T, Russo T, Zullo F, Colao A, Lombardi G, Feo P De. Circulating ghrelin concentrations in the polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(2):942-5.
 113. Waśko R, Komarowska H, Warenik-Szymankiewicz A, Sowiński J. Elevated ghrelin plasma levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*. 2004;36(3):170-3.
 114. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, Macphee CH, Smith S a. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochemical and biophysical research communications*. 2003;300(2):472-6.
 115. McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, Crocker J, Barnett AH, Kumar S. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(5):2407.
 116. Panidis D, Koliakos G, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D. Serum resistin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility*. 2004;81(2):361-6.

117. Pagano C, Pilon C, Olivieri M, Mason P, Fabris R, Serra R, Milan G, Rossato M, Federspil G, Vettor R. Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(8):3165-70.
118. Chen M-P, Chung F-M, Chang D-M, Tsai JC-R, Huang H-F, Shin S-J, Lee Y-J. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(1):295-9.
119. Tan BK, Chen J, Digby JE, Keay SD, Kennedy CR, Randeve HS. Increased visfatin messenger ribonucleic acid and protein levels in adipose tissue and adipocytes in women with polycystic ovary syndrome: parallel increase in plasma visfatin. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(12):5022-8.
120. Kowalska I, Strackowski M, Nikolajuk A, Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Otziomek E, Wolczynski S, Gorska M. Serum visfatin in relation to insulin resistance and markers of hyperandrogenism in lean and obese women with polycystic ovary syndrome. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2007;22(7):1824-9.
121. Zahorska-Markiewicz B, Olszanecka-Glinianowicz M, Janowska J, Kocelak P, Semik-Grabarczyk E, Holecki M, Dabrowski P, Skorupa A. Serum concentration of visfatin in obese women. *Metabolism: clinical and experimental*. 2007;56(8):1131-4.

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR BELGESİ

“POLİKİSTİK OVER SENDROM (PKOS)’ LU KADINLARDA SERUM ADİPONEKTİN, GHRELİN, REZİSTİN ve VİSFATİN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır. Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın ne amaçla yapılmak istendiğini ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve sorularınıza açık yanıtlar isteyin. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

Çalışmanın amaçları ve dayanağı nelerdir, benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Bu çalışmanın amacı insülin direnci ile serum amylin,ghrelin, visfatin, resistin ve adiponektin seviyeleri arasında bir ilişki olup olmadığının ortaya konularak, PKOS patogenezi ile vücut yağ dokusu metabolizması arasında bir bağlantı kurulup kurulamayacağını öngörülmesidir

- Bu konuyla ilgili çalışmalar daha önce yapılmış olmasına rağmen sizin de içinde bulunduğunuz hasta grubu olan Polikistik Over Sendromunda ilk defa böyle bir çalışma yapılmaktadır
- Bu çalışmaya sadece 1 defa, 2 tüp kan örneği vermekten başka devamlılığınızı gerektirecek bir süreye ihtiyaç yoktur.
- Çalışma tek merkez olarak PAU Tıp Fakültesi tarafından yürütülmemekte olup bu araştırmaya hasta ve sağlıklı kadınlar olmak üzere toplam 180 gönüllü kişinin katılması planlanmaktadır.

Bu çalışmaya katılmalı mıyım?

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirseniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemez iseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, doktorunuz tarafından size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Aynı şekilde çalışmayı yürüten doktor çalışmaya devam

etmenizizin sizin için yararlı olmayacağına karar verebilir ve sizi çalışma dışı bırakabilir, bu durumda da sizin için en uygun tedavi seçilecektir.

Bana önerilen araştırma yöntemi dışında başka alternatif yöntemler var mı?

Bu çalışma tedaviye yönelik bir araştırma olmayıp hastalığın temelinde etkin olabilecek bir kan değeri (adiponektin, ghrelin, resistin ve visfatin) ile ilgili olduğu için normal şartlarda alacağınız tedavide bir değişiklik olması söz konusu değildir.

Bu çalışmaya katılırsam beni neler bekliyor?

- Çalışma sizden alınacak 20ml (2 tüp) kan ile yapılacak, bu örnekten olağan laboratuvar incelemede değerlendirilecek olan açık kan şekeri, açlık insülini, kadın üreme sistemiyle ilgili hormonlar dışında araştırmanın amacına yönelik olarak adiponektin, ghrelin, resistin ve visfatin değerleri belirlenecektir.
- Araştırmaya katılmanız sadece yukarıda bahsedilen kan örneğinin alınmasından ibaret olduğu için belirli bir süre katılımınız ve takibiniz istenmeyecektir.

Çalışmanın riskleri ve rahatsızlıkları nelerdir, göreceğim olası bir zarar durumunda ne yapılacak?

- a) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyma.
- b) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Kan örneğiniz uygun steril şartlarda alınacak ve sorun görülme riski en aza indirilecektir. Eğer yukarıdaki nadir durumlar ortaya çıkarsa bunun sorumluluğunun ve giderilmesi için gerekli her türlü tıbbi müdahalenin yapılacağını; bu konudaki tüm harcamamalar üstlenilecektir. Muhtemel zarar durumunda bilgi için ilişki kuracağı kişi Doç. Dr. Özer Öztekin'dir.

Çalışmada yer almamanın yararları nelerdir?

Araştırmadan sizin tıbbi olarak bir yarar sağlamanız söz konusu değildir. Ancak bu çalışmadan çıkarılan sonuçların başka insanların yararına kullanılabilir. Bu çalışma yalnızca araştırma amaçlıdır. Doğrudan sizin yarar görmeyizi ya da tedavinizin seyrinin değiştirilmesini beklemeyiniz.

Bu çalışmaya katılmamın maliyeti nedir?

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Çalışma doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz çalışma boyunca hekiminiz tarafından gizli tutulacaktır. Çalışmanın sonunda, bu bilgiler hakkında bilgi istemeye hakkınız vardır. Yazılı izniniz olmadan, sizinle ilgili tıbbi bilgiler başka kimse tarafından görülemez ve açıklanamaz. Çalışma sonuçları çalışma bitiminde bilimsel yayınlarda kullanılabilir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim?

Çalışma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksiniminiz olduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

AD-SOYAD: Araş.Gör. Dr. Cafer Gönen

GÖREVİ: Yardımcı Araştırmacı

TELEFON: 0-541-3545433

(Gönüllünün/Hastanın Beyanı)

PAÜTF, Biyokimya Anabilim dalında, Dr. Yaşar Enli tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili **yukarıdaki bilgiler** bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

- a. **Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi. Bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.**
- b. **Sorumlu araştırmacı/hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim).**
- c. **Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı/hekim, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla ya da almakta olduğum tıbbi bakımın kalitesini yükseltmek amacıyla, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.**

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir.

Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Cafer Gönen’i 05413545433 Pamukkale Üniv. Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Kınıklı Denizli’den’ den arayabileceğimi biliyorum.

İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Görüşme tanığı

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih: