

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAYAN İNFERTİL HASTALARDA OKSİDATİF
STRESİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Tuğba KÖŞKER**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Gülden BAŞKOL**

**Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Mart 2008
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAYAN İNFERTİL HASTALARDA OKSİDATİF
STRESİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Tuğba KÖŞKER**

**Tezi Yöneten
Doç. Dr. Gülden BAŞKOL**

**Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBT.07.08 nolu
proje ile desteklenmiştir.**

**Mart 2008
KAYSERİ**

Doç.Dr.Gülden BAŞKOL danışmanlığında **Tuğba KÖŞKER** tarafından hazırlanan “**Bayan İnfertil Hastalarda Oksidatif Stresin Araştırılması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Biyokimya** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

18/03/2008

JÜRİ

İmza

Başkan : Prof. Dr. K.Muzaffer ÜSTDAL

Üye : Prof. Dr. Ercan AYGEN

Üye : Doç. Dr. Gülden BAŞKOL (Danışman)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve gerçekleşmesinde emeğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden danışman hocam sayın Doç. Dr. Gülden Başkol'a, sayın Prof. Dr. Ercan Aygen'e ve her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

BAYAN İNFERTİL HASTALARDA OKSİDATİF STRESİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada, bayan infertil hastalarda, ksantin oksidaz (XO), paraoksonaz1 (PON1) aktiviteleri, nitrik oksit (NO) düzeyi ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi ölçülmüştür.

63 infertil ve 20 sağlıklı bayan çalışmaya dahil edilmiştir. İnfertil bayanlar etiyolojisine göre, açıklanamayan infertil ve polikistik over sendromu (PKOS) olmak üzere iki gruba ayrıldı. XO, PON1, ve GSH-Px aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü. NO düzeyleri ise ELİSA yöntemiyle ölçüldü.

Kontrol grubu ile infertil grup karşılaştırıldığında, NO düzeyi ile GSH-Px aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Kontrol grubuna göre infertil grupta, XO aktivitesi istatistiksel olarak yüksek, PON1 aktivitesi ise düşük bulundu ($p<0.05$), NO düzeyi ve GSH-Px aktivitesi ise kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak farksız bulundu. Açıklanamayan infertil grupta ise kontrol grubuna göre XO aktivitesi yüksek, PON1 aktivitesi ise düşük bulundu ($p<0.05$), NO düzeyi ve GSH-Px aktivitesi ise kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak farksız bulundu. PKOS ile kontrol grubu karşılaştırıldığında XO aktivitesi yüksek, PON1 aktivitesi düşük bulundu ($p<0.05$), NO düzeyi ve GSH-Px aktivitesi ise kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak farksız bulundu. Açıklanamayan infertil grup ile PKOS grubu karşılaştırıldığında XO, PON1, GSH-Px aktiviteleri ile NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Bayan infertil hastalarda, hem açıklanamayan infertil hasta grubu, hem de PKOS'lularda oksidan bir enzim olan XO aktivitesini yüksek, antioksidan bir enzim olan PON1 aktivitesini düşük, buna karşılık, NO düzeylerinin ve GSH-Px aktivitesinin normal olarak bulunması, bu hasta gruplarının oksidatif stres altında bulunduğunu ve XO aracılı lipit peroksidasyonunun olduğunu, ayrıca bu durumda özellikle PKOS'lu hastalarda artmış ateroskleroz ile ilişkili olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Açıklanamayan infertilite, Polikistik over sendromu, Nitrik oksit, Ksantin oksidaz, Paraoksonaz1

THE INVESTGATION OF OXIDATIVE STRESS IN INFERTILE WOMEN PATIENTS

ABSTRACT

In this study, the xanthine oxidase (XO) and paraoxonase1 (PON1) activities, nitric oxide (NO) levels and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities were measured.

63 infertiles and 20 healty women were included in this study. Infertile women were divided in two groups according to their ethnologies unexplained infertility, polycystic ovary syndrome (PCOS). XO, PON1, GSH-Px levels were measured by the method of spectrophotometer. NO levels were measured by the method of ELISA.

Comparing infertile group and control group, it wasn't found out that there was a meaningful difference statistically. It was seen that the activity of XO was higher but the activity of PON1 was lower in the infertile group than the control group. It was found out that there were no differences statistically in the level of NO and the activity of GSH-Px according to the control group. It was found out that the activity of XO was higher but the activity of PON1 was lower in the unexplained group according to the control group ($p < 0.05$) and it was found out that there were no differences statistically in the level of NO and the activity of GSH-Px according to the control group. Comparing PCOS and the control group, it was found that the activity of PON1 was lower ($p < 0.05$) and it was found out that there were no differences statistically in the level of NO and the activity of GSH-Px according to the control group. Comparing the activities of XO, PON1, GSH-Px and the level NO, it was found out that there were no differences between them.

Finding the activity of XO was high and the activity of PON1 was low but the levels of NO and the activities of GSH-Px were normal in both unexplained infertile women patient and PCOS, showed us that these women were under oxidative stress and also it had thought us that there was XO lipid peroxidation and it may have related with increased atherosclerosis especially in PCOS.

Key Words: Polycystic ovary syndrome, unexplained infertility, nitric oxide, paraoxonase1, xhantine oxidase

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İNFERTİLİTE.....	3
2.1.1. Ovulatuar ve Luteal Bozukluklar.....	5
2.1.2. Tubal ve Pelvik Faktörler.....	6
2.1.3. Uterusa ait Faktörler	6
2.1.4. Servikal Faktörler.....	7
2.1.5. Erkek Faktörü	7
2.1.6. Açıklanamayan İnfertilite.....	7
2.2. POLİKİSTİK OVER SENDROMU.....	7
2.3. OKSİDATİF STRES, SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR.....	10
2.3.1 Serbest Radikaller	11
2.3.1.1. Serbest Radikallerin Kaynakları	11
2.3.2. Antioksidanlar	12
2.3.3. Oksidatif Stres	14

	<u>Sayfa No</u>
2.4. KSANTİN OKSİDAZ.....	14
2.5. PARAOKSONAZ.....	15
2.5.1. PON1'in Yapısı.....	15
2.5.2. PON1'in Fonksiyonları.....	17
2.6. NİTRİK OKSİT	18
2.6.1. NO'in Biyolojik Fonksiyonları	19
2.7. GLUTATYON PEROKSİDAZ	19
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1.GEREÇ.....	21
3.1.1. Hasta Grubu.....	21
3.1.2. Kontrol Grubu	22
3.2. YÖNTEM.....	22
3.2.1. XO Aktivitesinin Ölçümü	22
3.2.2. PON1 Aktivitesinin Ölçümü	23
3.2.3. NO Düzeyi Ölçümü	24
3.2.4. GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü	26
3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	29
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
6. KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1. PKOS tanı kriterleri	8
Tablo 2.2. PKOS'un belirti ve bulguları	10
Tablo 2.3. Hücredeki ROS kaynakları.....	12
Tablo 3.1. XO enzim aktivitesi çalışma prosedürü.....	22
Tablo 3.2. PON1 aktivitesi çalışma prosedürü	23
Tablo 3.3. NO çalışma prosedürü	26
Tablo 3.4. GSH-Px çalışma prosedürü	28
Tablo 4.1. İnfertil grup ile kontrol grubunun yaş, kilo, boy, BMI, FSH, LH ve bulgularının karşılaştırılması	30
Tablo 4.2. İnfertil grup ile kontrol grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması	31
Tablo 4.3. Açıklanamayan infertil grup ile kontrol grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması	31
Tablo 4.4. PKOS grubu ile kontrol grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması	32
Tablo 4.5. Açıklanamayan infertil grup ile PKOS grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması	32
Tablo 4.6. Açıklanamayan, PKOS ve kontrol grubunun yaş, kilo, boy, BMI, FSH, LH bulgularının karşılaştırılması	33
Şekil 2.1. Antioksidan savunma sistemleri	13
Şekil 2.2. PON'un yapısı.....	16
Şekil 3.1. Griess reaksiyonu.....	25
Şekil 3.2. NO standart grafiği	26

KISALTMALAR

ADP	: Adenozin difosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
BMI	: Beden Kütle İndeksi
CaCl ₂	: Kalsiyum klorür
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
EDTA	: Etilen diamin tetra asetikasit
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
FMN	: Flavin mononükleotit
FSH	: Follikül stimulan hormon
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutatyon
GSSG-Rd	: Glutatyon redüktaz
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HO [·]	: Hidroksil radikali
H [·]	: Hidrojen radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LH	: Luteinizan hormon
NAD ⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NaH ₂ PO ₄	: Sodyum dihidrojen fosfat
Na ₂ HPO ₄	: Sodyum bihidrojen fosfat
NaN ₃	: Sodyum azid

NIH	: Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüleri
NNED	: N-(1-naftil) etilendiamin hidroklorit
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	: Nitrik oksit
NO [·]	: Nitrik oksit radikali
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NO ₂	: Azot dioksit
NO ₂ ⁻	: Nitrit
NO ₃ ⁻	: Nitrat
O ₂	: Moleküler oksijen
O ₂ ^{-·}	: Süper oksit anyonu
O ₃	: Ozon
ONOO [·]	: Peroksinitrit
PKOS	: Polikistik over sendromu
PLGSH-Px	: Fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz
PON1	: Paraoksonaz1
PNP	: Para nitrofenol
ROO [·]	: Peroksit radikali
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TCA	: Trikloro asetik asit
XO	: Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, bir yıl boyunca, korunmadan ve yeterli sayıda cinsel ilişkide bulunulmasına karşın gebeliğin oluşmaması olarak tanımlanır. Özellikle batı toplumlarında; cinsel yolla bulaşan hastalıklarda artma, evlilik zamanının gecikmesi ve doğum kontrol yöntemlerinin yaygınlaşması gebe kalma yaşının gecikmesine neden olmaktadır. Bu nedenlere bağlı olarak infertilite insidansı giderek artmaktadır.

Kadınlarda endometriosis, ovarial ve tubal sebepler ile PKOS başlıca infertilite sebepleri arasında yer almaktadır. % 10 vakada ise gebelik oluşmaması için bariz bir neden bulunamaz. Bu durumda açıklanamayan infertilite tanısı konur.

PKOS, metabolik bir sendrom olarak kabul edilen ve üreme çağındaki kadınlarda sık rastlanan bir problemdir. PKOS'un, anovulasyon, amenore, adet düzensizliği ve hirsütizm gibi birçok klinik bulgusu vardır. Daha uzun dönemlerde infertilite, endometrium kanseri ve belki de meme kanseri oluşumu riski vardır.

Reaktif oksijen türleri, normal hücrel oksijen metabolizması sırasında üretilir. Normal fizyolojik fonksiyonlar için gerekli oldukları gibi, çeşitli hücre tiplerinde ikinci mesajcı olarak hareket ederler. Hücreler bu moleküllerin zararlı etkilerinden, çeşitli antioksidan sistemlerini geliştirerek kendilerini korumaya çalışırlar. Bu antioksidan enzimlerden biri

de GSH-Px'dir. GSH-Px, glutatyonun redüksiyonu ile hidrojen peroksiti (H_2O_2), su ve moleküler oksijene çevirir. XO, pürin metabolizmasında yer alan ve serbest oksijen radikali üreten bir enzimdir. Antioksidan bir enzim olan PON1, lipitleri peroksidasyondan korur ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) üzerinde yer alır. NO, oksidatif strese neden olan ve yüksek oranda difüze olabilen bir bileşiktir.

Bu çalışmada, infertil bayanlarda (açıklanamayan infertil ve PKOS) oksidatif stresi değerlendirmek amacıyla, serum XO ve PON1 aktiviteleri, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitesini ölçmeyi ve bu parametrelerin birbirleriyle olan ilişkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNFERTİLİTE

Düzenli bir cinsel ilişki ve etkili bir kontrasepsiyon uygulanmamasına karşın bir yıl içerisinde gebelik oluşmamasına infertilite denir. İnfertilite iki sınıfta değerlendirilir; daha önce gebe kalamayanlar primer infertilite, daha önce gebelik oluşmasına rağmen başka bir gebeliğin oluşmaması sekonder infertilite olarak adlandırılır (1).

Kadın yaşamının bazı dönemlerinde gebelik oluşması mümkün değildir veya zordur, buna da fizyolojik infertilite denir. Fizyolojik infertilite dönemleri aşağıda belirtilmiştir (2).

1. Puberte öncesi
2. Menarş sonrası ilk aylar
3. Gebelik dönemi
4. Laktasyon (bu dönem gerçek laktasyonun bütün hormonal şartları sağlandığı zaman söz konusudur)
5. Menapoz sonrası

Menstrüel siklus başına gebe kalma şansı, fekondabilite olarak adlandırılır. Menstrüel siklus başına canlı bebek doğabilme şansına fekondite denir. Gebe kalmadaki imkansızlık sterlite olarak adlandırılır (3).

İnfertil çiftlerin değerlendirilmesinde etiyojolojiyi ve fertilitte prognozunu belirlemek çok önemlidir. Tanı ve prognozu saptarken üç ana faktör üzerinde durulmaktadır (3).

1. Kadının yaşı
2. İnfertilite hikayesinin süresi
3. Etiyolojik olarak sorumlu faktörler

Fertilitteyi etkileyen en önemli faktörlerden biri yaş faktörüdür. Kadında fertilitte azalma 35 yaşından sonra görülür. Yaş ilerledikçe overlerdeki folliküllerin kalitesi düşmektedir. Fertilize olan ovumun, implantasyon oranı azalmaktadır. Yaşla birlikte kromozomal anomalilerin insidansı ve spontan abortus oranı artar (3). Pelvik infeksiyon, endometriozis gibi fertilitteyi etkileyebilecek bazı hastalıkların görülme sıklığı otuzlu yaşlardan sonra artar. 48 yaşından sonra gebelik üniform olarak yok sayılmıştır (3).

Diğer bir faktör, infertilite hikayesinin süresidir. İnfertilite araştırılmaya başlanırken gebeliğe maruz kalabilme süresi de belirlenmelidir. Korunulmayan cinsel ilişkinin ilk ayında yaklaşık olarak kadınların % 25'i gebe kalabilir. Bir yılın sonunda gebe kalma süreleri ilk 6 ayda % 63, 9 ayda % 75, bir yılda % 80-90 iken bunu takip eden 6 aylık bir sürede ise sadece % 3-5'lik bir artış olur (3).

Sonuç olarak, korunmadan bir yıllık ilişki sunucunda gebeliğin oluşmaması araştırmanın başlaması için yeterlidir. Kadının yaşı ve infertilitenin süresi problemin ağırlığını belirleyen prognostik belirtilerdir (3).

Çiftlerde infertilite kadın, erkek veya her ikisindeki problemlere bağlı olabilir. İnfertil çiftlerin % 30'u kadına bağlı, % 30'u erkeğe bağlı nedenlerden dolayı çocuk sahibi olamamaktadır. Çiftlerin % 40'ında ise, infertilite her ikisindeki problemlere bağlıdır (4).

Etiyolojide sorumlu faktörler (3, 5):

1. Ovulatuar ve luteal bozukluklar (ovulatör faktör)
2. Tubal ve pelvik patoloji
3. Uterusa ait faktörler
4. Servikal mukus-sperm ilişkisinde bozukluk (servikal faktör)
5. Semen anomalileri (erkek faktörü)
6. Açıklanamayan infertilite

2.1.1. Ovulatuvar ve Luteal Bozukluklar

Ovulatuvar ve luteal bozukluklar kadın infertilite nedenleri arasında ise % 40 oranında tüm infertilite nedenleri içerisinde, % 15-20 oranında görülmektedir (3). Menstrüel siklusta follikül gelişimi yumurtlamayla sonuçlanır ve yumurtlama sonucu luteal faz gelişir. Gelişen faz, ovulatuvar ve luteal faktörü oluşturur. Follikül gelişimi, yumurtlama veya luteinizasyon sırasında meydana gelen bozukluklar döllenmiş ovumun implantasyonunu engelleyerek infertiliteye yol açabilir (6).

Ovulatuvar ve luteal faktörünü oluşturan follikül gelişimi, yumurtlama ve luteinizasyonla ilgili bozukluklar şu şekilde sıralanabilir (7):

1. Anovulasyon
2. Luteal faz yetmezliği
3. Follikül çatlamadan luteinizasyon olması
4. Follikül çatladığı halde oosit atılmaması
5. Oositsiz follikül oluşması
6. Atrezi oluşması

Anovulasyon, kadında follikül gelişmemesi ya da yumurtlamanın olmamasıdır. Anovulasyona; polikistik over sendromu, sürreal, hepatorenal, tiroid hastalıkları, ağır egzersiz ve obesite neden olur (6).

Luteal faz yetmezliği, yumurtlama olur fakat luteinizasyon yetersizdir. Luteal faz yetmezliği, korpus luteum da progesteron yapımının eksikliği sonucu veya normal progesteron yapımına karşın, endometrium cevabının yetersizliği sonucu oluşur (7).

Follikül çatlamadan luteinizasyon olması, pelvik adezyon ve endometriozisli hastalarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir (7).

Follikül çatladığı halde oosit atılmaması, folliküler faz sonunda, aşırı follikül stimulan hormon (FSH) etkisiyle glikozaminoglikanların sentezi artar. Glikozaminoglikanlar, hyaluronik asit sentezini inhibe ederek, içinde oosit bulunduran kumulus oofurusun follikül duvarlarından ayrışması zorlaşır (6, 7).

Oositsiz follikül oluşması, endometriozisli hastalarda ve tubaları kapalı olan bayanlarda daha sık görüldüğü bildirilmiştir fakat sebebi tam bilinmemektedir (7).

Atrezi, follikülde maturasyon bozukluğu sonucu oluşur (7).

2.1.2. Tubal ve Pelvik Faktörler

Tuba ve peritoneal faktörler kadın infertilitesinin % 30-40'ından sorumludur. Tuba-peritoneal infertiliteye neden olan faktörler şu şekilde sıralanabilir (5).

1. Pelvik inflamatuvar hastalıklar
2. Pelvik operasyonlar
3. Endometriozis
4. Genital tuberküloz
5. Ekstra genital merkezli enfeksiyonlar

Pelvik inflamatuvar hastalıklar, tuboperitoneal infertiliteye yol açan en önemli etiyolojik faktördür. İnfertil kadınların yaklaşık % 35'inde enfeksiyona bağlı olarak tubaların etkilendiği gözlenmiştir. Pelvik inflamatuvar hastalıkları akut ya da tekrarlayan ataklar şeklinde seyreder. Atak sayısı arttıkça infertilite oluşma riski de artar (8).

Pelvik operasyonlar, pelvik cerrahi girişiminde, mikrocerrahi kurallarına uyulmadığı takdirde infertiliteye neden olabilir. Dış gebelik operasyonu, metroplasti, wedge rezeksiyon, kistektomi, miyomektomi ve cerrahi laparoskopi girişiminden sonra, tubaları etkileyen perituba-ovaryal yapışıklıklar ve tubal infertilite olabilir (9).

Endometriozis, endometrial dokunun, gland ve stroma olarak, uterus kavitesi dışına yerleşmesidir. Endometriozis tubada ya tuba lümenini tam olarak tıkayarak ya da mukozasında tahribat ve adalede fibröz doku artması nedeniyle tuba lümenini daraltarak infertiliteye neden olabilir (10).

Genital tuberküloz, tuba peritonu altında yağ dejenerasyonu tuberkülozu belirtir. Sekonder organ enfeksiyonudur (11).

Ekstragenital merkezli enfeksiyonlar, apandisit perforasyonu, divertikülit veya üriner sistem enfeksiyonlarının iç genital organlara geçmesiyle tubal infertilite veya peritubal-ovarian yapışıklıklar oluşabilir (11).

2.1.3. Uterusa ait Faktörler

Uterusa ait faktörlerin bayan infertilite sebepleri arasındaki görülme sıklığı % 2-5 oranındadır (12). Sonradan meydana gelebildikleri gibi konjenitalde olabilen patolojiler, endometritler, myomlar, endometriyal polipler, mülleryen anomaliler ve intrauterin adezyonlar şeklinde sınıflandırılabilir (3).

2.1.4. Servikal Faktörler

Bayan infertilite sebepleri arasında görülme sıklığı % 5-10'dur. Servikal mukusta oluşan patolojiler mukusun azlığı, mukusun infeksiyonu ve mukusta immünolojik nedenli yapısal bozukluklar şeklinde sıralanabilir (3).

2.1.5. Erkek Faktörü

İnfertil çiftlerin araştırılmasına ilk yapılacak işlemlerden biri semen analizidir (13). Gebelik için iki üç günde bir cinsel ilişki yeterlidir. Sperm, fertilizasyon yeteneğini bir gün, daha da az olmakla birlikte iki gün sürdürür (14).

2.1.6. Açıklanamayan İnfertilite

Erkek faktörü, pelvik ve tubal patolojiler, ovulatuvar disfonksiyon ve açıklanamayan faktörler, infertil çiftler üzerinde etkili faktörlerdir (15). İnfertilite nedeni olarak bilinen tüm faktörlerin araştırılmasından sonra bir infertilite nedeni ortaya çıkarılamayan ve buna karşılık en azından iki yıl süreyle çocuk sahibi olamayan çiftler açıklanamayan infertilite grubuna girer (2).

Prevalansı; araştırmanın yürütüldüğü merkeze, uygulanan yöntem ve toplum yapısına göre % 6-58 gibi bir aralıkta bulunur. İnfertil çiftlerin % 10-15'i açıklanamayan infertilite tanısı alırlar. Bu çiftlerde aylık fekundite hızı % 2-4 arasındadır (16). Açıklanamayan infertilite vakalarında birçok sebep söz konusudur; azalmış uterin perfüzyonu, implantasyon, subakut tubal-peritoneal hastalık, fertilizasyon defektleri, mikroskopik endometriozis bunlardan bazılarıdır (17).

Açıklanamayan infertil vakalarında 5 yıllık bir takip sonucunda, spontan gebelik oranı % 40-80 düzeyine ulaşmaktadır (18).

2.2. POLİKİSTİK OVER SENDROMU

Polikistik over hastalığı, kadınların reproduktif yıllarında görülen endokrinolojik bozukluktur. PKOS hakkında çok geniş çalışmalar yapılmış fakat etiyolojisi tam olarak belirlenememiştir (19).

Polikistik over, ilk kez 1935 yılında Irving F. Stein ve Michael L. Leventhal tarafından amenore ve hirsutizm ile birlikte anovulasyonla ilgili bir semptom kompleksi olarak bildirilmiştir. Hastalığın, kalınlaşmış over yüzeyinin, folliküllerin yüzeye ulaşmasını engellemesi sonucunda oluştuğunu söylemişlerdir. Daha sonra ki yıllarda bununla ilgili

yapılan çalışmalar sonucunda, PKOS'un metabolik bir sendrom olduğu kabul edilmiştir (20,21). Polikistik overler, anovulasyon halinin bir süre devam etmesiyle ortaya çıkmaktadır (3).

1990'da Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) tarafından yapılan konferansta PKOS'a diğer tanıların ekarte edilmesi yoluyla tanı konulmasını belirtmiştir yani, PKOS'u açıklanamayan kronik hiperandrojenik anovulasyon olarak tanımlamıştır. Fakat 2003 yılında düzenlenmiş olan uzmanlar toplantısında 1990 NIH kongresi yeniden değerlendirilerek diğer tanıları ekarte edildikten sonra aşağıdaki üç kriterin ikisinin birlikte eklenmesiyle sendrom tanısının konulması gerektiğini bildirmiştir (22,23) (Tablo 2.1).

1. Oligo-anovulasyon
2. Klinik veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları
3. Ultrasonografide polikistik overler

Tablo 2.1. PKOS tanı kriterleri

1990 NIH Tanı Kriterleri
1. Kronik anovulasyon 2. Klinik ve biyokimyasal hiperandrojenizm ve diğer etiyolojik nedenlerin ekarte edilmesi
2003 Rotterdam yeniden gözden geçirilmiş tanı kriterleri
1. Oligo-anovulasyon 2. Klinik ve biyokimyasal hiperandrojenizm 3. Diğer etiyolojik nedenlerin ekarte edilmesi

PKOS'lu bayanların luteinizan hormon (LH) ve tiroid stimulan hormon (TSH) düzeyleri normal kadınsı ile karşılaştırıldığında, PKOS'lu olanlarda, daha yüksek LH fakat daha düşük FSH veya alt sınırdaki FSH düzeyleri bulunmaktadır. Bunun yanında LH/FSH oranında da artış görülebilmektedir (3).

Klinik bulguların PKOS'u düşündürdüğü durumlarda, biyokimyasal ve ultrasonografi sonuçları ile tanı desteklenebilir. Hastaların adrenal ve over kaynaklı androjenik hormonlarında artışla, hiperandrojenemi gözlenir. LH seviyesinde ve LH/FSH oranında artış gözlenebilir. Yaklaşık % 20-60 vakada hiperinsülinemi ve insülin direnci rastlanmaktadır (24, 25).

PKOS'lu hastaların ultrasonografik görüntülemesinde 2-9 mm çaplı, 12 veya daha fazla follikül olması ya da artmış over hacmi (10 mL'den daha büyük) polikistik over olarak tanımlanır (23). Bazı çalışmalarda üreme çağındaki kadınlarda ultrasonografik olarak polikistik over görünümünün sıklığı % 17-23 olarak bildirilmiştir. PKOS tanısı koyduracak diğer semptomlar, bu kadınların % 10'unda mevcuttur. Ultrasonografide polikistik over görünümünün yanında PKOS tanısını koymak için biyokimyasal parametrelerin de bulunması gerekir (26, 27). Ultrasonografik polikistik over görüntüsü sağlıklı kadınlarda da % 20'ye yakın oranda görülebilir (28).

PKOS, genellikle peripubertal dönemde başlayan menstrual düzensizlikler (disfonksiyonel uterus kanaması, oligo-amenore), infertilite ve hiperandrojenizm bulguları (hirsütizm, ciltte yağlanma, akne) ile karşımıza çıkmaktadır (29) (Tablo 2.2). Bu bayanlarda obesite de görülebilir.

PKOS'da, hirsütizm en sık görülen hiperandrojenizm bulgusudur. Ciltte yağlanma, akne ve androjenik alopesi hiperandrojenizme bağlı olarak görülmektedir. Fakat, etnik özellikler ve kişisel farklılıklara bağlı olarak her hastada hirsütizm bulunmayabilir (30, 31).

PKOS'lu vakalarda obesite görülme sıklığı yaklaşık % 40-60 olarak bildirilmiştir (3, 29). Farklı ülkelerdeki PKOS'lu bayanlarda obesite prevalansı değişim gösterebilir. Bel/kalça oranının arttığı obesite türü PKOS'lu hastalara ek riskler getirmektedir (32). Normal vücut ağırlığındaki PKOS'lu hastalarla aynı ağırlıktaki sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, PKOS'lu hastalarda bel/kalça oranının fazla olduğu görülmüştür (33).

Tablo 2.2. PKOS'un belirti ve bulguları

Belirtileri	Görülme Sıklığı
Hirşutizm	% 60-90
Oligomenore	% 50-90
İnfertilite	% 55-75
Polikistik over	% 40-60
Amenore	% 25-50
Disfonksiyonel uterus kanaması	% 30
Akne	% 25
Normal menstrual patent	% 22

PKOS'un fizyopatolojisi, yapılan birçok araştırmaya rağmen tam olarak açıklanamamıştır. PKOS'un fizyopatolojisinden sorumlu olduğu düşünülen birçok hipotez vardır. Başlıca hipotezler şu şekilde sıralanabilir (34):

1. Genetik geçiş
2. İnsülinin sekresyon ve fonksiyonunda bir defekt sonucu gelişen insülin direnci ve hiperinsülinemi
3. Kortizol metabolizmasındaki değişim sonucu, androjen sentezinin artması
4. Androjen sentezindeki defekt sonucu ovaryan androjen üretiminin artması
5. Primer bir nöroendokrin defekt sonucunda; LH salınımının sıklık ve amplitüdünde aşırı sekresyon

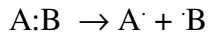
2.3. OKSİDATİF STRES, SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR

Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonun, birçok hastalığın patogenezinde rol aldığını göstermektedir. Kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabetes mellitus, romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (35-40).

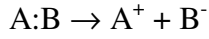
2.3.1 Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir ya da birden fazla çiftleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü kararsız, düşük molekül ağırlıklı, reaktif etkinliği çok fazla olan atom ya da moleküllerdir (41). Atomlardaki elektronlar, yörünge olarak bilinen boşluklarda (orbitallere) hareket ederler. Her orbitalde birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Bir serbest radikal üç şekilde oluşabilir (42):

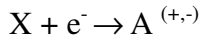
1. Kovalent bağ taşıyan bir molekülün homolitik yıkımıyla oluşurlar. Bölünmenin sonunda oluşan her atom ya da molekülde ortak elektronlardan biri kalır.



2. Molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller, nötral olabildikleri gibi pozitif ya da negatif yüklü de olabilirler.

Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (HO^{\cdot}), nitrik oksit radikali (NO^{\cdot}), peroksil radikali (ROO^{\cdot}) ve radikal olmayan H_2O_2 , lipid hidroperoksit, azot dioksit (NO_2), ozon (O_3) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birini oluştururlar. Serbest radikal reaksiyonları genellikle, moleküllerden hidrojen radikalinin (H^{\cdot}) uzaklaştırılmasıyla başlamaktadır (43).

2.3.1.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır. Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olaylar sırasında meydana gelebildiği gibi, organizmada bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz bırakılmasıyla da meydana gelebilir (44) (Tablo 2.3.).

Tablo 2.3. Hücredeki ROS kaynakları

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Oksidan enzimler: Ksantin oksidaz	Glutasyonu okside eden maddeler
Mono aminooksidaz	X- ışınları
İndolamin dioksijenaz	UV- ışınları
Triptofan dioksijenaz	Güneş ışığı
Galaktoz oksidaz	İyonize radyasyon
Siklooksijenaz	İlaç oksidasyonları (Parasetamol, karbontetraklorür)
Lipooksijenaz	Isı şoku
Oto-oksidasyon reaksiyonları (epinefrin, Fe ²⁺)	Ortam havası: Sigara dumanı
Fagositik hücreler: Notrofiller	Ozon
Monosit ve makrofajlar	Kükürtdioksit
Eozinofiller	Egsos gazları
Endotelyal hücreler	
Mitokondriyal elektron transport zinciri	
Kloroplast elektron transport zinciri	

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, deoksiribonükleik asit (DNA), karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmalarına neden olurlar. Lipit peroksidasyonu (bu reaksiyon, özellikle ateroskleroz gelişiminde önemlidir) serbest radikal zincir reaksiyonu için iyi bir örnektir. Mitokondriyal elektron transport zincirinde oksijenin tamamlanmamış redüksiyonu, sigara içimi, radyasyon gibi çeşitli faktörler oksidatif strese neden olabilirler (45).

2.3.2. Antioksidanlar

ROS'ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta gelişen savunma mekanizmaları "antioksidan savunma sistemleri" olarak bilinirler (46) (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Antioksidan savunma sistemler

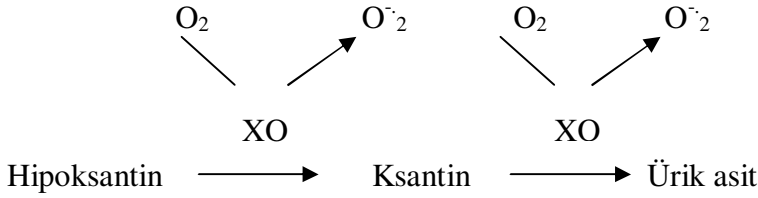
Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi, hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler. Süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon-S-transferaz, GSH-Px, glutasyon redüktaz, katalaz ve sitokrom; hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimlerdir ve asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadırlar. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir. Albümin, bilirubin, transferrin, seruloplazmin, ürik asit gibi bileşiklerde organizma da hücre dışı savunmayı sağlamaktadırlar (46).

2.3.3. Oksidatif Stres

Oksidatif denge, organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızının denge içerisinde olduğu durumdur. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. “Oksidatif Stres” olarak adlandırılan bu durum özetle, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (47).

2.4. KSANTİN OKSİDAZ

XO, çok önemli serbest oksijen radikali kaynağıdır. Pürinlerin hidroksilasyonunun katalizlenmesinde, molibden, demir ve sülfür flavinin hidroksilasyonunda görev yapan enzim gurubunun üyesi olarak bilinir. XO, hipoksantini ksantine, ksantini ürik aside dönüştüren reaksiyonları katalizler. Bu esnada moleküler oksijen indirgenerek O_2^- anyonuna dönüştürülür (48).



XO, kapillerdeki endotel hücrelerinde çok yüksek konsantrasyonda bulunur (49).

Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri XO'dır. XO hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak bulunur. Pürinlerin yıkım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron akseptörü olarak moleküler oksijenden (O_2) daha çok nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak adenozin difosfatın (ADP) adenozin trifosfata (ATP) fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı, XO'nun bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. XO'nun, oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen peroksida indirgenmektedir. İskemi

durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar olmaz. Ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde XO etkisiyle fazla miktarda H_2O_2 ve $O^{\cdot-}_2$ oluşur, bunların etkisiyle de iskemi/reperfüzyon hasarı denen durum ortaya çıkar. XO'nun özellikle intestinal mukoza hücrelerinde görülen iskemi/reperfüzyon hasarında önemli faktör olduğu düşünülmektedir (49, 50).

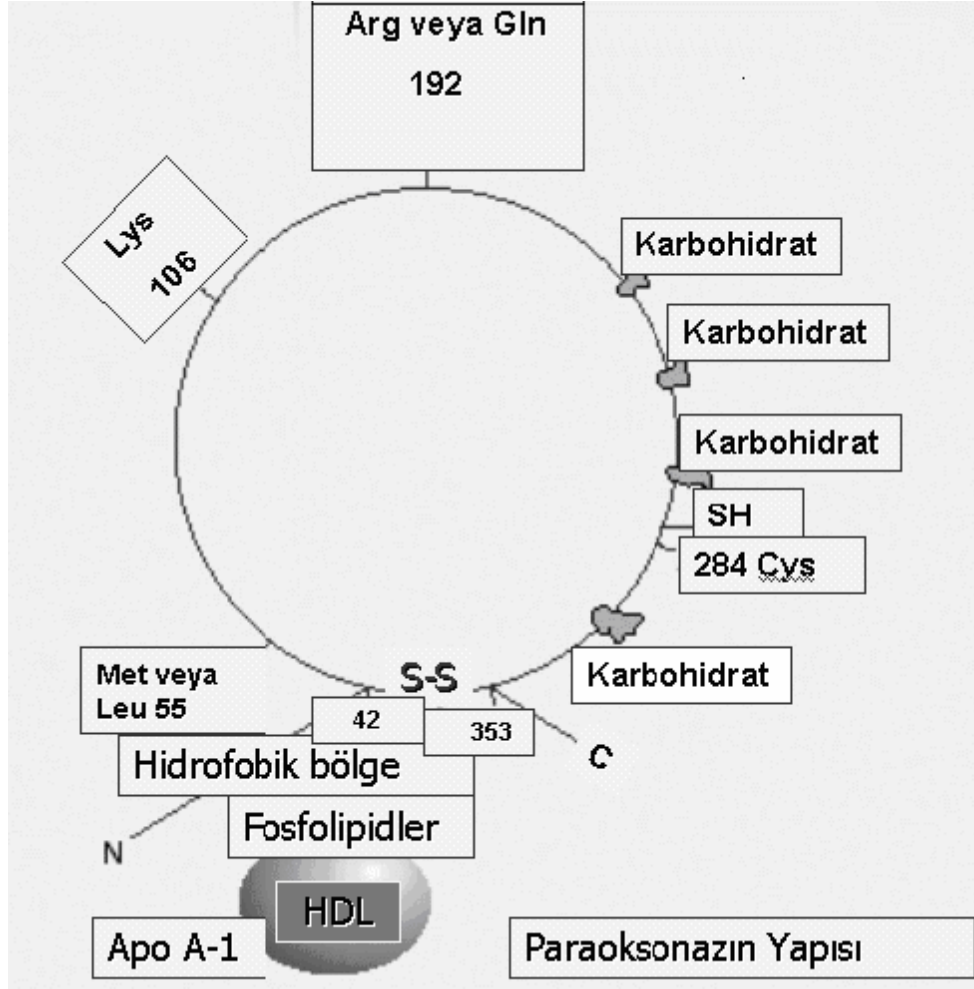
2.5. PARAOKSONAZ

İlk olarak PON, Aldridge W.N. tarafından bulunmuştur. PON, Aldridge sınıflandırma sistemine göre A grubu Arildialkilfosfataz sınıfı bir ester hidrolaz enzimidir ve propiyonat, bütirat ile p-nitrofenil asetat'ı hidroliz eden A-Esteraz olarak tanımlanmıştır (51). Paraokson, metil paraokson ve klometil paraokson'a karşı seçiciliğinin yüksek olmasından dolayı paraoksonaz olarak adlandırılmıştır. PON1, ilk olarak 1961 yılında Uriel tarafından insan plazmasında belirlenmiştir (52). PON1'in plazmada HDL-C yapısında bulunduğu belirlendikten sonra, kardiyovasküler sistem ve lipit metabolizmasına etkileri, antiaterojenik ve antioksidan özellikleri üzerinde yapılan araştırmalar artmıştır (53).

PON, PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç şekilde bulunmaktadır (54, 55). PON1, plazmada ise HDL yapısında ve karaciğer, böbrek, beyin, kalp, ince bağırsak dokularında bulunmaktadır (56). Oksidatif strese maruz kalındığına, PON1 ile PON3'ün aktivasyonunun inhibe edildiği fakat kompensatuar mekanizma olarak PON2'nin ekspresyon ve aktivasyonunun makrofajlarda arttığı gözlenmiştir (57, 58).

2.5.1. PON1'in Yapısı

PON1, 43 kDa molekül ağırlıklı, 354 aminoasitten oluşan, glikoprotein yapısında bir ester hidrolaz enzimidir. Karaciğerde sentezlenen, arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan PON1, kalsiyuma bağımlı ve HDL ile ilişkilidir (59-62). PON1'in yapısında üç tane sistein molekülü vardır, bunlardan ikisi molekül içi disülfit bağının oluşumuna katılır. 284. pozisyondaki sistein molekülü ise serbest halde bulunur. Sistein 284'ün, enzimin aktifleşme merkezine yakın bölgede bulunduğu ve bu bölgenin substrata bağlanma için gerekli olduğu düşünülmektedir. Üç sistein molekülünün varlığı, PON1'in serin esterazların katalitik merkezlerinde serin amino asitleri yerine nükleofilik sistein amino asitlerini kullanan bir sistein esteraz olduğu hipotezini destekler (Şekil 2.2.) (63).



Şekil 2.2. PON1'in yapısı

PON1'in iki ayrı aktif bölgesi bulunmaktadır. Birisi, sisteine bağımlı olan antioksidan bölge, diğeri kalsiyuma bağımlı olan organofosfat hidrolizinden sorumlu bölgedir (55).

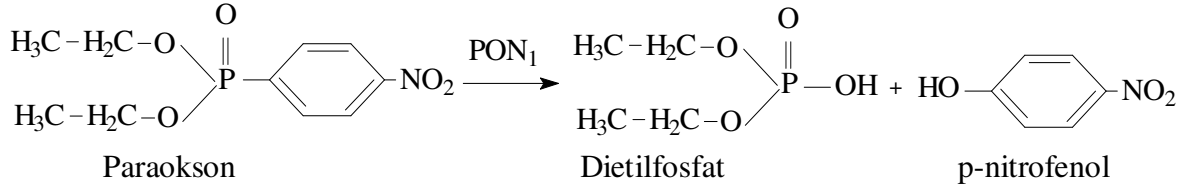
Aspartat/glutamat, histidin ve triptofan amino asitleri, PON1'in aktivitesi ve stabilitesi için gereklidir. Özellikle aktif bölgede en az bir tane triptofan vardır ve bunun substrata bağlanmada önemli görevi olduğu bilinmektedir (64).

PON1'i kodlayan gen, 7. kromozomun uzun kolunda q 21-3 ile q 21-1 bölgesine yerleşmiştir. Bu enzimin iki genetik polimorfizmi bulunmaktadır. Bu iki polimorfizm 55. ve 192. pozisyonlardaki aminoasitlerin yer değişimiyle meydana gelir. Birinci polimorfizm, 192. pozisyondaki glutamin (Q aleli) ile arginin (R aleli) değişince; İkinci polimorfizm ise 55. pozisyondaki metionin (M aleli) ile lösin (L aleli) değişince oluşur. PON1, 192. pozisyonda glutamin varlığında A Tipi; 192. pozisyonda arginin varlığında ise, B Tipi olarak tanımlanır. Son zamanlarda ise, A Tipi Q izoenzimi olarak, B Tipi ise

R izoenzimi olarak tanımlanmaktadır. PON1'in Q ve R izoenzimlerinin her ikisinde düşük dansiteli lipoproteini (LDL) oksidasyona karşı koruduğu bilinmektedir. Paraoksone karşı, Q izoenziminin aktivitesi, R izoenziminin aktivitesine göre daha düşüktür (65-68). PON1 dolaşımında HDL-C'ye bağlı olarak taşınmaktadır (69).

PON1 aktivitesini belirlemek için sentetik substratlar kullanılır. Organofosfat bileşikleri, somon, sarin gibi sinir gazları, aromatik karboksilik asit esterleri, karbamatlar, laktonlar PON1' in substratları arasındadır (56).

PON1'in katalizlediği reaksiyon aşağıdaki gibidir;



Açığa çıkan p-nitrofenol konsantrasyonu üzerinden, PON1 aktivitesi tayin edilmektedir (70).

2.5.2. PON1'in Fonksiyonları

Serum PON1 enziminin, aromatik karboksilik asit esterleri ve paraokson, diazokson, sarin, soman gibi organofosfat türevlerini detoksifiye ettiği pek çok çalışma ile göstermiştir (61, 67, 71-73).

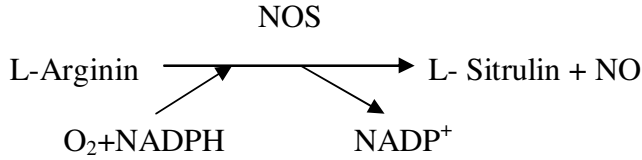
Sinir sistemini, organofosfatların zararlı etkilerine karşı, hidrolitik aktivitesi ile PON1 korumaktadır (55).

HDL, LDL oksidasyondan korumaktadır. PON1, HDL-C'ye bağlı olduğu için, HDL'nin oksidasyonunu önler. Aynı zamanda LDL oksidasyonunu önlemede sorumlu başlıca yapıdır. Bu etki, PON1'in lipoprotein kaynaklı peroksitleri ve H₂O₂'i hidroliz edebilme özelliğine bağlıdır (56).

PON1, endotel fonksiyonları üzerinde koruyucu etkiye sahiptir (74).

2.6. NİTRİK OKSİT

NO, gaz halinde bir moleküldür. Oldukça reaktif olan NO, dış yörüngesinde bulunan çiftleşmemiş elektronu nedeniyle serbest radikal özelliği taşır. NO, lipofilik özelliktedir ve membranları kolaylıkla geçebilir, bu özelliği ile parankin hormon aktivitesine sahiptir (75). NO çok kısa bir yarı ömre sahiptir (10-20 saniye). NO, ilk olarak 1980 yılında Furchgatt ve Zawadzki tarafından bulunmuştur ve endotel kaynaklı genişletici faktör olarak adlandırılmıştır (76). NO, L-Arginin'in L-Sitrulin'e dönüşümü esnasında nitrik oksit sentaz (NOS) katalizörlüğünde oluşur. Arginin, O₂ ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), NOS'ın substratlarıdır. Flavin mono nükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), Hem ve tetrahidrobiopterin bu enzimin koenzimleridir (77).



NOS'ın vücutta üç farklı şekilde bulunaktadır (77-79):

1. Nöronal NOS (nNOS veya Tip I NOS): Nöronlarda ve iskelet kaslarında bulunur. nNOS, periferik ve santral sinir sisteminde, nöronal transmisyonunda görev alan NO sentezinden sorumludur.
2. İndüklenebilir NOS (iNOS veya Tip II NOS): Kalsiyum bağımlı değildir. Özellikle karaciğer ve trombositlerde yoğun olarak bulunur. Bakteriyel endotoksinler ve stokinler tarafından salınımı uyarılır
3. Endotelyal NOS (eNOS veya Tip III NOS): Özellikle damar endotelinde yoğun olarak bulunur. Kalsiyuma bağımlı olarak sürekli salınır.

Guanilat siklaz / siklik guanozin monofosfat (cGMP) sistemi aracılığıyla NO birçok biyolojik etkisini gösterir. NO, sentezlendikten sonra, hızla diffüze olduğu hücrenin sitozolüne girerek guanilat siklazın aktif bölgesinde bulunan hem demirine (Fe²⁺) geri dönüşümlü olarak bağlanarak guanilat siklaz aktifleşir. Aktiflenen guanilat siklaz ile cGMP'nin hücre içi seviyesi yükselir. cGMP, Ca²⁺'nın hücre içinde depolanmasını veya hücre dışına çıkmasını uyarır ve intrasellüler Ca²⁺ seviyelerini düşürür (75).

2.6.1. NO'in Biyolojik Fonksiyonları

NO'in biyolojik etkileri cGMP ile ilişkili olanlar ve ilişkili olmayanlar şeklinde incelenebilir (75, 76):

a) cGMP ile ilişkili olan etkileri : Düz kas gevşemesini sağlar. Periferik ve santral sinir sisteminde nörotransmitter olarak görev yapar. Trombosit agregasyonunu engeller. Nötrofil kemotaksisini önler.

b) cGMP ile ilişkili olmayan etkileri: Lipit peroksidasyonunu engelleyerek antioksidan özellik gösterir. Sitokrom P-450 enzim sistemini engeller. Tümör baskılayıcı gen seviyelerini yükselterek apoptozla hücre ölümüne yol açar. Endotel hücrelerinde gen transkripsiyonunu ve translasyonu düzenler, nöronlarda gen ekspresyonu üzerine kalsiyumun etkisini artırır. Kalsiyuma bağımlı potasyum kanallarını aktive eder. NADH: ubikinon oksidoredüktaz, NADH: süksinat oksidoredüktaz, akonitaz gibi bazı mitokondrial demir-sülfür enzimlerini inhibe ederken, siklooksijenaz gibi enzimlerin hem gruplarına bağlanarak aktive olmalarını sağlar.

2.7. GLUTATYON PEROKSİDAZ

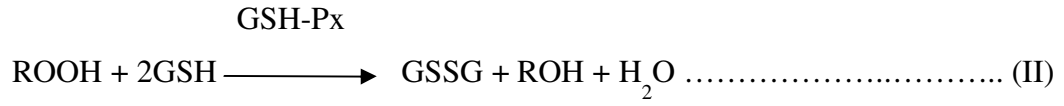
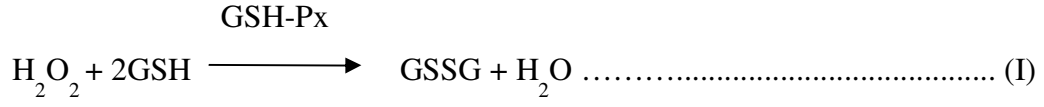
Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 85000 Dalton'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içermesi nedeniyle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür. GSH-Px, monomerik yapıda bir enzimdir (80, 81).

1957 yılında ilk defa Mills tarafından memeli eritrositlerinde bu enzimin varlığını keşfedilmiştir. Endotel hücrelerinde, özellikle akciğerde en etkili enzimdir (82).

GSH-Px, karaciğerde en yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta; kasta ise düşük düzeyde aktivite gösterir. Hücrede ise enzim aktivitesinin %60-75'i sitoplazmada, %25-40'ı mitokondride bulunur.

Glutatyon mekanizması çok önemli antioksidan savunma mekanizmalarından biridir. GSH-Px, lipitleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (83, 84).

GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizler (84).



Membran fosfolipit hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px), membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar (85, 86).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Biyokimyasal ölçümlerde, Sigma marka analitik saflıkta kimyasal maddeler kullanıldı. Çalışmalarda, spektrofotometre (Shumadzu U.V. Visible 1601), analitik terazi (A&D GR-200), pH metre (WTW pH 330 i), soğutmalı santrifüj (Sigma 3K 30), değişik ölçü ve markalarda otomatik pipetler, cam pipetler, balon jojeler, beherler ve polistren tüpler kullanıldı.

Çalışmada kullanılan çözeltiler, deiyonize su ile hazırlandı. Çalışmada kullanılan tüm cam malzemeler deiyonize su ile yıkandıktan sonra bir gün boyunca %20'lik HNO₃ içinde bekletildi ve sonrasında tekrar deiyonize su ile yıkandı.

3.1.1. Hasta Grubu

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği ile Tüp Bebek Ünitesine başvuran infertilite tanısı almış 63 hasta tezimin çalışma grubunu oluşturdu. Bu çalışma grubunu oluşturan hastaların 33'ü açıklanamayan infertilite, 30'u PKOS grubuna girmektedir. Hastalar çalışmamız hakkında bilgilendirilmiştir. Hasta grubunu oluşturan bayanlar 20 ile 38 yaş sınırları arasındadır. Çalışmamızı oluşturan hasta grubu bayarlardan, menstruel dönemlerinin iki ya da üçüncü gününde kanları alındı.

3.1.2. Kontrol Grubu

Çocuk sahibi olan veya daha önce hamile kalmış 20 bayan kontrol grubunu oluşturdu. Kontrol grubunu oluşturan bayanlar 20 ile 38 yaş sınırları arasındadır. Çalışmamızı oluşturan kontrol grubu bayanlardan menstruel dönemlerinin iki ya da üçüncü gününde kanları alındı. Bu tez çalışmasının yapılması için Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alındı.

3.2. YÖNTEM

Hasta ve kontrol gruplarından alınan venöz kanlar, +4 C°'de 10 dakika 3000 rpm de santrifüj edildi. Ayrılan plazma ve serumlar, -70 C°'de muhafaza edildi.

3.2.1. XO Aktivitesinin Ölçümü

Reaktifler

1. 50 mM Fosfat Tamponu, pH: 7.5
2. 4 mM Ksantin
3. %100 TCA (trikloro asetik asit)

Çalışma

XO enzim aktivitesinin çalışma prosedürü Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. XO enzim aktivitesi çalışma prosedürü

	Numune	Kör
Distile Su	–	50µL
Numune	50µL	–
Tampon	3 mL	3 mL
37 C°'de 30 dakika inkubasyon		
TCA	100 µL	100 µL

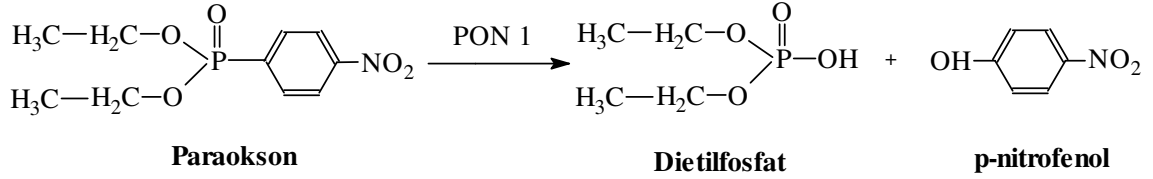
25 C°'de 6000 g 20 dakikada enzim aktivitesindeki değişim, spektrofotometrede 292 nm dalga boyunda izlendi (87). Ürik asitin ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplama yapıldı.

XO aktivitesi için CV değeri % 3.6 olarak bulundu.

3.2.2. PON1 Aktivitesinin Ölçümü

Prensip

Paraoksonun, PON1 tarafından hidrolizi ile oluşan sarı renkli paranitrofenolun (PNP) neden olduğu absorbans artışının, 412 nm’de izlenmesi esasına dayanır (70).



Reaktifler

- Glisin: 0.1 M, pH 8.0
- Paraokson: 0.5 M olacak şekilde, metanolde hazırlandı.
- CaCl₂ (kalsiyum klorür): 1.0 mM olacak şekilde, 50 mM glisin tamponunda hazırlandı.

Çalışma

Deney ortamında 50 mM glisin tamponu, 1.0 mM CaCl₂ ve 1.0 mM paraokson içeren reaksiyon karışımı hazırlandı. PON1 aktivitesi çalışma prosedürü Tablo 3.2’de verildi.

Tablo 3.2. PON1 aktivitesi çalışma prosedürü

	Kontrol	Numune
Reaksiyon karışımı	1 mL	1 mL
Serum	-	10 µL
Tip I su	10 µL	-

Pipetleme işlemlerinden hemen sonra, 25 °C’de ve 412 nm dalga boyunda, Tip I su körüne karşı, kontrol ve numune tüplerindeki OD artışı, 3 dakika süreyle kaydedildi.

Hesaplama

Numune ve kontrol tüpleri için, $\Delta OD/dk$ değerleri hesaplandı. Numune $\Delta OD/dk$ değerlerinden kontrol değerleri çıkarılarak, net $\Delta OD/dk$ değerleri bulundu.

1 ünite PON1, standart deney şartlarında, dakikada 1 mikromol PNP oluşumunu katalizleyen enzim aktivitesi (Ü/L: mikromol PNP/dk/L) olarak tanımlandı.

PNP'nin molar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=16.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak PON aktivitesi hesaplandı. Serum örneklerinde bazal PON1 aktivitesi, Ü/L olarak verildi. PON1 aktivitesi için CV değeri % 3.2 olarak bulundu.

3.2.3. NO Düzeyi Ölçümü

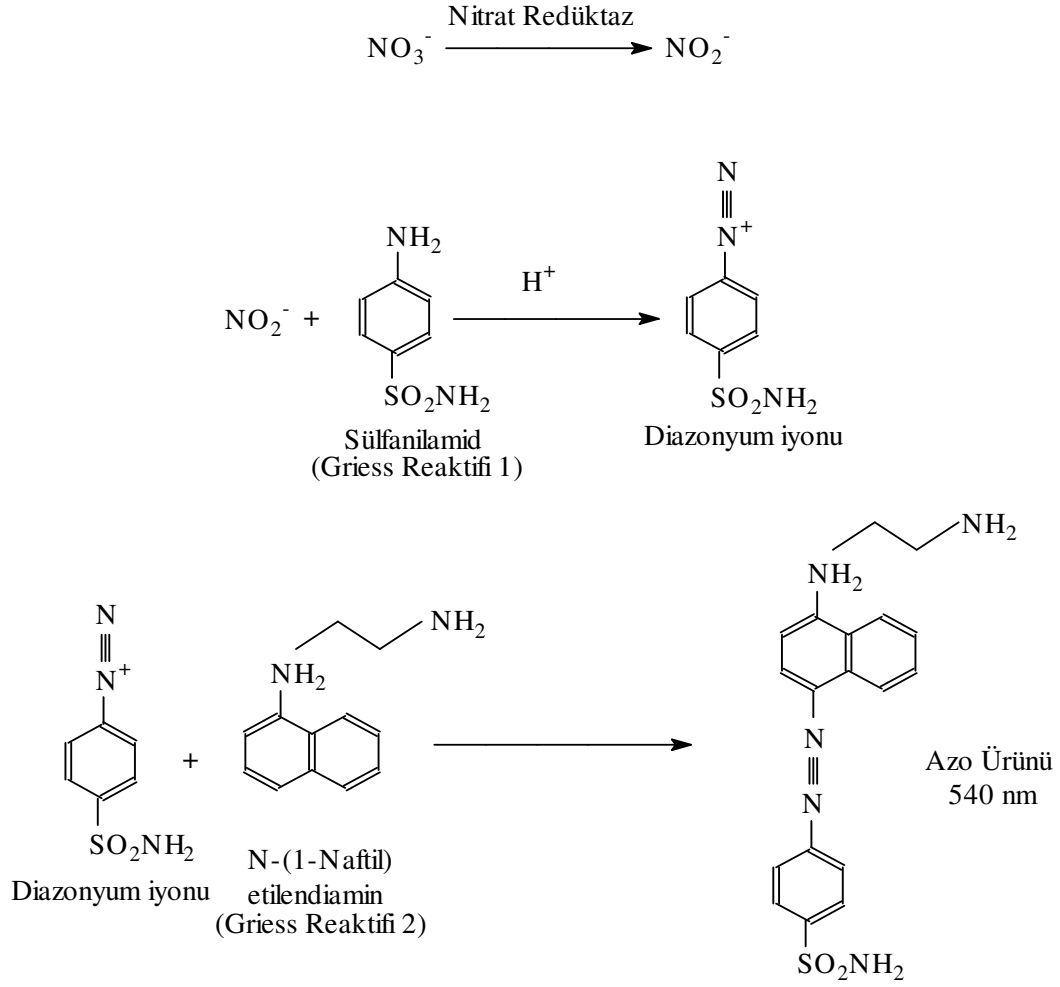
NO ölçümü, Cayman marka (Katalog No.780001) ELISA kiti ile yapıldı.

Prensip

NO'in yarı ömrü çok kısadır, saniyeler içinde ortamdaki oksijen ile reaksiyona girerek, nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) iyonlarına dönüşür. NO_2^- iyonlarının % 95'i NO_3^- 'a oksitlenir. NO ölçümü, son ürünler olan NO_2^- ve NO_3^- konsantrasyonlarının iki basamakta ölçülmesi esasına dayanır. İlk basamakta, NADPH ve FAD varlığında, nitrat redüktaz kullanılarak, NO_3^- , NO_2^- formuna dönüştürülür. İkinci basamakta oluşan toplam nitrit NO_2^- , Griess reaksiyonuyla ölçülür. Griess reaksiyonu, NO_2^- 'in primer bir aromatik amin ile (sülfanilamid) diazotizasyonu ve N-(1-naftil) etilendiamin hidroklorit (NNED) ile mor renkli azo bileşikler oluşturması esasına dayanır. 540 nm'de oluşan rengin absorbansı ölçülür (Şekil 3.1) (88).

Reaktifler

- Çalışma tamponu
- Nitrat Redüktaz: Liyofilize haldeki enzim, çalışma öncesi tampon ile dilüe edilerek hazırlandı.
- Enzim Kofaktörleri: Liyofilize haldeki kofaktörler, çalışma öncesi tampon ile dilüe edilerek hazırlandı.
- Nitrat Standardı: Liyofilize haldeki standart, çalışma tamponu ile uygun oranlarda dilüe edilerek; 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 μM konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı.
- Griess 1 Reaktifi: NNED
- Griess 2 Reaktifi: Sülfanilamid



Şekil 3.1. Griess reaksiyonu

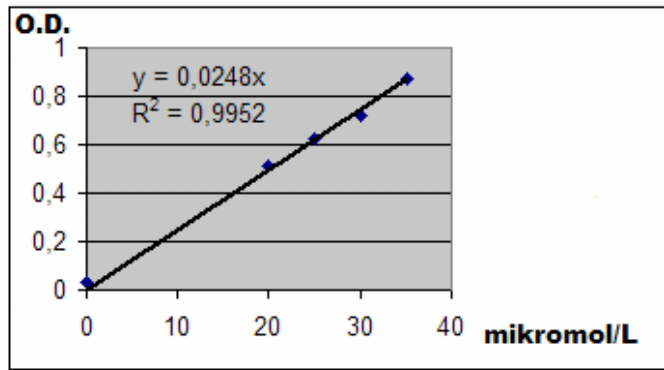
Çalışma

Serum örneklerine, çalışma öncesi, Syrifil™-MF marka (25mm, 0,22µm) filtrelerle ultrafiltrasyon işlemi uygulandı. Çalışma prosedürü Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. NO çalışma prosedürü

	Kör	Numune
Çalışma tamponu	200 µL	-
Numune	-	80 µL
Enzim kofaktörü	-	10 µL
Nitrat Redüktaz	-	10 µL
Oda ısısında 3 saat inkübasyona bırakıldı.		
Griess Reaktifi 1	-	50 µL
Griess Reaktifi 2	-	50 µL
Renk oluşumu için oda ısısında 10 dakika bekletilen, numune ve standartların absorbanansı, 540 nm'de köre karşı okundu		

Nitrat standart grafiği yardımıyla, numunelerin vermiş olduğu absorbanların konsantrasyonu, hesaplandı. Nitrik oksit seviyeleri, µmol/L olarak verildi.

**Şekil 3.2.** NO standart grafiği

3.2.4. GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü

Fosfat tamponu hazırlanması

Stok fosfat tamponları:

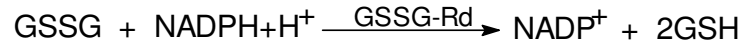
I- 0.05 M NaH₂PO₄

II- 0.05 M Na₂HPO₄

I ve II çözeltileri pH: 7 olacak şekilde (v/v) karıştırıldı.

Prensip

GSH-Px tarafından katalizlenen reaksiyonda GSH'ın H₂O₂ ile oksidasyonu sonucu oluşan okside glutatyonun (GSSG) glutatyon redüktaz (GSSG-Rd) kataliziyle tekrar redükte glutatyon (GSH) dönüşmesi sırasında tüketilen NADPH konsantrasyonu üzerinden 340 nm'de oluşan absorbans azalmasının 4 dk boyunca izlenmesi prensibine dayanır (89).



Reaktifler

1. 0.05 M Fosfat tamponu, pH 7 (5mM EDTA içerir)
2. 0,15 M GSH
3. 8,4 mM NADPH
4. 100 U/mg protein /ml GSSG-Rd (Sigma, G-1762)
5. 112,5 mM NaN₃
6. 2,2 mM H₂O₂ (Taze hazırlanır)

Çalışma

GSH-Px aktivitesi tayin edilecek plazma numuneleri seyreltilmeden çalışıldı. GSH-Px çalışma prosedürü Tablo 3.4'de verilmiştir.

Tablo 3.4. GSH-Px çalışma prosedürü

	Kontrol	Numune (plazma)
Çalışma tamponu	2.63 mL	2.63 mL
NADPH	0.10 mL	0.10 mL
GSSG-Rd	0.01 mL	0.01 mL
NaN ₃	0.01 mL	0.01 mL
GSH	0.10 mL	0.10 mL
Numune	-	0.05 mL
Tip1 su	0.05 mL	-
Oda ısısında 10 dk inkübasyona bırakıldı.		
H ₂ O ₂	0.1 mL	0.1 mL
25 °C’de 4 dk boyunca enzim aktivitesindeki düşüş Tip 1 su körüne karşı 340 nm dalga boyunda izlendi.		

Hesaplama

Her numune ve kontrol tüpü için, 2. ve 4.dk OD değerleri kullanılarak, $\Delta OD / dk$ değerleri hesaplandı. Daha sonra numune $\Delta OD / dk$ değerlerinden kontrol değerleri çıkarılarak net $\Delta OD / dk$ değerleri elde edildi.

$$\Delta OD_{\text{numune}} = \Delta OD - \Delta OD_{\text{kontrol}}$$

Bir ünite GSH-Px, standart deney şartlarında 1.0 mikromol NADPH’ın oksidasyonunu katalizleyen enzim miktarı olarak tanımlandı (U/mL= $\mu\text{mol NADPH} / dk/mL$).

NADPH’in molar absorptivite katsayısı= $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kullanılarak, plazma numunelerinin net $\Delta OD / dk$ değerlerinden, ünite birimine geçildi.

$$\text{Ü/ml} = \frac{\Delta OD / dk}{\xi} \times \frac{\text{Total hacim (ml)}}{\text{Numune hacmi (ml)}} \times \frac{10^6 \mu\text{mol}}{\text{mol}} \times \frac{1}{1000 \text{ ml}}$$

$$\ddot{U}/\text{ml} = \frac{\Delta \text{OD}_{\text{numune}}}{6,22 \cdot 10^3} \times \frac{10^6}{1000} \times \frac{3 \text{ (Tüpteki ml miktarı)}}{0,05}$$

Plazma GSH-Px aktiviteleri \ddot{U}/mL olarak hesaplandı.

XO aktivitesi için CV değeri % 3.8 olarak bulundu.

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin gösterimi, aritmetik ortalama \pm standart sapma ($X \pm SS$) olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uygun olmayan LH ve XO değişkenleri nonparametrik testler ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren test parametreleri için ise parametrik testler yapıldı. İnfertil ve kontrol grubundan elde edilen biyolojik materyalde çalışılan parametrelerin karşılaştırılmasında normal dağılım testler için Bağımsız İki Örnek t testi, normal dağılım göstermeyen parametreler için Mann Whitney U Testi yapıldı.

Açıklanamayan infertil, PKOS ve kontrol grubunu, parametre değişkenlerine dayalı karşılaştırmak için One Way Anova (Tukey Testi) kullanıldı. Nonparametrik testler için ise Kruskal Wallis Testi uygulandı. Korelasyon analizi için Pearson korelasyon analizi yapıldı. Tüm istatistiki karşılaştırmalar, SSPS for Windows 13.0 paket bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

İnfertil grup ile kontrol grubunun, yaş, kilo, boy, vücut kütle indeksi (BMI), FSH ve LH verilerinin karşılaştırılması Tablo 4.1’de verilmiştir. İnfertil grup ile kontrol grubu yaş, kilo, boy, BMI, FSH ve LH açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Tablo 4.1. İnfertil grup ile kontrol grubunun yaş, kilo, boy, BMI, FSH, LH ve bulgularının karşılaştırılması

Parametreler	İnfertil Grup (n:63)	Kontrol Grubu (n:20)	P
Yaş (yıl)	28.42±4.20	29.5±4.47	0.331
Kilo (kg)	67.45±10.32	65.10±11.67	0.392
Boy (cm)	161.25±5.30	161.40±5.53	0.916
BMI (kg/m ²)	25.81±3.68	25.06±4.81	0.461
FSH (mU/mL)	6.07±2.60	6.40±1.67	0.596
LH (mU/mL)	5.99±3.76	4.89±2.59	0.229

İnfertil grup ile kontrol grubu, XO, PON1 aktiviteleri, NO düzeyi ile GSH-Px aktivitesi açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak NO düzeyi ile GSH-Px aktiviteleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Kontrol grubuna göre, infertil grupta XO aktivitesi yüksek, PON1 aktivitesi ise düşük olarak bulundu (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. İnfertil grup ile kontrol grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması

Parametreler	İnfertil Grup (n:63)	Kontrol Grubu (n:20)	P
XO (U/mL)	2.01±0.26	0.83±0.36	0.001
PON1 (U/L)	137.27±62.06	192.06±82.56	0.002
NO (µmol/L)	7.58±3.45	7.65±2.5	0.925
GSH-Px (U/mL)	175.88±72.24	154.33±58.13	0.229

Etiyolojisine göre infertil grubu, açıklanamayan infertil ve PKOS şeklinde iki grupta incelediğimizde, açıklanamayan infertil grupta, kontrol grubuna göre XO aktivitesi yüksek, PON1 aktivitesi ise düşük olarak bulundu. NO düzeyi ve GSH-Px aktivitesi ise açıklanamayan infertil grupta kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Açıklanamayan infertil grup ile kontrol grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Açıklanamayan İnfertil Grup (n:33)	Kontrol Grubu (n:20)	p
XO (U/mL)	2.03±0.17	0.83±0.36	0.001
PON1 (U/L)	140.85±55.54	192.06±82.56	0.025
NO (µmol/L)	7.12±3.79	7.65±2.5	0.829
GSH-Px (U/mL)	182.22±83.18	154.33±58.13	0.336

PKOS grubu ile kontrol grubunu karşılaştırdığımızda, PKOS grubunda kontrol grubuna göre XO aktivitesi yüksek, PON1 aktivitesi ise düşük olarak bulundu. NO düzeyi ve GSH-Px aktivitesi ise kontrol grubuna göre, PKOS grubunda istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. PKOS grubu ile kontrol grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması

Parametreler	PKOS Grubu (n:30)	Kontrol Grubu (n:20)	p
XO (U/mL)	1.99±0.34	0.83±0.36	0.001
PON1 (U/L)	133.34±69.28	192.06±82.56	0.011
NO (µmol/L)	8.08±3.03	7.65±2.5	0.892
GSH-Px (U/mL)	168.91±58.54	154.33±58.13	0.748

Açıklanamayan infertil grup ile PKOS grubu, XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktiviteleri açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak her iki grup arasında fark bulunamadı (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Açıklanamayan infertil grup ile PKOS grubunun XO aktivitesi, PON1 aktivitesi, NO düzeyi ve GSH-Px aktivitelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Açıklanamayan İnfertil Grup (n:33)	PKOS Grubu (n:30)	p
XO (U/mL)	2.03±0.17	1.99±0.34	0.845
PON1 (U/L)	140.85±55.54	133.34±69.28	0.899
NO (µmol/L)	7.12±3.79	8.08±3.03	0.470
GSH-Px (U/mL)	182.22±83.18	168.91±58.54	0.728

Açıklanamayan infertil grup, PKOS ve kontrol grubunu yaş, kilo, boy, BMI, FSH ve LH değerleri açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Açıklanamayan, PKOS ve kontrol grubunun yaş, kilo, boy, BMI, FSH, LH bulgularının karşılaştırılması

Parametreler	Açıklanamayan İnferil Grup (n:33)	PKOS Grubu (n:30)	Kontrol Grubu (n:20)	p Açıklanamayan inferil & PKOS	p Açıklanamayan inferil & kontrol	p PKOS & kontrol
Yaş (yıl)	28.63±3.99	28.20±4.48	29.5±4.47	0.915	0.759	0.549
Kilo (kg)	66.78±10.84	68.18±9.84	65.10±11.67	0.863	0.843	0.580
Boy (cm)	161.69±5.05	160.76±5.61	161.40±5.53	0.772	0.979	0.912
BMI (kg/m ²)	25.55±4.14	26.10±3.13	25.06±4.81	0.852	0.900	0.640
FSH (mU/mL)	6.28±2.08	5.26±1.85	6.40±1.67	0.091	0.974	0.102
LH (mU/mL)	5.63±2.30	6.38±4.91	4.89±2.59	0.680	0.741	0.316

Yapılan Pearson korelasyon analizinde, PON1 aktivitesi ile hem NO düzeyi arasında ($p=0.048$, $r=-0.218$), hem de XO aktivitesi arasında negatif korelasyon ($p=0.004$, $r=-0.311$) bulundu.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bayan infertil hastalarda oksidatif stresin araştırıldığı yayınlar bildirilmektedir (90). Biz bu çalışmamızda bayan infertil hastalarda, oksidatif stres parametrelerini araştırdık. Bayan infertil hasta grubumuz, PKOS ve açıklanamayan infertil hastalardan oluşmaktaydı.

PKOS genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstrüel düzensizlikler (oligo-amenore, disfonksiyonel uterus kanaması), hiperandrojenizm bulguları (hirsütizm, akne, ciltte yağlanma, androjenik alopesi) ve infertilite ile karşımıza çıkmaktadır (31). Son yıllarda PKOS'ta endotel disfonksiyonu ve artmış kardiyovasküler hastalık riski bildirilmektedir (91, 92). Bu hastalarda, karotis ve femoral arterlerde intima kalınlığının ve aterosklerotik plak sayısının, sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (93). PKOS'lu hastaların, hiperandrojenizm, insülin direnci, glukoz intoleransı, tip 2 diyabet ve obezite nedeniyle kardiyovasküler hastalık için yüksek risk altında oldukları düşünülmektedir (91). Elia ve arkadaşları (94), overyal hücrelerde artmış ROS üretiminin bir sonucu olarak overlerin fonksiyonlarının bozulduğunu belirtmişlerdir. PKOS'lu hastalarda ovaryan sterogenezisin bozulduğu bildirilmiştir. PKOS'lu hastalarda insülin direncinin neden olduğu hipergliseminin monositleri aktiflediği ve bu hücreler tarafından aşırı miktarda üretilen ROS'un doku hasarına yol açtığı bildirilmiştir. (95). PKOS'ta oksidatif stresin

arttığı ileri sürülmektedir. Membrana bağlı olan NADPH oksidaz aktivitesi ile oluşan, O_2^- 'nin PKOS'ta oluşan ROS üretimini artırdığı düşünülmektedir (96).

PKOS'lu hastalarda oksidatif stresin değerlendirildiği çalışmalar yetersizdir (97, 98). Açıklanamayan infertil hasta grubunda oksidatif stresle ilgili yapılan çalışmalar çok kısıtlıdır (99).

Biz bu çalışmamızda infertil bayan hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre XO aktivitesini yüksek olarak bulduk. Ayrıca infertil hastaları etiyojisine göre gruplara ayırdığımızda, hem açıklanamayan infertil, hem PKOS'lu hastalarda serum XO aktivitesini, sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulduk.

Yapılan literatür taramasında bayan infertil hastalarda XO aktivitesinin araştırıldığı çalışmaya rastlanılmadı. Aynı şekilde hem açıklanamayan infertil hasta grubunda hem de PKOS grubunda da XO aktivitesi araştırılan makaleye rastlanılmadı. Bu sonuçlar ışığında bayan infertil hastaların (hem açıklanamayan infertil grup hem de PKOS grubunun) artmış XO aktivitesinden dolayı oksidatif stres altında olduğu söylenebilir.

Doku hipoksisi ile, tüm vücut sıvılarında bir pürin metaboliti olan hipoksantin artarak birikir. Artmış olan hipoksantin XO sistemi ile ortadan kaldırılması esnasında özellikle reperfüzyon ve reoksijenizasyon evresinde O_2^- 'nin aşırı üretildiği bildirilmektedir (100). Sonuç olarak, XO ile ortamda O_2^- oluşur. Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl üretimi, O_2^- 'nin dismutasyonu ile olur. Yani iki O_2^- molekülü, O_2^- dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak H_2O_2 ve O_2 'yi oluşturur. H_2O_2 de oksidan bir ajandır (50, 49).

PKOS'lu hastalarda XO aracılı ROS oluşumunu, bu hastaların, patogenezinde yer alan teka ve granüloza hücrelerinin turn-overı sırasında meydana gelen adenin nükleotitlerinin oluşumu başlatmış olabilir. Çünkü pürin nükleotitleri, yapısındaki fosfat gruplarını 5' nükleotidaz ile yapıdan uzaklaştırır. Daha sonra oluşan adenosin, adenosin deaminaz ile inozine deamine edilir. Takiben oluşan inozin ise, hipoksantine hidroliz edilir. Oluşan hipoksantin, XO ile sırasıyla ksantin ve ürik asite hidroliz edilir (48).

XO, demir ve molibden içeren önemli bir enzimdir (48). Enzim, asıl olarak ksantin dehidrogenaz formunda bulunur. Organizmada çeşitli reaksiyonlar ile ksantin dehidrogenaz, XO formuna dönüşür. Bunlara örnek olarak proteoliz, sülfidril oksidasyonu ve anaerobik koşullar verilebilir. İskemi reperfüzyon çalışmaları

göstermiştir ki, iskemi esnasında ksantin dehidrogenazın preteolitik olarak yıkımı sonucunda XO oluşmaktadır. İskemi esnasında, ATP'nin katabolizması sonucu pürin nükleotitleri oluşmaktadır. Bu durum da, XO aktivitesinin artmasıyla sonuçlanmaktadır (100). XO ile ksantin oksidasyonu sırasında O_2^- açığa çıkmasıyla oksidatif stresten sorumlu bir mekanizma meydana gelir. Bu artmış ROS, hücre membranlarının lipid peroksidasyonlarından sorumlu olabileceği gibi, doku ve organ hasarından da sorumlu olduğu düşünülmektedir. Birçok hastalık grubunda XO aktivitesi ve bununla ilişkili olarak oksidatif stresin arttığı bildirilmiştir (101-103).

Duleba ve arkadaşları (104), yaptığı rat çalışmasında, XO aracılı O_2^- 'nin oluşturduğu oksidatif stresin, teka hücrelerinde proliferasyonu başlatabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca ROS'un çeşitli hücre tiplerinde, örneğin fibroblast ve düz kas hücreleri gibi, mitojenik bir sinyal olarak çalıştığı bildirilmiştir. Duleba ve arkadaşları (104), artmış oksidatif stresin ve azalmış antioksidan sistemin over mezanşiminin proliferasyonunda önemli rol oynayabileceğini ileri sürmüştür. PKOS, ovaryal teka ve stroma hiperplazi ile karakterize bir hastalıktır. Bu hastalarda bulmuş olduğumuz yüksek XO aktivitesinin, teka ve stroma hiperplazisi ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Açıklanamayan infertil hastalarda artmış XO aktivitesinin mekanizması net değildir. Çünkü hastalığın patogenezi net olarak bilinmediği için bir öneride bulunmak çok zordur. Ancak XO aracılığıyla oksidan ajanlara maruz kaldığı ve bu durumunda patogeneze rol oynayabileceği söylenebilir. Organizma da önemli ROS kaynaklarından biride XO sistemidir (48).

Biz bu çalışmamızda, infertil bayan hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre PON1 aktivitesini düşük olarak tespit ettik. Ayrıca infertil hastaları gruplara ayırdığımızda hem nedeni açıklanamayan infertil hastalarda hem PKOS'lu grupta serum PON1 aktivitesini düşük bulduk. Yapılan literatür taramasında açıklanamayan infertil grupta PON1 aktivitesine bakıldığı yayına rastlanılmadı. PKOS'lu hastalarda PON1 aktivitesi düşük olarak bildirilmiştir (92, 105-107). Çalışmamızda bulduğumuz azalmış PON1 aktivitesinin sebebi, artmış lipid peroksidasyonu olabilir.

LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna ilişkin görüşler çalışmalarca desteklenmiştir. Aviram ve arkadaşları (108) PON1 aktivitesinin LDL oksidasyonu sırasında yaklaşık olarak %50 oranında azaldığını göstermişlerdir. LDL'yi oksidasyona karşı koruyan PON1, okside LDL oluşumu esnasında zamana bağlı olarak inaktive

olmaktadır (108). Bu olayın mekanizması henüz yeterince açıklanamamıştır. O_2^- 'in, PON1 inaktivasyonunda rol oynayabileceği düşünülmüştür. Biz de XO aktivitesi ile PON arasında negatif bir korelasyon bulduk. XO reaksiyonu sırasında oluşan O_2^- 'nin, PON1'in inaktivasyonunda rol oynayabileceği düşünüldü.

PON1 serbest sülfidril grubu ile lipit peroksidasyonunun bazı ürünleri arasında bir ilişki olabileceği ileri sürülmüştür. Bu durum, okside LDL'deki okside kolesterol araziidonat veya okside araziidonat içeren fosfolipitler ile PON1'in yapısında bulunan 284. konumdaki sistein ile serbest sülfidril grubu arasındaki etkileşim ile ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (109).

Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipitler de lipit peroksidasyonuna uğramaktadır. PON1, lipit peroksidasyonunun aterosklerotik etkilerine karşı hücreleri korur ve hücre membranlarını oksidasyondan korur. LDL'nin oksidasyonu sırasında oluşan okside fosfolipitlerden okside kolesterol esterleri ve lizofosfatidilkolinler, PON1 enzimidaki serbest sülfidril grubu ile etkileşir ve enzimin inaktive olmasını sağladığı bildirilmektedir (109).

PON1 sadece LDL'yi değil, HDL'yi de oksidasyondan korur. HDL'nin ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum, makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimini yavaşlatmaktadır (55, 56).

Lipitler, serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Serbest radikallerle, hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları reaksiyona girer ve peroksidasyon ürünleri meydana gelir. Oksidatif stresin, doku hasarına yol açma mekanizmalarından biri de lipit peroksidasyonudur. Yapılan literatür çalışmasında bu hasta grubunda lipit peroksidasyonunun arttığı bildirilmektedir (110).

Ayrıca PON1 aktivitesindeki azalma bu hastalarda görülen endotel disfonksiyonu ile ilişkili olabilir. Çünkü özellikle son yıllarda çeşitli hasta gruplarında yapılan çalışmalarda azalmış PON1 aktivitesi ile ateroskleroz ve endotel disfonksiyon arasında ilişki olabileceği üzerinde durulmaktadır ve bu mekanizma üzerine terapötik yaklaşımlar denenmektedir (111).

PKOS'lu hastalarda, PON1 gen polimorfizminin değerlendirildiği bir çalışmada, bu hastaların PON1 -108T varyantı homozigot oldukları gösterilmiştir. Ayrıca -108T

homozigotluğu olan kişilerde PON1 ekspresyonunun düşük olduğu verilmiştir. Sonuç olarak -108T homozigotluğu PKOS'ta düşük PON1 ekspresyonuna neden olabilir. PKOS'lu hastalarda PON1 aktivitesi ile PON1 gen polimorfizmi birlikte değerlendirmekte faydalı olabilir (106). Karaciğerin PON1 mRNA ekspresyonunun bazı çevresel ve genetik faktörlerden etkilendiği bilinmektedir. Özellikle proinflamatuvar ve androjenlerin, karaciğerin PON1 mRNA ekspresyonunu azalttığı bildirilmektedir. Hiperandrojenizm de proinflamatuvar mediatörlerle ilişkili olduğu bilinen PKOS'ta PON1 aktivitesinin düşüklüğü bu mekanizmalar ile açıklanabilir (92).

Aterosklerotik hastalarda oksidatif stresin arttığı PON1 aktivitesinin düşük bulunduğu bilinmektedir (55, 112). Bundan dolayı PON1 aktivitesinin aterosklerotik olaylarla ilişkili olduğu bilinmektedir (55). Bu görüşü destekler şekilde, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık riskinin yüksek olduğu PKOS'lu hastalarda PON1 aktivitesi düşük bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda göstermiştir ki PON1 aktivitesinin düşüklüğünde artmış sitokinler suçlanmaktadır (113, 114). İnfertil bayan hastalarda sitokinlerin arttığı bildirilmektedir (115). PON1 aktivitesinin düşük olmasının bir nedeni de bu faktör olabilir.

Çalışmamızda PON1 ile NO arasında negatif bir korelasyon bulundu. PON1, antioksidan bir enzim olduğu için azalmış aktivitesinin, oksidatif stresle ilişkili olabileceği dolayısıyla, radikal özellikteki NO'nun artması ile ilişkili bir korelasyonun bulunması bizi şaşırtan bir sonuç olarak karşımıza çıkmadı. Ortamda O_2^- 'nin fazla olması sonucunda NO ile O_2^- reaksiyona girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur. Böylece hem NO'nun fizyolojik etkisi inhibe edilir ve düzeyi azalır, hem de çok daha potent bir oksidan madde oluşmuş olur (116).

Biz bu çalışmamızda infertil bayan hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre NO düzeyini farksız bulduk. Ayrıca infertil hastaları gruplara ayırdığımızda, hem PKOS'lu hem de nedeni açıklanamayan infertil hastalarda serum XO aktivitesini yine kontrol grubuna göre farksız bulduk. Açıklanamayan infertil grup da NO ile ilgili yapılan yayına rastlanılamadı. PKOS'lu hastalarda NO düzeyi üzerine Nacul ve arkadaşlarının (117) yaptığı sadece bir çalışmaya rastlandı. Bu araştırmacılar, serum NO düzeyini kontrol grubundan farksız bulmuşlardır. Bu konuda çalışmalar çok yeni ve yetersizdir. NO'nun infertilite üzerine, her aşamada, endometrium, myometrium, fallop tüpleri, over ve implantasyon üzerine etkili olduğu bildirilmektedir (118). Ancak, mekanizma tam

olarak belli değildir. İnfertilitede ROS kadar reaktif nitrojen türleri (RNS)'nin de sorumlu olduğu düşünülmektedir.

NO ile ilgili artan çalışmalar ile bu molekülünün organizmada pek çok sistemle ilgili geniş bir yelpazeye yayılan önemli işlevleri oluşunu ortaya koymuştur. Bu fonksiyonların bazıları, vazodilatasyon, trombosit agregasyonu, damar düz kas proliferasyonunun inhibisyonudur (75, 76). NO'nun kardiyoprotektif bir ajan olmasına karşın bu etkisi sadece fizyolojik konsantrasyonlarda olmaktadır. Zıt olarak, son yörüngesinde bulunan eşleşmemiş elektronu nedeniyle serbest radikal özelliği vardır. Bundan dolayı NO'nun hem düşüklüğü, hem de yüksekliği patolojik durumlar oluşturur (75). Ayrıca normal endotel fonksiyonu için de NO'nun fizyolojik düzeyde bulunması gereklidir (76). Bu bilgiler ışığında bayan infertil hastalarda, gerek açıklanamayan infertil, gerekse PKOS'lu hastalarda NO'nun düzeyinin kontrol grubuna göre farksız bulunmasından dolayı, bu hastaların NO aracılıyla oksidatif strese maruz kalmadığı ayrıca PKOS'lu hastalarda görülen endotel disfonksiyonundan da sorumlu olamayacağı düşünüldü. Bu konuda yapılan çalışmaların yetersiz olduğu ve bu konunun aydınlatılması için yeni çalışmaların gerekli görüldüğü düşünüldü.

ROS'un oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalara "antioksidan savunma sistemi" ya da kısaca "antioksidanlar" denir. PON1, lipitleri peroksidasyondan koruyan önemli antioksidanlardan biridir (56). GSH-Px ise oksidan H_2O_2 'i nötralize eder. GSH-Px, H_2O_2 'in indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px, oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px, sadece H_2O_2 'i değil aynı zamanda lipit peroksidasyonunu da azaltır. Bundan dolayı lipitleri peroksidasyondan da korur (46).

Biz bu çalışmamızda bayan infertil bayan hastalarda, GSH-Px aktivitesini, kontrol grubuna göre farksız bulduk. Ayrıca infertil hastaları gruplara ayırdığımızda, hem nedeni açıklanamayan infertil hastalarda, hem de PKOS'lu hastalarda serum GSH-Px aktivitesini, kontrol grubuna göre farksız bulduk. Açıklanamayan infertil hastalarda GSH-Px aktivitesinin araştırıldığı çalışmaya rastlanılamamıştır. Yaptığımız literatür taramasında, PKOS'lu hastalarda GSH-Px ile ilgili bir yayına rastlandı. Bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak, Sabuncu ve arkadaşlarının (110) yaptığı çalışmaya göre, PKOS'lu hastalarda GSH-Px aktivitesi, sağlıklı kontrol grubundan farklı bulunmamıştır. Araştırmacılar, önemli bir antioksidan olan SOD aktivitesini yüksek olarak tespit

etmişlerdir. PKOS'lu hastalarda fazla miktarda oluşan O_2^- 'nin temizlenmesi için SOD'un kompensatuvar mekanizma olarak aşırı arttığını ileri sürmüşlerdir. Mekanizma olarak GSH-Px aktivitesinin de artmasını beklediklerini belirten araştırmacılar, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farksız buldukları GSH-Px aktivitesinin sebebinin, enzimin aktive göstermesi için gerekli olan tiyol gruplarının tükenmesinin olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Aynı mekanizma yani, GSH-Px enziminin aktivite göstermesi için gerekli olan tiyol gruplarının yetersizliği, bizim çalışma grubumuzda bulduğumuz sonuçlar ile ilişkili olabilir. Bu konu ile ilgili mekanizmanın netleşmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar artmış ROS ve RNS'nin birçok hastalığın patogenezinde rol aldığını göstermektedir (48, 119, 120). Bu tez araştırmasında, bayan infertil hastalarda, (hem açıklanamayan infertil hasta grubunda, hem de PKOS grubunda) oksidan bir enzim olan XO aktivitesinin yüksek, antioksidan bir enzim olan PON1 aktivitesinin düşük bulunması, buna karşılık, NO düzeyleri ile GSH-Px aktivitesinin normal olarak bulunması, bu hasta gruplarının oksidatif stres altında olduğunu ve özellikle XO aracılı lipid peroksidasyonunun olduğunu, ayrıca bu durumda PKOS'lu hastalarda artmış ateroskleroz ile ilişkili olabileceğini düşündürdü.

6. KAYNAKLAR

1. Kahraman S, Yakın K. Ovulasyon indüksiyonu. I. Baskı, İstanbul, 2000: 122-155.
2. Şahmay S, Atası T. Infertilite. Jinekoloji. Nobel Kitabevi. 2. Baskı. İstanbul, 2000; 460-479.
3. Speroff L, Fritz MA. Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite (eds), Erk A, Günalp S. 7. baskı. Ankara 2007: 478-816.
4. Kışnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, et al. Erkeğe bağlı infertilite, Androloji. Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ed. Güneş Yayınları, 1996 Ankara, 1287-1288.
5. Berek JS. Infertilite. In: Berek JS, Adashi E.Y., Hillard P.A.Novak Jinekoloji, Nobel Kitabevi 12. Baskı. İstanbul, 1998; 918-925.
6. Şahmay S. Infertilitede ovulatuvar faktör. Reprodüktif endokrinoloji ve infertilite. Ertunçalp E (eds). Meta Basım Yayım. İstanbul, 1995; 9.
7. Katz E. The luteinised unruptured follicle and other ovulatory dysfunctions. Fertil Steril 1998; 50: 839-844.
8. Daling JR. Tubal infertility in relation to prior induced abortion. Fertil Steril 1985; 43: 389-396.
9. Aydın F. Infertilite Nedeniyle Operasyona Alınan Hastalarda Chlamydia Trachomatis Antikor Titreleri İle Tubo-Peritoneal Patalojiler Arasındaki İlişki, Uzmanlık Tezi, TC

Sağlık Bakanlığı Süleymaniye Doğum ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2004.

10. Olive DL, Schwartz LB. Endometriosis. *New Engl J Med* 1993; 328: 1759-1769.
11. Cohen J, Palmer R. Sterlite cojugale. Mason Yayınları, Paris, 1979; 71-79.
12. Jewelemicz R, Wallach EE. Evulation of the infertile couple. In: Wallach EE, Zacur HA (eds), *Reproductive medicine and surgery*. Mosby-Year Book Inc. St. Louis 1995: 371-398.
13. Burrows PJ, Schrepferman CG, Lipshultz LI. Comperehensive office evaluation in the millennium. *Urol Clin Worth Am* 2002; 29: 873-894.
14. Comhoire F, Vermeulen L. Human semen analysis. *Hum Reprod Update* 1995; 4: 343-362.
15. Forti G, Krausz C. Clinical review 100. evulation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4177-4182.
16. Templetan A, Penny G. The incidance characteristick and prognosis of patients whose infertility is unexplained. *Fertil Steril* 1982; 37: 175-180.
17. Marrero MA, Ory SJ. Unexpained infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1991; 3: 211-218.
18. Radolph JF. Unexplained infertility. *Clin Obstet Gynecol* 2000; 43: 897-905.
19. Dunaif A, Xia J, Book CB, et al. Excessive insulin receptor serine phospharylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle: A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest* 1995; 96: 801-809.
20. Hopkinson EC, Satar N, Fleming R, et al. Polycystic ovary syndrome: the metabolic syndrome comes to gynecology. *BMJ* 1998; 317: 329-332.
21. Rajkhova M. Polycystic ovary syndrome: a risk factor for cardiovascular disease. *BJOG* 2000; 107: 11-18.
22. Rotterdam ESHRE/ASRM Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19: 41-47.
23. Pişkinpaşa S, Yıldız BO. Polikistik over sendromu. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2005; 36: 168-174.

24. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, et al. Profound peripheral insulin resistance independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989; 38: 1165-1174.
25. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2694-2698.
26. Adams J., Polson DW., Frank S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *Br Med J* 1986; 293: 355-359.
27. Nobel F, Dewailley D. Puberty and polycystic ovary syndrome: the insulin/insulin like growth factor hypothesis. *Fertility and Sterility* 1992; 58: 655-663.
28. Polson DW, Adams J, Wadsworth J, et al. Polycystic ovaries a common finding in normal women. *Lancet* 1988; 1: 870-872.
29. Goldzieher JW, Gren JA. Polycystic ovary I. clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab* 1961; 22: 325-338.
30. Carmina E, Koyama T, Chang L, et al. Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 1807-1812.
31. Williamson K, Gunn AJ, Johnson N, et al. The impact of ethnicity on the presentation of polycystic ovarian syndrome. *J Obstet Gynecol* 2001; 41: 202-206.
32. Bjorntorp P. The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med Scand Suppl.* 1998; 723: 121-134.
33. Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S, et al. Insulin and androgen relationships with abdominal body fat distribution in women with and without hyperandrogenism. *Horm Res* 1993; 39: 179-187.
34. Tsilchorozidou T, Overton C, Conway GS. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2004; 60: 1-17.
35. Engin A, Altan N. Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. *Hematologia* 2000; 30: 91-96.
36. Engin A, Altan N, Işık E. Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism. *Drugs R D.* 2005; 6: 35-40.
37. Engin A, Bozkurt BS, Altan N, et al. Nitric oxide-mediated liver injury in presence of experimental bile duct obstruction. *World Journal of Surgery* 2003; 27: 253-255.

38. Hasanoğlu E, Altan N, Sindel P, et al. The Relationship Between Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity And Plasma Levels of Some Trace Elements (Al,Cu,Zn) of Dialysis Patients. *General Pharmacology* 1994; 25: 107-110.
39. Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, et al. Oxidation of Uric Acid in Rheumatoid Arthritis: Is Allontoin a Marker of Oxidative Stress? *Free Radical Research* 2004; 38: 623-628.
40. Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, et al. Evaluation of allantoin levels as a new marker of oxidative stress in Behçet's disease. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 2006; 35: 61-64.
41. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU. Vet. Fak. Dergisi* 2004; 15 :91-96.
42. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3 ed, Oxford Science Publications 2001: 22-24.
43. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *The American Journal of Medicine* 2000; 109: 33-44.
44. Cross CE, Hallwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.
45. Kuyvenhoven JP, Meinders AE. Oxidative stress and diabetes mellitus, Pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine* 1999; 10: 9-19.
46. Altan N , Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turk J Biochem* 2006; 31 : 51-56.
47. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox Report* 2004; 9: 145-154.
48. Valko M., Izakovic M., Mazur M. et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.* 2004; 266: 37-56.
49. Akyol O, Gokbulut I, Koksall N, et al. The activities of purine catabolizing enzymes in plasma and bronchial washing fluid in patients with lung cancer and pneumonia. *Clin Biochem* 2001; 29: 190-193.
50. Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO, et al. The effect of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with α tocopherol in rat kidneys. *Urol Res* 2001; 29: 190-193.

51. Aldridge WN. Serum esterases. I. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. *Biochem J* 1953; 53: 110-117.
52. Uriel A. Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxylique apres electrophorese et immunoelectrophorese en gelose, I: applications a l'etude des esterases du serum humain normal. *Am Instit Pasteur*. 1961; 101: 104-110.
53. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, et al. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B* 1985; 82: 675-7.
54. Draganov DI, Stetson PL, Watson CE. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON 3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem* 2000; 275 :110-117.
55. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 473-480.
56. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, et al. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998; 101: 1581-1590.
57. Karabina SA, Lehner AN, Frank E, et al. Oxidative inactivation of paraoxonase implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1725(2): 213-221.
58. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, et al. Human paraoxonases (PON1, PON2 and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res* 2005; 46: 1239-1247.
59. Aviram M, Rosenblat M, Scott B, et al. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol & Med* 1999; 26: 892-904.
60. Griffith MK, Virella GT, Stevenson HC, et al. Low density lipoprotein metabolism by human macrophages activated with low density lipoprotein immune complexes. A possible mechanism of foam cell formation. *J Exp Med* 1988; 168: 1041-1059.
61. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum Paraoxonase. *Gen Pharm* 1998; 3: 329-336.
62. Mackness MI, Mackness B, Arrol S, Wood G, Bhatnagar D, Durrington PN. Presence of paraoxonase in human interstitial fluid. *FEBS Letters*, 1997; 416: 377-380.

63. Cathcart MK, McNally AK, Chisolm GM. Lipoxygenase-mediated transformation of human low density lipoprotein to oxidized and cytotoxic complex. *J Lipid Res* 1991; 32: 63-70.
64. Josse D, Lockridge O, Xie W, et al. The active site of human paraoxonase (PON1). *J Appl Toxicol* 2001; 21: 7-11.
65. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM, et al. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis* 2000; 149: 91-97.
66. Hasselwander O, McMaster D, Fogarty AD, et al. Serum paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in chronic renal failure. *Chin Chem* 1998; 44: 379-388.
67. La Du BN, Aviram M, Billecke S, et al. On the physical role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Inter* 1999; 119: 379-388.
68. Sanders SP. Asthma, viruses, and nitric oxide. *Proc Soc Exp Biol. Med* 1999; 220: 123-32.
69. Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, et al. Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995; 92: 7187-7191.
70. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, et al. The human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 214-227.
71. Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation* 2000; 101: 2510-2517.
72. Maron DJ, Ridker PM, Pearson TA, Grundy SM. Dyslipidemia, other risk factors, and the prevention of coronary heart disease. Ch 38. In: Fuster V, Alexander RW, O'Rourke R. *Hurst's The Heart* 10th ed. McGraw-Hill Companies. USA 2001: 1131-1160.
73. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high-density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis* 1999; 145: 227-238.
74. Pasqualini L, Cortese C, Marchesi S, et al. Paraoxonase-1 activity modulates endothelial function in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis* 2005; 183: 349-354.

75. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, et al. Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 135-159.
76. Moro MA, Russel RJ, Cellek S, et al. cGMP mediates the vascular and platelet actions of nitric oxide: confirmation using an inhibitor of the soluble guanylyl cyclase. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 1480-1485.
77. Li H, Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol* 2000; 190: 244-254.
78. Elphic MR, Green IC, O'Shea M. Nitric oxide synthesis and action in an invertebrate. *Brain Res* 1993; 619: 1928-1949.
79. Werner-Felmayer G, Goldere G, Werner ER, Gröbner P et al. Pteridine Biosynthesis and Nitric Oxide Synthase in *Phsarum Polycephalum*. *Biochem J*. In press, 1994; 884-887.
80. Mannervik B. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1985; 113: 490-5.
81. Mc Millan TJ., Steel GG. Molecular aspects of radiation biology: Basic Clinical Radiobiology. Steel GG (ed), Edward Arnold Publishers, I.ed. London. 1993: 211-223.
82. Mills GC. Hemoglobin catabolism. I. glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem* 1957; 229: 189-197.
83. Belloqui O, Cederbaum AI. Prevention of microsomal production of hydroxyl radicals, but not lipid peroxidation, by the glutathione glutathione peroxidase system. *Biochem Pharmacol.* 1986; 35: 2663-2669.
84. Michales C., Raes M., Toussaint O., Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 1994; 17: 235-248.
85. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.
86. Takahashi T, Cohen HJ. Selenium-dependent glutathione peroxidase protein and activity: Immunological investigations on cellular and plasma enzymes. *Blood* 1986; 68: 640-645.
87. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas. *FEBS Lett* 1975; 59: 245-249.
88. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, et al. Analysis of nitrate, nitrite and [ISN] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126: 131-138.

89. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-69.
90. Duckitt K. Infertility and subfertility. *Clin Evid* 2003: 2044-2073.
91. Dokras A. Cardiovascular disease risk factors in polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Med.* 2008; 26:39-44.
92. Dursun P, Demirtas E, Bayrak A et al. Decreased serum paroxonase 1 (PON1) activity: an additional risk factor for atherosclerotic heart disease in patients with PCOS. *Human Reproduction* 2006; 21: 104-108.
93. Luque Ramirez M, Mendieta Azcona C, Alvarez- Blasco F, et al. Androgen excess is associated with the increased carotid intima-media thickness observed in young women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2007; 22: 3197-203.
94. Elia E, Sander V, Luchetti CG, et al. The mechanism involved in the action of metformin in regulating ovarian function in hyperandrogenized mice. *Mol Hum Reprod* 2006; 12: 475-481.
95. Gonzales F, Rote NS, Minimum J, Kirwan JP. Reactive Oxygen Species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 336-340.
96. Dong F, Zhang X, Wold LE, et al. Endothelin-1 enhances oxidative stress, cell proliferation and reduces apoptosis in human umbilical vein endothelial cells: role of ET_B receptor, NADPH oxidase and caveolin-1. *Br J Pharmacol* 2005; 145: 323-333.
97. Palacio JR, Iborra A, Ulcova-Galova Z, Badia R, Martinez P. The presence of antibodies to oxidative modified proteins in serum from polycystic ovary syndrome patients. *Clin Exp Immunol.* 2006 ;144: 217-222.
98. Dinger Y, Akcay T, Erdem T et al. DNA damage, DNA susceptibility to oxidation and glutathione level in women with polycystic ovary syndrome. *Scand J Clin Lab Invest.* 2005; 65: 721-728.
99. Polak G, Koziol-Montewka M, Tarkowski R, et al. Peritoneal fluid and plasma 4-hydroxynonenal and malonyldialdehyde concentrations in infertile women. *Ginekol Pol.* 2001; 72: 1316-1320.
100. Kuwabara Y, Nishino T, Okamoto K, et al. Unique amino acids cluster for switching from the dehydrogenase to oxidase form of xanthine oxidoreductase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100: 8170-8175.

101. Sogut S, Aydın E, Elyas H, et al. The activities of serum adenosine deaminase and xanthine oxidase enzymes in Behcet's disease. *Clin Chimia Acta* 2002; 325: 133-138.
102. Inkster ME, Cotter MA, Cameron NE. Protection against oxidative stress in diabetic rats by wheat bran feruloyl oligosaccharides. *J Agric Food Chem.* 2007;55: 3191-3195.
103. Baldus S, Koster R, Chumley P, et al. Oxypurinol improves coronary and peripheral endothelial function in patients with coronary artery disease. *Free Radic Biol Med.*2005; 39: 1184-1190.
104. Duleba AJ, Foyouzi N, Karaca M, et al. Proliferation of ovarian theca-interstitial cells is modulated by antioxidants and oxidative stress. *Hum Reprod* 2004; 19: 1519-1524.
105. Fenkci IV, Serteser M, Fenkci S et al. Paraoxanase levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med.* 2007; 52: 879-883.
106. San Millán JL, Álvarez-Blasco F, Luque-Ramírez M et al. The PON1-108C/T polymorphism and not the polycytic ovary syndrome, is an important determinant of reduced serum paraoxanase activity in premenopausal women. *Human Reproduction* 2006: 1-5.
107. San Millan JL, Corton M, Villuendas G et al. Association of the polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 2640-2646.
108. Aviram M, Volkova N, Coleman R, et al. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein e-deficient (e(0)) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *J Agric Food Chem.* 2008; 56: 1148-1157.
109. Jaouad L, de Guise C, Berrougui H et al. Age-related decrease in high-density lipoproteins antioxidant activity is due to an alteration in the PON1's free sulfhydryl groups. *Atherosclerosis.* 2006; 185: 191-200.
110. Sabuncu T, Vural H, Harma M et al. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. *Clinical Biochem.* 2001; 34: 407-413.
111. Diamanti-Kandarakis E, Spina G, Kouli C, Migdalis I. Increased endothelin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome and the beneficial effect of metformin therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 4666-4673.

112. Sarandol A, Kirli S, Akaya C, et al. Coronary artery disease risk factors in patients with schizophrenia: effects of short term antipsychotic treatment. *J Psychopharmacol.* 2007; 21: 857-63.
113. Kerekes G, Szekanecz Z, Dér H, et al. Endothelial dysfunction and atherosclerosis in rheumatoid arthritis: a multiparametric analysis using imaging techniques and laboratory markers of inflammation and autoimmunity. *J Rheumatol* 2008; 15: 125-133.
114. Kumon Y, Suehiro T, Ikeda Y et al. Human paraoxanase-1 gene expression by hepG2 cells is downregulated by interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α , but is upregulated by interleukin-6. *Life Sciences.* 2003; 73: 2807-15.
115. Iborra A, Palacio J, Martinez P. Oxidative stress and autoimmune response in the infertile women. *Chem Immunol Allergy.* 2005; 88: 150-162.
116. Rutkowski R, Pancewicz SA, Rutkowski K, et al. Reactive oxygen and nitrogen species in inflammatory process. *Pol Merkur Lekarski.* 2007; 23: 131-136.
117. Nacul AP, Andrada CD, Schwaz P et al. Nitric oxide and fibrinogen in polycystic ovary syndrome: Associations with insulin resistance and obesity. *Eurj Obstet Gynea Reprad Biol.* 2006, Oct 16.
118. Dearn S, Rahman M, Lewis A, et al. Activation of platelet-activating factor (PAF) receptor stimulates nitric oxide (NO) release via protein kinase C- α in HEC-1B human endometrial epithelial cell line. *Mol Med.* 2000; 6: 37-49.
119. Lele RD. Causation, prevention and reversal of vascular endothelial dysfunction. *J Assoc Physicians India.* 2007; 55: 643-51.
120. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39 :44-84.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Kayseri’de doğdu. Orta öğrenimini 2000 yılında Melikgazi Lisesinde tamamlayarak mezun oldu. 2005 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldu. Lisans eğitimi süresince kendi bölümü tarafından yürütülen çalışmalarda görev aldı. 2005 yılında Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı.

İletişim Bilgileri

Adres: Alparsan Mah. Özler Sok. Kızılırmak Cad. Ferhan Sit. 11/21
Melikgazi / KAYSERİ

Tel: 0544 599 57 23

E-mail : tugbakoskerr@hotmail.com