

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI



**DENEYSEL POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PKOS)
OLUŞTURULAN RATLARDA MACA KÖKÜ (*LEPIDİUM
MEYENİİ*)'NÜN BAZI BİYOKİMYASAL VE
ANTİOKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
NİSANUR ÇELİKDEMİR YILDIRIM**

2025

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DENEYSEL POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PKOS)
OLUŞTURULAN RATLARDA MACA KÖKÜ (*LEPIDİUM*
***MEYENİİ*)'NÜN BAZI BİYOKİMYASAL VE ANTİOKSİDAN**
PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Tez Yazarı

Nisanur ÇELİKDEMİR YILDIRIM

Danışman

Doç. Dr. Emre KAYA

ŞUBAT, 2025

ELAZIĞ

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ONAY SAYFASI

**Tez Başlığı: Deneysel Polikistik Over Sendromu (PKOS) Oluşturulan
Ratlarda Maca Kökü (*Lepidium Meyenii*)'nün Bazı Biyokimyasal ve
Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi**

Tez Yazarı: Nisanur ÇELİKDEMİR YILDIRIM

Program/ Anabilim Dalı: Veteriner-Biyokimya A.D.

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Emre KAYA

İkinci Tez Danışmanı (varsa): -

Tez İlk Teslim Tarihi: .../.../20...

Tez Savunma Tarihi: 13/02/2025

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan	Prof. Dr. Seval YILMAZ	_____
Üye	Prof. Dr. Kıvanç İRAK	_____
Üye	Doç. Dr. Emre KAYA	_____

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun/...../20..... tarihli toplantısında
tescillenmiştir.

Prof. Dr. Mustafa İSSİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Nisanur ÇELİKDEMİR YILDIRIM

Tarih ve İmza

13.02.2025

TEŞEKKÜR

"Deneysel Polikistik Over Sendromu (PKOS) Oluşturulan Ratlarda Maca Kökü (*Lepidium Meyenii*)'nün Bazı Biyokimyasal ve Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi" başlıklı Yüksek Lisans tezimin hazırlanmasında bana maddi ve manevi destek veren, rehberlik eden, yol gösteren, cömert desteği ile akademik bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak tezimin bilimsel açıdan sağlam bir temele oturmasını sağlayan, her türlü soruma sabırla yanıt vererek araştırma yöntemlerimi geliştirmeme yardımcı olan, çalışmalarım sırasında verdiği geri bildirimlerle karşılaştığım zorlukları aşmamda ve daha derinlemesine analizler yapmamda büyük bir rol oynayan, her adımda yanımda olduğunu hissettiren, bana büyük bir moral ve motivasyon kaynağı olan çok kıymetli hocam Sn. Doç. Dr. Emre KAYA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Aynı zamanda tez çalışmam süresince yardımlarını gördüğüm Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Seval YILMAZ'a, Sayın Prof. Dr. Mine ERİŞİR'e, ve Arş. Gör. Hakan BAĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bu günlere gelmemde emeği yadsınamayacak olan, tüm hayatım boyunca karşılıksız destek ve sevgileriyle her koşulda yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nisanur ÇELİKDEMİR YILDIRIM

ELAZIĞ-2025

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
ETİK BEYAN.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR	xii
1.ÖZET.....	xiv
2.ABSTRACT	xvi
3. GİRİŞ	1
3.1.Polikistik Over Sendromu (PKOS)	1
3.2. Polikistik Over Sendromu Tanısı	2
3.3.PKOS Kaynaklı Metabolik ve Hormonal Bozukluklar.....	4
3.3.1.İnsülin Direnci	4
3.3.2. Hirsutizm	6
3.3.3. Hiperandrojenizm	8
3.3.4. Hiperlipidemi.....	9
3.3.5. PKOS ve Obezite.....	10
3.4. PKOS Epidemiyolojisi	13
3.5. PKOS Etiyolojisi	13
3.6. PKOS'un Saptanması.....	14
3.6.1. Oligo-anovulasyon	15
3.6.2. USG'de polikistik overlerin görülmesi	16
3.7. PKOS'un Uzun Dönem Etkileri.....	17
3.7.1. PKOS ve Oksidatif Stres	17

3.7.2. PKOS ve Kanser	18
3.7.3. PKOS ve Tip 2 Diyabet	19
3.7.4. PKOS ve Kardiyovasküler Hastalıklar	20
3.7.5. PKOS ve Metabolik Sendrom	20
3.7.6. PKOS ve İnfertilite	23
3.7.7. PKOS ve Psikolojik Sorunlar	24
3.8. PKOS ve Serbest Radikaller ile İlişkisi	25
3.9. Serbest Radikaller	26
3.9.1. Serbest Radikal Türleri	28
3.9.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	30
3.9.3. Serbest Radikallerin Oluşumu	31
3.9.4. Hücrede Serbest Radikallerin Oluşum Yerleri	32
3.9.5. Biyolojik Sistemlerde Meydana Gelen Serbest Radikaller ve ROT	33
3.9.5.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$)	33
3.9.5.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	35
3.9.5.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\bullet}$)	36
3.9.5.4. Singlet Oksijen ($^1O_2$)	37
3.9.5.5. Nitrik Oksit Radikali ($NO^{\bullet}$)	38
3.9.6. Serbest Radikallerin Kaynakları	39
3.9.6.1. İntraselüler Kaynakları	39
3.9.6.2. Biyolojik Kaynakları	39
3.9.7. Serbest Radikallerin Organizmaya Etkileri	40
3.9.7.1. Lipidlere Etkisi	40
3.9.7.1.1. Lipid Peroksidasyonu (LPO)	41
3.9.7.2. Karbonhidratlara Etkileri	44

3.9.7.3. Proteinlere Etkileri.....	44
3.9.7.4. Enzimlere Etkileri.....	45
3.9.7.5. Nükleik Asitler Üzerine Etkileri.....	45
3.9.7.6. Hücresel Etkileri.....	47
3.9.7.7. Dokuya Etkileri.....	48
3.9.7.8. Serbest Radikallerin Etkili Olduğu Hastalıklar.....	48
3.10. Oksidatif Stres.....	49
3.11. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	50
3.11.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	52
3.11.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD, E.C.1.15.1.1).....	52
3.11.1.2. Katalaz (KAT, E.C.1.11.1.6).....	53
3.11.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px, E.C.1.11.1.9).....	53
3.11.1.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST, E.C.2.5.1.18).....	54
3.11.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR, E.C.1.6.4.2).....	55
3.11.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	56
3.11.2.1. Glutasyon (GSH).....	56
3.11.2.2. E Vitamini (α -tokoferol).....	57
3.11.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit).....	58
3.11.2.4. Karotenoidler.....	60
3.11.2.5. Flavonoidler.....	61
3.11.3. Doğal Antioksidanlar.....	62
3.12. Maca (Lepidium meyenii).....	62
3.12.1. Maca Besin İçeriği.....	63
3.12.2. Maca ve Antioksidan Etkisi.....	65
3.12.3. Kan Parametreleri Üzerine Etkileri.....	68

4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	70
4.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	70
4.2. Yöntemlerin Uygulanması	70
4.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Uygulamalar	70
4.2.2. Örneklerin Toplanması ve Biyokimyasal Analizler	72
4.3. Hemolizat Hazırlanması	72
4.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması	73
4.5. MDA Düzeyinin Belirlenmesi	73
4.6. GSH Düzeyinin Belirlenmesi	75
4.7. GSH-Px Aktivite Tayini:.....	77
Metodun Ayraçları:	77
4.8. GST Aktivite Tayini:.....	79
4.9. SOD Aktivite Tayini:	80
4.10. Hemogloblin Tayini:	81
4.11. Protein Tayini:.....	82
4.12. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler	84
5. BULGULAR.....	85
5.1. Plazma MDA düzeyleri ile Eritrosit GSH düzeyi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri	86
5.2. Ovaryum MDA, GSH düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri	87
5.3. Uterus MDA, GSH düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri.....	88
5.4. Serum LH, FSH, Testosteron, Glikoz, İnsülin ve Kolesterol Düzeyleri	89
6. TARTIŞMA	90
7. KAYNAKLAR	100
ÖZGEÇMİŞ.....	114

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. PKOS Kriterleri.....	3
Tablo 2. PKOS fenotipleri.....	4
Tablo 3. Metabolik sendrom tanı kriterleri	21
Tablo 4. Bazı Reaktif Oksijen Türleri (Lushchak ve ark., 2014).....	30
Tablo 5. Enzimatik ve Non-Enzimatik Antioksidanlar (Aruoma, 1998)	52
Tablo 6. Macanın Besin Maddeleri	64
Tablo 7. Maca köklerinin besin içeriği, biyoaktif bileşiklerin kompozisyonu.....	64
Tablo 8. Çalışmadaki Deney Grupları ve Uygulamalar	71
Tablo 9. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının plazma MDA ve eritrosit GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px ve SOD aktiviteleri üzerine etkisi	86
Tablo 10. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının ovaryum dokularındaki MDA ve GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri üzerine etkisi	87
Tablo 11. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının uterus dokularındaki MDA ve GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri üzerine etkisi	88
Tablo 12. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının serum LH, FSH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeyleri üzerine etkisi	89

ŞEKİLER LİSTESİ

Şekil 1. Polikistik morfolojiye sahip bir overin tipik görünümü (Gimenez-Peralta ve ark., 2022).	16
Şekil 2. Oksijen Molekülündeki Elektronların Paralel Spin Yapısı (Lushchak ve ark., 2014)	29
Şekil 3. Oksijenin Suyu İndirgenmesi Esnasında ROT Oluşumu (Halliwell, 1994)	32
Şekil 4. Singlet Oksijen (Lushchak ve ark., 2014)	38
Şekil 5. Lipid Peroksidasyonunun İlerlemesi ve Dallanması (Akkuş, 1995)	42
Şekil 6. Lipid Peroksidasyonu ve MDA Oluşumu (Akkuş, 1995)	43
Şekil 7. MDA ile TBA'nın Reaksiyonu (Akkuş, 1995).....	44
Şekil 8. DNA Üzerinde Oluşan Oksidatif Hasar Türleri (Dizdaroglu ve ark., 2002)	47
Şekil 9. Oksidatif Stres	49
Şekil 10. ROT'ne Karşı Antioksidan Savunma (Akkuş, 1995).....	53
Şekil 11. Glutatyonun Oksidasyon ve Redüksiyon Reaksiyonları (Akkuş, 1995)	56

KISALTMALAR

·OH	: Hidroksil Radikali
¹ O ₂	: Singlet Oksijen
4-HNE	: 4-Hidroksinonenal
AES	: Androgen Excess Society
AMDA	: Asimetrik Dimetilarginin
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
CRP	: C Reaktif Proteinin
DM	: Diyabet Mellitus
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ESHRE-ASRM	: Rotterdam PKOS Konsensus Konferansı
FAD	: Flavın Adenin Dinükleotit
FG	: Ferriman-Gallwey
G6PD	: Glikoz-6-Fosfat Dehidrojenaz
GLUT4	: Glikoz Taşıyıcı 4
Gnrh	: Gonadotropin Relasing Hormon
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon-S-Trasferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
IGFBP	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein
IGT	: Glikoz Toleransı
KAH	: Konjenital Adrenal Hiperplazide
KAT	: Katalaz
LH	: Luteinleştirici Hormon
LPO	: Lipit Peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
Mets	: Metabolik Sendrom
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NCEP	: National Cholesterol Education Program

NIH	: Ulusal Sağlık Enstitüleri
NO	: Nitrik Oksit
O ₂	: Moleküler Oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit Radikali
PFA	: Doymamış Yağ Asitlei
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
PON1	: Paraoksonaz-1
Samp	: Siklik Adenozin Monofosfat
SHBG	: Seks Hormon Bağlayıcı Globülin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyoarbitürük Asit
TG	: Trigliserit
TSH	: Tiroid Stimule Edici Hormon
TVUSG	: Transvajinal Ultrasonografi
USG	: Ultrasonografi
VAİ	: Visseral Adipozite İndeksi

1.ÖZET

DENEYSEL POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PKOS) OLUŞTURULAN RATLARDA MACA KÖKÜ (*LEPIDİUM MEYENİİ*)'NÜN BAZI BİYOKİMYASAL VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmanın amacı, ratlarda deneysel polikistik over sendromu (PKOS) ile oluşturulan oksidatif stres üzerine maca kökünün potansiyel terapötik etkisini değerlendirmektir. Çalışmaya her biri 2,5 aylık otuz beş dişi Sprague Dawley rat dahil edilmiştir. Bu ratlar beş ayrı gruba ayrılmıştır. Birinci gruba herhangi bir tedavi veya müdahale uygulanmamıştır. 2. gruba karboksimetil selüloz (CMC) (%1) uygulanmıştır. 3. gruba 7 gün boyunca gavaj yoluyla 2 g/kg/gün vücut ağırlığı dozunda Maca kökü uygulanmıştır. 4. gruba 21 gün boyunca gavaj yoluyla 1 mg/kg/gün letrozol (PKOS ajanı) %1 CMC'de çözülerek uygulanmıştır. 5. gruba letrozol ve maca kökü birlikte uygulanmıştır. 5. grupta maca kökü uygulamasına letrozol uygulamasının 15. gününde başlanmış ve 7 gün boyunca uygulanmıştır. Çalışmada, kan, ovaryun ve uterus dokularında malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-transferaz (GST) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan parametrelerdeki değişiklikler değerlendirilmiştir. Ayrıca, PKOS'ta önemli laboratuvar bulguları olan serum Luteinleştirici Hormon (LH), Folikül Stimulan Hormon (FSH), testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeylerindeki değişiklikler otoanalizörde belirlenmiştir. Çalışma sonunda, PKOS grubunda, MDA düzeyleri kan ($p<0,001$), ovaryum ($p\leq 0,001$) ve uterus ($p<0,001$) dokularında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunurken, GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri

daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). PKOS+maca kökü grubu, PKOS grubu ile karşılaştırıldığında tüm dokularda MDA düzeylerinin istatistiksel olarak daha düşük, GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktivitelerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubu, maca kökü uygulanan grup ve CMC uygulanan gruplar arasında tüm doku ve parametrelerde istatistiksel bir fark saptanmamıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kan dokusunda tüm parametrelerin, ovaryum dokusunda GSH-Px aktivitesi hariç diğer parametrelerin, uterus dokusunda ise GST aktivitesi hariç diğer parametrelerin PKOS+maca grubunda kontrol grubu ortalamalarına yaklaştığı ve istatistiksel olarak bir fark olmadığı gözlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, PKOS grubunda serum LH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeylerinin yüksek olduğu, FSH düzeylerinin ise düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, PKOS+maca grubunda serum FSH düzeyleri hariç LH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeylerinin kontrol grubu ortalamalarına yaklaştığı ve istatistiksel olarak bir fark olmadığı gözlenmiştir. PKOS+maca grubunda ki FSH düzeylerindeki yükselişin istatistiksel olarak önemsiz düzeyde kaldığı gözlenmiştir. PKOS ile ilişkili oksidatif stresin gelişiminde PKOS, oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir dengesizliğe katkıda bulunabilirken, maca kökü PKOS'un neden olduğu ciddi yan etkileri hafifletmeye yardımcı olabilir.

Anahtar Kelimeler: PKOS, maca kökü, malondialdehit, testosteron, LH, antioksidan

2.ABSTRACT

EFFECTS OF MACA ROOT (LEPIDIUM MEYENII) ON SOME BIOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT PARAMETERS IN RATS WITH EXPERIMENTAL POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME (PCOS)

The aim of this study was to evaluate the potential therapeutic effects of maca root on oxidative stress induced by experimental polycystic ovary syndrome (PCOS) in rats. Thirty-five female Sprague Dawley rats, each 2.5 months old, were included in the study. These rats were divided into five separate groups. No treatment or intervention was applied to the first group. Carboxymethyl cellulose (CMC) (1%) was applied to the second group. Maca root was applied to the third group at a dose of 2 g/kg/day body weight by gavage for 7 days. Letrozole (PCOS agent) was administered to the fourth group at a dose of 1 mg/kg/day by gavage for 21 days. Letrozole and maca root were administered together to the fifth group. Maca root administration was started on the 15th day of letrozole administration and continued for 7 days in the fifth group. In the study, changes in antioxidant parameters such as malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione-S-transferase (GST) and superoxide dismutase (SOD) in blood, ovary and uterus tissues were evaluated. In addition, changes in serum Luteinizing Hormone (LH), Follicle Stimulating Hormone (FSH), testosterone, glucose, insulin and cholesterol levels, which are important laboratory findings in PCOS, were determined by autoanalyzer. At the end of the study, MDA levels were found to be higher in blood ($p<0.001$), ovary ($p\leq 0.001$) and uterus ($p<0.001$) tissues in PCOS group compared to control group, while GSH levels and CAT, GSH-Px, GST and SOD activities were found to be

lower ($p<0.05$). When PCOS+maca root group was compared with PCOS group, it was found that MDA levels were statistically lower in all tissues, GSH levels and CAT, GSH-Px, GST and SOD activities were higher ($p<0.05$). There was no statistical difference in all tissues and parameters between the control group, maca root group and CMC group. When compared with the control group, it was observed that all parameters in blood tissue, all parameters except GSH-Px activity in ovarian tissue and all parameters except GST activity in uterine tissue approached the control group means and there was no statistical difference. When compared with the control group, it was determined that serum LH, testosterone, glucose, insulin and cholesterol levels were high and FSH levels were low in the PCOS group ($p<0.001$). When compared with the control group, it was observed that LH, testosterone, glucose, insulin and cholesterol levels, except serum FSH levels, approached the control group means and there was no statistical difference. It was observed that the increase in FSH levels in the PCOS+maca group was statistically insignificant. While PCOS may contribute to an imbalance between oxidants and antioxidants in the development of oxidative stress associated with PCOS, maca root may help alleviate the serious side effects caused by PCOS.

Key words: PCOS, maca root, malondialdehyde, testosterone, LH, antioxidant

3. GİRİŞ

3.1. Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Stein ve Leventhal tarafından 1935 yılında tanımlanan Polikistik Over Sendromu (PKOS), kadın popülasyonunda sık rastlanan bir endokrin bozukluktur. Adını, genellikle büyümüş overlerde bulunan çok sayıda folikül varlığından almıştır (Norman ve ark., 2007).

Polikistik over görünümü, görüntüleme yöntemleri, özellikle ultrasonografi kullanılarak genel popülasyonun %20-33'ünde tespit edilebilmektedir (Catteau-Jonard ve ark., 2012). Ancak, ultrasonografik olarak polikistik over görünümü saptanan her kadında, klinik ve biyokimyasal sendrom bulguları ortaya çıkmayabilir. Klinik ve biyokimyasal belirtiler arasında menstrüel siklus bozuklukları, androjenik alopesi, obezite, akne, hirsutizm gibi faktörler sayılabilir. Bu semptomlar, serum luteinize edici hormon (LH), testosteron, androstenedion ve insülin seviyelerinde artışla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, hastalığın klinik seyri oldukça farklıdır. Bazı hastalarda tüm geleneksel semptomlar bir arada bulunurken, bazı hastalarda ise yalnızca tek bir belirti ortaya çıkabilir (Catteau-Jonard ve ark., 2012; Meier, 2018).

PKOS teşhisi konmuş kadınlarda, vücut kitle indeksi (BMI) ile bağımsız bir şekilde insülin direncinin sıkça gözlemlendiği tespit edilmiştir. Bu insülin direnci, hiperinsülinemiye yol açmaktadır. PKOS teşhisi almış hastaların yaklaşık %50-70'inde insülin direnci mevcut olup, bu durum hipertansiyon, hiperlipidemi, glikoz intoleransı, diyabet gibi hastalıkların gelişme riski ile ilişkilendirilmektedir (Wang ve Wang, 2013).

Obstrüktif uyku apnesi, alkolle ilişkilendirilmeyen karaciğer yağlanması ve endometrial kanser gibi sağlık sorunları daha yaygın olarak gözlemlenirken, anksiyete ve depresyon gibi ruh sağlığı bozuklukları da sık görülen ancak genellikle yeterince incelenmeyen ilişkileri içermektedir. PKOS'un ciddiyeti ve semptomların şiddeti, etkilenen hastalar arasında büyük bir varyasyon sergilemektedir (Cooney ve Dokras, 2017).

3.2. Polikistik Over Sendromu Tanısı

Amerikalı jinekologlar Irving F. Stein ve Michael L. Leventhal tarafından 1935 yılında ilk kez tanımlanan bu durum, "anovulasyonla birlikte over kistlerinin varlığı" ile karakterize edilmiş ve Stein-Leventhal Sendromu olarak isimlendirilmiştir. 1990 yılında Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) tarafından tanı kriterleri belirlenmiştir. Ardından, Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM, American Society for Reproductive Medicine,) ve Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (ESHRE, European Society of Human Reproduction and Embryology) tarafından 2003 yılında Rotterdam'da düzenlenen bir konferansta dünya genelinde kabul edilen modern tanı kriterleri ortaya konmuştur. Günümüzde PKOS tanısı ve sınıflandırmasında, aynı ekip tarafından 2004 yılında oluşturulan "Revize Rotterdam Kriterleri" yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (ESHRE ve ASRM, 2004).

2003 yılında Rotterdam'da gözden geçirilen tanı kriterleri aşağıdaki gibidir:

- Oligo-anovülasyon
- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları

- Polikistik overlerin mevcudiyeti ve diğer etiyolojik nedenlerin dışlanması (ESHRE ve ASRM, 2004)

2006 yılında, 527 çalışmayı inceleyerek yapılan bir meta-analiz sonucunda, "Androjen Fazlalığı Topluluğu," PKOS'un temel olarak hiperandrojenizm ile karakterize edilen bir endokrin bozukluk olduğuna karar vermiştir. Bu sonuçlara göre, PKOS tanısı için yeterli olan parametreler şunlardır (Mohammad ve Seghinsara, 2017):

- Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm (Androjen fazlalığı)
- Oligoanovulasyon ve/veya polikistik over morfolojisi (Over disfonksiyonu)
- Diğer androjen fazlalıkları ve ovulatuvar bozuklukların eksiksiz bir şekilde dışlanmış olması, Tablo 1 (ESHRE ve ASRM, 2004; Mohammad ve Seghinsara, 2017).

Tablo 1. PKOS Kriterleri

NIH KRİTERLERİ 1990	ROTTERDAM KRİTERLERİ 2003	AEPCOS KRİTERLERİ 2006
Klinik veya biyokimyasal hiperandrojenizm	Klinik veya biyokimyasal hiperandrojenizm	Klinik veya biyokimyasal hiperandrojenizm
Oligo/amenore, anovulasyon	Oligo/amenore, anovulasyon	Oligo/amenore, anovulasyon
Tüm <u>kriterler</u> olmalı*	Ultrasonografide polikistik over görünümü 3 <u>kriterden</u> 2'si olmalı*	Ultrasonografide polikistik over görünümü Androjen artışı ve bir ölçüt daha olmalı*

* Kongenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu, androjen salgılayan tümörler, hiperprolaktinemi, tiroid hastalıkları, ilaçların indüklediği androjen fazlalığı, anovulasyonun diğer nedenleri dışlandıktan sonra

Bu doğrultuda, PKOS hastaları, dört farklı fenotip veya klinik özellik kombinasyonu temelinde sınıflandırılabilir (Livadas ve Diamanti-Kandarakis, 2013):

Fenotip 1: Oligo/anovulasyon, hiperandrojenizm ve polikistik overlerin bir arada bulunduğu durum.

Fenotip 2: Oligo/anovulasyon ve hiperandrojenizmin görüldüğü klinik bir durum.

Fenotip 3: Hiperandrojenizm ile birlikte polikistik overlerin teşhis edildiği fenotip.

Fenotip 4: Oligo/anovulasyon ve polikistik overlerin birlikte görüldüğü klinik bir özellik kombinasyonu, (Tablo 2):

Tablo 2. PKOS Fenotipleri

TİP 1 KLASİK PKOS 1. Hiperandrojenizm 2. Kronik anovulasyon 3. Polikistik overler	TİP 2 KLASİK PKOS 1. Hiperandrojenizm 2. Kronik anovulasyon 3. Normal overler
OVULATUAR PKOS 1. Hiperandrojenizm 2. Ovulatuvar sikluslar 3. Polikistik overler	NORMOANDROJENİK PKOS 1. Normoandrojenizm 2. Kronik anovulasyon 3. Polikistik overler

3.3.PKOS Kaynaklı Metabolik ve Hormonal Bozukluklar

3.3.1.İnsülin Direnci

İnsülin direnci, normal dolaşımdaki insüline karşı azalmış bir cevabı ifade eden bir durumdur. Bu fenomen, obez olmayan bireylerden, tip 2 diyabetli bireylere kadar farklı popülasyonlarda gözlemlenebilir. Özellikle obezite sorunu yaşayan PKOS hastalarının yaklaşık %30-40'ı glikoz toleransında bozulma sergilemektedir. Bu alt grubun yaklaşık %10'u 40 yaşlarında diyabet durumuna ilerleme riski taşımaktadır (Macut ve ark., 2017; Wang ve Wang, 2013).

Mevcut araştırmalar, insülin direncinin PKOS patogenezinde merkezi bir konumda olduğunu ve hem metabolik hem de üreme sistemi sorunlarına (hem uterus hem de overlerle ilgili) sebep olduğunu öne sürmektedir (Macut ve ark.,

2017; Goodarzi ve Korenman, 2003; Shang ve ark., 2020). İnsülin direnci, PKOS tanısı almış kadınlarda üreme anormallikleri ile ilişkilendirilen bir durumdur. İnsülin duyarlılığının artırılması, bu tür anormalliklerin düzeltilmesine katkıda bulunabilecek hem yaşam tarzı değişiklikleri hem de farmakolojik müdahalelerle mümkün olabilir (Macut ve ark., 2017; Goodarzi ve Korenman, 2003; Shang ve ark., 2020). PKOS etyopatogenezi tam olarak aydınlatılmamış olsa da, insülin direncinin kritik bir etkisi olduğu genel bir görüş olarak kabul edilmektedir. İnsülin direncinin sonucunda gelişen dislipidemi, hipertansiyon, kronik inflamasyon ve endotel bozukluğu gibi kardiyovasküler risk faktörleri, PKOS teşhisi konmuş kadınlarda gözlenen komorbiditeler arasında bulunmaktadır (Macut ve ark., 2017; Goodarzi ve Korenman, 2003; Shang ve ark., 2020; Wang ve Wang, 2013).

Adipoz dokuda insülin reseptörlerinin ve glikoz taşıyıcı 4 (GLUT4) proteininin azalması, ayrıca insülin sinyal yolundaki genetik bozulmalar, PKOS tanısı konmuş kadınlarda insülin direncinin daha fazla artmasına katkıda bulunabilir. Yüksek insülin seviyelerinin, overlerde androjen üretimini teşvik ederek ve seks hormon bağlayıcı globülin (SHBG) adı verilen proteinin karaciğerdeki sentezini baskılayarak serbest testosteron seviyelerini artırdığı ve hiperandrojenizme katkı sağladığı düşünülmektedir (Macut ve ark., 2017; Goodarzi ve Korenman, 2003; Shang ve ark., 2020; Wang ve Wang, 2013).

Hiperandrojenizm ve hiperinsülinemi, adipoz hücre işlevini etkileyerek obezitenin kendi kendini besleyen bir döngüye yol açmasına neden olmaktadır. PKOS'ta görülen insülin direnci sonucu gelişen hiperinsulinemi, obezite durumundan bağımsız olarak ortaya çıkar. PKOS ve obezitenin birleşimi, glikoz-insülin dengesini etkileyerek overlerin stereogenezini teşvik eder. Bu durum,

PKOS'ta insülin direnci kaynaklı hiperinsulinemiye ve buna bağlı olarak hiperandrojenizmin ortaya çıkmasına katkıda bulunabilir (Macut ve ark., 2017; Goodarzi ve Korenman, 2003; Shang ve ark., 2020; Wang ve Wang, 2013).

PKOS, obezite ve bu obeziteye bağlı metabolik komplikasyonların önlenmesi için yaşam tarzı yönetiminin erken dönemde uygulanması gerekmektedir. Diyetin karbonhidrat içeriği ve yağ asidi bileşiminin değiştirilmesi, insülin duyarlılığını artırmak için önerilen stratejiler arasındadır. Düşük glisemik indeksli bir diyet yaklaşımının, vücut ağırlığında, insülin duyarlılığında ve menstrüel döngü düzeninde daha belirgin iyileşmelere yol açtığı bildirilmektedir (Macut ve ark., 2017; Goodarzi ve Korenman, 2003; Shang ve ark., 2020; Wang ve Wang, 2013). Ek olarak, günlük alınan enerjinin yaklaşık %55-60'ını karbonhidratlardan, %15-20'sini proteinden ve %30'dan azını yağlardan (özellikle doymuş yağlardan azami %10) elde etmek, önemli bir beslenme kılavuzudur. Omega-3 yağ asitlerinin beslenme planına dahil edilmesi, insülin direncini azaltma, androjen salınımını düzenleme ve hastalığın seyrini olumlu yönde etkileme konusunda bilimsel olarak bilinmektedir (Macut ve ark., 2017; Goodarzi ve Korenman, 2003; Shang ve ark., 2020; Wang ve Wang, 2013).

3.3.2. Hirsutizm

PKOS'da en sık karşılaşılan hiperandrojenizm belirtisi aşırı tüylenmedir. (García-Sáenz ve ark., 2023; Kim ve ark., 2022; Spritzer ve ark., 2022). Hirsutizm, kadınlarda, androjenlere duyarlı bölgelerde, özellikle çene, göğüs, üst dudak, sırt, karın ve uyluk gibi bölgelerde gözlenen erkek tipi kıllanmanın arttığı bir durumdur. Temel nedeni, artmış androjen salınımıdır. Bu artış, SHBG düzeylerinin azalması

sonucunda serbest androjen seviyelerinin yükselmesine neden olur (García-Sáenz ve ark., 2023; Kim ve ark., 2022; Spritzer ve ark., 2022). Hirsutizm vakalarının çoğu (%70-80), temel nedeni PKOS olan bir endokrin bozuklukla ilişkilendirilmektedir. Hafif seyirli vakaların ise %50'sinden fazlası, belirgin bir nedeni belirlenemeyen (idiyopatik) bir tipi temsil etmektedir (García-Sáenz ve ark., 2023; Kim ve ark., 2022; Spritzer ve ark., 2022).

Tüylenme, değiştirilmiş Ferriman-Gallwey (FG) yöntemi kullanılarak değerlendirilir ve toplam puan 7 veya daha fazla olduğunda aşırı tüylenme olarak kabul edilir (García-Sáenz ve ark., 2023; Kim ve ark., 2022; Spritzer ve ark., 2022). Ferriman-Gallwey, androjenlere duyarlı bölgelerdeki kıl yoğunluğunu nicel olarak değerlendiren bir derecelendirme sistemidir. Bu skorlama yöntemi, hastalardaki hirsutizmin derecesini belirlemek amacıyla üst dudak, çene, göğüs, üst sırt, alt sırt, üst karın, alt karın, kol ve bacakların üst kısımları olmak üzere toplam 9 androjenlere duyarlı bölgeyi içerir.

Toplam skora dayalı olarak hirsutizm aşağıdaki şekilde sınıflandırılır:

Normal: Skor < 8;

Hafif hirsutizm: Skor 8-15;

Orta ileri hirsutizm: Skor > 15 olarak kabul edilir (García-Sáenz ve ark., 2023; Kim ve ark., 2022; Spritzer ve ark., 2022).

Kilo kaybı, obez kadın bireylerde androjen üretimini azaltarak kıl büyümesini yavaşlatma potansiyeline sahiptir (García-Sáenz ve ark., 2023; Kim ve ark., 2022; Spritzer ve ark., 2022). Bir çalışma da FG skorları baz alınarak hastalar gruplandırılmış ve bu grupların menstrüel siklus süresi, yaşı, bazı hormon değerleri ve BKİ'i kullanılmıştır. FG skorları ile hirsutizm, insülin direnci ve BKİ arasındaki

ilişki incelendiğinde, ağır hirsutizm sınıfındaki hastaların BKİ ortalama değerlerinin, istatistiksel olarak hafif hirsutizm sınıfındaki hastalara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (García-Sáenz ve ark., 2023). Başka bir çalışmada, 790 premenopozal kadın katılımcının BKİ'si 25 kg/m²'nin üzerinde olan grupta %16,2 oranında hirsutizm tespit edilmiş ve BKİ'deki artış ile hirsutizm arasında pozitif bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Kim ve ark., 2022). Shipman ve Millington tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, hirsutizm ile yaş ve testosteron seviyelerinden bağımsız olarak BKİ arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (Shipman ve Millington, 2011).

3.3.3. Hiperandrojenizm

Hiperandrojenizm, PKOS üreme ve metabolik yönleriyle birlikte patogenezinde anahtar bir rol oynamaktadır. İntrauterin androjen fazlalığı, PKOS'un patogenezinde en erken gestasyonel faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Prenatal olarak androjenize edilmiş hayvanlarda gerçekleştirilen araştırmalar, PKOS'un fetal programlanması teorisinin temelini oluşturmaktadır. PKOS teşhisi konulan kadınların yaklaşık %60-80'inde hiperandrojenizm gözlenir. Yüksek androjen düzeyi, bu kadınların yaklaşık %60'ında hirsutizme, %15-25'inde akneye ve yaklaşık olarak %5'inde androjenik alopesiye (erkek tipi saç dökülmesine) neden olur (Mahmoud ve ark., 2022; Paixão ve ark., 2017).

PKOS hastalarında, artan androjen düzeyi, folikülogenezdeki aksamaları hızlandırarak daha fazla androjen üretimine yol açar. Bu durum, bir kısır döngü oluşturur. Androjen yüksekliği yaşayan PKOS'lu kadınların %50'si, androjen

düzeyleri normal olan PKOS'lu kadınlara göre %20 oranında çocuk sahibi olmada zorluk yaşar (Li ve ark., 2021).

Hirsutizmin gelişiminde genetik yatkınlığın ve etnik kökenin önemli bir etkisi vardır. Örneğin, Akdeniz kökenli bireyler, Kuzey Avrupalılar ve Asyalılara kıyasla daha yoğun kıl folikülüne sahip olma eğilimindedir. Bu nedenle, PKOS olan Asyalı bireyler, diğer etnik gruplara göre daha az sıklıkla aşırı hirsutizm belirtileri sergilerler (Li ve ark., 2021; Mahmoud ve ark., 2022; Paixão ve ark., 2017).

3.3.4. Hiperlipidemi

Hiperlipidemi, serum lipid profili üzerindeki anormal yüksekliklerle karakterize edilen bir durumdur. Bu anormal yükseklikler, kandaki kolesterol, trigliserit veya hem kolesterol hem de trigliserit düzeylerinde artışı içerebilir (Liu ve ark., 2021). PKOS'lu hastaların yaklaşık %50-70'inde insülin direnci ve santral obezite tespit edilmiştir. İnsülin direnci ve santral obezite, tip 2 diyabet, hiperlipidemi ve kardiyovasküler hastalıkların gelişme riski ile ilişkilendirilebilir. PKOS tanısı alan kadınlarda, National Cholesterol Education Program (NCEP) kriterlerine göre, trigliserit, toplam kolesterol, VLDL ve LDL seviyelerinde %70 veya daha fazla artışla kendini gösteren aterojenik bir lipid profili sıkça gözlenir ve bu duruma eşlik eden HDL seviyelerinde düşüklük tespit edilir (Zhai ve ark., 2012).

Ateroskleroz için yüksek risk taşıyan PKOS'lu hastalarda, obezite ile ilişkili olarak LDL kolesterol seviyelerinin artışı, HDL ve trigliserit (TG) düzeylerinin artışına göre daha az belirgin bir ilişkiye sahiptir (Liu ve ark., 2021; Olaniyi ve ark., 2023; Zhai ve ark., 2012). Gözükara ve ekibinin gerçekleştirdiği çalışma, 120 hasta üzerinde yürütülmüş ve elde edilen sonuçlar, hastaların lipid parametreleri (LDL,

TG, kolesterol) ile metabolik sendrom belirteçleri olan bel çevresi ve insülin direnci arasında, PKOS grubunda daha yüksek bir paralellik olduğunu ortaya koymuştur. Ek olarak, PKOS'lu grupta HDL düzeyleri daha düşük bulunmuştur (Gözükara ve ark., 2013). Santral obezite ve insülin direnci (IR) bulunan ve PKOS olan kadınlarda genç yaşta ateroskleroz gelişme riski yüksektir ve bu kadınlar kardiyovasküler hastalıklar açısından yüksek risk grubundadır. Obez PKOS hastalarında aterosklerozun daha yaygın görülmesi genellikle insülin direnci ile bağlantılıdır (Neisy ve ark., 2019).

Toplam kolesterol seviyeleri 200-239 mg/dL aralığında bulunan ve LDL kolesterol seviyeleri 130-160 mg/dL aralığında bulunan bireyler, hiperlipidemi riski açısından sınırlı olarak yüksek değerler taşıdıkları kabul edilir. Bu tür değişiklikler genellikle beslenme alışkanlıklarının düzenlenmesi, vücut ağırlığının kontrolü ve fiziksel aktivitenin artırılması gibi önlemlerle yönetilebilir (Grundy ve ark., 2002).

3.3.5. PKOS ve Obezite

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından obezite “sağlığı tehdit edecek düzeyde aşırı yağ birikimi” olarak tanımlanmaktadır. Yağ dokusu ile yakından ilişkili olan bu durum, vücut yağ kütesinin yağsız kütleyle oranının fazla yükselmesi sonucu, boy uzunluğuna göre ağırlığın arzu edilen seviyenin üzerine çıkmasıyla karakterize edilir (Wu ve ark., 2014).

Obezite, endokrin ve metabolik bozukluklara yol açabilen bir durumdur. Günümüzde adipoz doku, bir endokrin organ olarak kabul edilmektedir. Bu doku, adipokinler veya adiposito-kinler olarak adlandırılan sitokinler üretir. Bu sitokinler, adipoz doku içinde kronik düşük dereceli inflamasyona neden olur. Sonuç olarak,

obezite ile ilişkilendirilen metabolik komplikasyonlar gelişme eğilimindedir (Sam, 2007; Wu ve ark., 2014).

Obezitenin patogeneğinde, abdominal ve visseral yağ dokusu birikimi ile karakterize olan durum, insülin direncine yol açarak hipertansiyon, tip 2 diyabet, koroner arter hastalığı ve dislipidemi gibi komplikasyonları beraberinde getirebilir (Neisy ve ark., 2019; Sam, 2007). Obezitenin etyolojisi içinde hormonal sebeplerin belirgin bir rol oynadığı göz önüne alındığında, bu hormonal faktörler şunlar olabilir: PKOS, Cushing sendromu, hipotiroidi, kraniyofarenjiyoma, diyabet, Turner sendromu, erkek hipogonadizmi, insülin direnci, psödohipoparatiroidizm ve büyüme hormonu eksikliği (Neisy ve ark., 2019; Sam, 2007; Wu ve ark., 2014).

Kadınlarda obezitenin erken yaşlarda görülmesi, adet düzensizliklerine, kronik oligo-anovülasyona ve ileri yaşlarda infertiliteye yol açma potansiyeline sahiptir. Ayrıca, kadınlarda obezite, düşük riskini artırabilir ve vücut kitle indeksi 30 kg/m^2 'nin üzerine çıktığında yardımcı üreme teknolojileri ile elde edilen gebelik sonuçlarını olumsuz etkileyebilir. Obezitenin bu olumsuz etkileri, özellikle PKOS gibi durumlarda daha belirgin hale gelmektedir. PKOS teşhisi konmuş kadınların %35 ila %60'ı obeziteden etkilenir. Bu obezite türü, vücut kitle indeksi normal olsa dahi PKOS'lu kadınlarda abdominal (karın bölgesi) obezitenin daha sık görüldüğünü göstermektedir. Hiperandrojenemi (erkek tipi hormonların artmış seviyeleri) ve insülin direnci, genellikle bu tür obezite ile ilişkilidir. PKOS'lu kadınlarda insülin direnci, oligoamenore (düzensiz adet dönemleri), hiperandrojenemi, diyabetes mellitus (şeker hastalığı) ve infertilite gibi metabolik komplikasyonlar sıkça görülür (Neisy ve ark., 2019; Sam, 2007; Wu ve ark., 2014).

PKOS tanısı almış kadınlarda anovulasyon (yumurtlamama) sıkça infertilite (kısırlık) ile ilişkilidir. Bu duruma ek olarak, eğer bir kadın obez ise, diğer faktörlerin etkisiyle infertilite riski önemli ölçüde artar. Bu artışın temel nedenleri, adipoz doku (yağ dokusu) salgınlımlıla ilişkilendirilen leptin, adiponektin, resistin ve visfatin gibi maddelerin seviyelerinin değışmesi, ayrıca serumdaki androjen, luteinizan, insülin, SHBG, büyüme hormonu (GH) ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein (IGFBP) gibi hormonların seviyelerinin değışmesi ve leptin seviyelerinin yükselmesi ile ilgilidir. Sonuç olarak, bu faktörler anovulasyona katkıda bulunur. PKOS'lu kadınlar için hastalığa bağli komplikasyon riskini azaltmak adına beslenme ve yaşam tarzında değışikliklerin uygulanması gerekmektedir (Ali ve ark., 2023; Mvondo ve ark., 2020).

Rosenfield ve Ehrmann (2016), PKOS teşhisi konmuş obez hastaların yeterince kilo verdiklerinde PKOS semptomlarının %50 oranında iyileşebileceğini bildirmektedirler. Başta visseral adipozite (karın bölgesindeki yağ birikimi) olmak üzere artan yağ oranları; yüksek androjen seviyeleri, insülin direnci, glikoz intoleransı ve dislipidemi ile ilişkilendirilmiştir (Neisy ve ark., 2019; Mvondo ve ark., 2020; Rosenfield ve Ehrmann, 2016). Obezite tanısı almış ve PKOS teşhisi konmuş kadınlar, kilosunu normal olan kadınlara göre daha ciddi kardiyometabolik risk faktörlerine sahip olabilirler (Sam, 2007; Wu ve ark., 2014). Obezite, artan bel çevresinin insülin direncine katkıda bulunmasına neden olabilir. Bu durum, obez kadınların obeziteye bağli insülin direnci gelişimi sonucunda PKOS'a yatkın hale gelebileceği veya PKOS'un obeziteye zemin hazırlayabileceği şeklinde yorumlanabilir (Neisy ve ark., 2019; Sam, 2007; Wu ve ark., 2014).

3.4. PKOS Epidemiyolojisi

Reproduktif çağındaki kadınlar arasında en sık görülen endokrin bozukluk, PKOS olarak bilinir ve anovulasyon kaynaklı kısırlık sorunlarının önde gelen nedenlerindendir. Bu sendromun yaygınlığı yaklaşık %6,6-8 arasında değişirken, anovulasyon sorunu yaşayan kadınların %55-91'inde görüldüğü belirlenmiştir (Bahmani ve ark., 2022). Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından 1990 yılında düzenlenen PKOS Konferansı, ovaryan disfonksiyon semptomlarını içeren tanı kriterlerini kabul etti (Dumesic ve ark., 2015). Günümüzde, düzenli menstrüasyon döngüsüne sahip hastalarda dahi hiperandrojenizm ve/veya polikistik overler gibi bulguların saptanması, PKOS tanısını akla getirmektedir. Rotterdam PKOS çalışma grubu, 2003 yılında, PKOS tanı kriterlerini güncelledi (Polson ve ark., 1988). Ardından, 2006 yılında "Androjen Excess Society (AES)", gelecekteki klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda tanı kriterlerini standardize etmek ve kullanımını kolaylaştırmak amacıyla belirledi (Bahmani ve ark., 2022; Dumesic ve ark., 2015). Farklı etnik gruplarda PKOS prevalansı farklılık göstermektedir (Polson ve ark., 1988). 1998'de tanı kriteri olarak NIH kriterleri kullanılarak yapılan bir çalışmada polikistik over sendromu beyaz kadınlarda %4-4,7, siyahi kadınlarda ise %3,4 olarak belirlenmiştir (Knochenhauer ve ark., 1998).

3.5. PKOS Etiyolojisi

PKOS'un nedenleri konusundaki incelemeler, araştırmacılar tarafından "Kesin etiyojisi bilinmemekle birlikte, PKOS genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan yaygın ve karmaşık bir hastalık olarak kabul

edilebilir" şeklinde ifade edilmektedir (Matalliotakis ve ark., 2006). PKOS'un fizyopatolojisiyle ilgili yapılan incelemeler, gonadotropin dinamiğindeki değişiklikler, steroid üretimindeki defektler, insülin salınımı ve etkisindeki sorunlar, ayrıca genetik faktörlerin etkisi gibi bilgiler, çinkonun PKOS'un etiyolojisinde rol oynayabileceği olasılığını düşündürmektedir (Stener-Victorin ve ark., 2020). İnsülin direncinin artması ve buna bağlı olarak ovaryen ve adrenal androjenlerin yükselmesi, PKOS'un temel sorunları arasında bulunmaktadır. İnsülin direnci sonucunda ortaya çıkan kardiyovasküler riskler arasında hiperlipidemi, hipertansiyon, kronik inflamasyon ve endotel fonksiyon bozuklukları yer almaktadır, bu da PKOS'lu kadınlar için potansiyel komorbiditeleri ifade etmektedir. Ek olarak, insülin, LH ile işbirliği yaparak ovaryen androjen üretimini artırır (Singh ve ark., 2023). PKOS'ta kalıtsal geçiş olabileceğine dair bulgular gün geçtikçe artmaktadır. Otozomal dominant olarak ebeveynlerden eşit olarak aktarılan bir hastalıktır (Singh ve ark., 2023).

3.6. PKOS'un Saptanması

PKOS hakkında mevcut olan birçok klinik, laboratuvar ve deneysel veriye rağmen, bu hastalık hala tam olarak anlaşılamamıştır. PKOS, çeşitli sistemlerin etkileşiminin karmaşıklığı sonucunda gelişen, multifaktöriyel bir hastalık olarak düşünülmektedir. PKOS, bir dizi etkenin etkileşimine dayanan karmaşık bir hastalıktır. Bu etkenler şunlardır: hipotalamo-hipofizer disfonksiyon, steroid üretimindeki bozukluklar, intraovaryan faktörler, insülin direnci ve hiperinsülinemi, obezite, genetik faktörler, anormal granüloza hücreleri ve enzimatik kusurlar. PKOS'un bütünsel tablosu bu etkenlerin karmaşıklığından kaynaklanmaktadır. Şu an için PKOS tanı kriterleri konusunda tam bir uzlaş

sağlanmamıştır. İlk kez 1990'da National Institutes of Health/National Institute of Child and Human Development (NIH/NICHHD) Konferansı'nda kabul edilen tanı kriterleri tanımlanmıştır (Andrade ve ark., 2016; Gyliene ve ark., 2022; Javid-Naderi ve ark., 2023).

Kronik anovulasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ile diğer etiyolojik nedenlerin dışlanması tanıda esas alınır. 2003 yılında revize edilen Rotterdam tanı kriterleri ise oligo-anovulasyon, klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm belirtileri, polikistik overlerin varlığı ve diğer olası nedenlerin dışlanmasını içerir. Tanı koymak için bu üç kriterden en az ikisinin bulunması gereklidir.

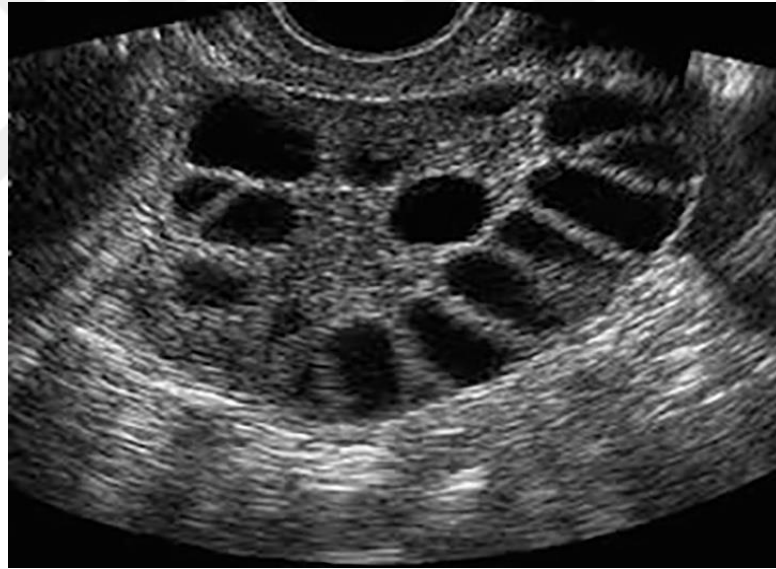
3.6.1. Oligo-anovulasyon

Oligoanovulasyon ile sıklıkla ilişkilendirilen infertilite, Polikistik Over Sendromu'na sahip kadınlarda yaklaşık olarak %40 oranında görülür (Taher ve ark., 2012). Polikistik over sendromu, anovulasyona neden olan faktörler arasında hiperinsülinemi, hiperandrojenizm, ve relatif endojen FSH eksikliği gibi etkenlere sahiptir. LH'nın aşırı salgılanması, spontan gebeliklerde veya tedavi sonucu elde edilen gebeliklerde artmış düşük riski ile ilişkilendirilir (Wu ve ark., 2010). PKOS'ta, genellikle menstrüel bozukluklar anovulasyonun bir sonucu olarak görülür. Ancak, düzenli adet dönemlerine sahip olan kişilerde dahi anovulasyon teşhisi konulabilir. Bu nedenle, anovulasyonu değerlendirmek için yalnızca menstrüel hikaye kullanmak yeterli bir kanıt değildir (Ji ve ark., 2017).

3.6.2. USG’de Polikistik Overlerin Görülmesi

PKOS tanısında, geçmiş yıllarda en önemli teşhis aracı olarak kabul edilen laparoskopik değerlendirme yerini artık ultrasonografiye bırakmıştır. Özellikle transvajinal endosonografiye dayalı gelişmeler sayesinde, overlerin boyutu ve şekli yanı sıra foliküller ve stromalar gibi anatomik özellikler de daha ayrıntılı bir şekilde gözlemlenebilmektedir (Gyliene ve ark., 2022).

Rotterdam ultrasonografi kriterleri ise artmış ovaryen volum (10 ml>) ve her bir over içerisinde çapları 2–9 mm arasında ve 12’den fazla follikül olmasıdır (Şekil 1).



Şekil 1. Polikistik morfolojiye sahip bir overin tipik görünümü (Gimenez-Peralta ve ark., 2022).

PKOS için adölesanlarda kullanılan ultrasonografi (USG) bulguları henüz kesin olarak doğrulanmamıştır. Bu nedenle, bu yaş grubunda transvajinal ultrasonografi (TVUSG) uygulaması hem pratik hem de etik açıdan bazı sorunları beraberinde getirebilir. Abdominal USG ise bu bağlamda sınırlı bir rol oynar (Gimenez-Peralta ve ark., 2022; Glyliene ve ark., 2022; Taheri ve ark., 2022).

3.7. PKOS'un Uzun Dönem Etkileri

3.7.1. PKOS ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen/azot türlerinin (ROT/RNT) üretimi ve temizlenmesi arasındaki dengesizliği yansıtır ve canlıda biriken aşırı ROT hücre, protein ve lipid hasarına neden olur. ROT, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) dir. Reaktif nitrojen, demir, bakır ve kükürt türleri de oksidatif strese yer alır. Serbest radikaller, dış yörüngede eşleşmemiş elektrona sahip türlerdir ve bağımsız olarak var olabilirler. Genel olarak, oksidatif durumu değerlendirmek için kullanılan kimyasal maddeler, reaktif oksijen, ROT temizleyici enzimler veya antioksidatif kimyasallar tarafından modifiye edilen kimyasal bileşenlere ve ROT üretimini düzenleyen transkripsiyon faktörleri olarak ayrılabilir. Ancak, oksidatif stres durumunu çeşitli hastalıklarda aynı biyobelirteçlerle doğru bir şekilde yansıtmak zordur, çünkü oksidatif stres genellikle farklı hastalıklarda farklı roller oynar ve farklı sinyal yollarını tetikler, bu nedenle belirli bir hastalıkta oksidatif stresi değerlendirmek için kullanılan biyobelirteçler sınırlıdır ve her zaman dikkatlice filtrelenmelidir (Papalou ve ark., 2016; Zuo ve ark., 2016).

Oksidatif stres PKOS patogenezinde yakından yer alır, çünkü PKOS hastaları normal hastalara kıyasla daha ciddi oksidatif stres gösterir. Ancak, farklı belirteçler kullanıldığında ve aynı belirteç farklı kaynaklarda ve hatta farklı araştırma yöntemleriyle değerlendirildiğinde sonuçlar kesinlikle tutarlı olmayacaktır. Ek olarak, oksidatif stres sıklıkla PKOS'a eşlik eden insülin direnci, hiperandrojenemi ve obezitenin patolojik süreçlerinde de yer alır. Bu nedenle, belirli koşullar için

PKOS'taki oksidatif stres seviyelerini değerlendirmek üzere uygun belirteçler seçilmelidir. Şu anda kullanılan dolaşımdaki belirteçler çoğunlukla homosistein, malondialdehit (MDA), asimetrik dimetilarginin (AMDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH) ve paraoksonaz-1'i (PON1) içerir. Oksidatif stres ile PKOS'un fizyolojik ve klinik özellikleri arasındaki karmaşık çapraz bağlantı nedeniyle, oksidatif stres ve PKOS arasındaki etkileşimler her zaman olacaktır (Papalou ve ark., 2016; Zuo ve ark., 2016).

3.7.2. PKOS ve Kanser

Endometrial kanser, kadınlar arasında en sık görülen jinekolojik malignitelerden biridir ve dünya genelinde kansere bağlı ölümlerde önde gelen bir neden olarak öne çıkar. Östrojenik uyarı, endometrial hücre proliferasyonunu önemli ölçüde artırırken, insülin direnci ve hiperinsülinemi, endometrial kanser gelişimi ile yakından ilişkilendirilmiş önemli faktörlerdir. PKOS'da anovulasyona bağlı olarak progesteronun dengeleyemediği östrojen artışının etkisiyle endometriyal hiperplazi ve kanser gelişme riski artabilmektedir (Zuo ve ark., 2016). PKOS hastalarında sıkça gözlenen adrenal hiperandrojenizm, LH hipersekresyonu, in vitro fertilizasyon sırasında gonadotropik stimölasyona ovaryan endokrin artmış yanıt, endometrial hiperplazi ve endometriyal kanser gibi reproduktif ve endokrin sorunları içermektedir (Lauretta ve ark., 2016; Shafiee ve ark., 2014). Yapılan bir araştırma sonucunda, PKOS teşhisi konmuş kadınların, PKOS tanısı konmamış kadınlara kıyasla endometriyum kanseri gelişme riskini %3 oranında artırdığı saptanmıştır. Bu, yaşam boyu kanser riskini %3'ten %9'a çıkarmaktadır. Söz konusu çalışma, PKOS'un endometriyum kanseri açısından bir risk faktörü olarak daha

fazla vurgulanmasına katkı sağlamaktadır (Dumesic ve Lobo, 2013; Haoula ve ark., 2012).

3.7.3. PKOS ve Tip 2 Diyabet

PKOS hastalarının büyük bir kısmında insülin direnci tespit edilmektedir. Bu oran, yapılan farklı çalışmalara bağlı olarak %30 ile %70 arasında değişmektedir. Dolayısıyla, bu hastalar Tip 2 Diyabet Mellitus (DM) riski altında bulunmaktadır (Zhai ve ark., 2012). İnsülin direnci gösteren hastalarda klinik bulgular, pankreasın bu durumu telafi edip edemediğine bağlı olarak değişiklik gösterir. Başlangıçta, kompensasyon mekanizmaları etkili olabilir ve tek metabolik anormallik olarak hiperinsülinemi görülebilir. Fakat hastaların çoğunda, insülin salgılanmasında etkili pankreas beta hücreleri bu olaya yanıt verememe durumuna gelir ve insülin seviyeleri azalır. İlk olarak glikoz toleransında bozulma gözlemlenebilir ve sonrasında insülin bağımlı olmayan tip 2 diyabet gelişebilir (Abuelezz ve ark., 2020). PKOS tanısı konmuş kadınlarda insülin direncinin artmasına katkıda bulunan pek çok etken bulunmaktadır. İlk olarak, bu hastaların genetik yatkınlığının insülin hassasiyetini azalttığı bilinmektedir. Ayrıca, hiperandrojenizmin, insülin direncinin gelişimine katkı sağladığı gözlemlenmektedir. Bunun yanı sıra, bu hastalarda visseral yağ dokusunun artmış olması da insülin direncinin artmasında önemli bir faktördür (Abuelezz ve ark., 2020; Zhai ve ark., 2012). PKOS tanılı kadınlarda tip 2 diyabet riski çok yüksektir ve %35-40'ında görülmektedir (Zhai ve ark., 2012). PKOS'lu normoglisemik kadınlar, hem açlıkta hem de glikoz yüklemesi sırasında hiperinsülinemi göstermektedir; bu durum, Beta hücre kompanzasyonunun periferik insülin direncini karşılamakta yetersiz kaldığını

ortaya koymaktadır. Bu durum, hastaların tip 2 diyabet gelişimi açısından yüksek risk taşıdığını düşündürmektedir (Abuelezz ve ark., 2020; Shang ve ark., 2020; Wang ve Wang, 2003).

3.7.4. PKOS ve Kardiyovasküler Hastalıklar

PKOS tanılı kadınlarda artan insülin direnci, kan lipitlerinin artmasına yol açmaktadır. Bu durum, kanda trigliserit ve LDL seviyelerinde artışla kendini gösterirken, HDL oranında azalmaya neden olmaktadır. Bu değişiklikler, PKOS hastalarının damarlarda sertleşme (ateroskleroz) riskini artırmaktadır. Ateroskleroz, felç ve kalp krizi riskini artırarak kadınlar için ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Ayrıca, ilerleyen yaşlarda hipertansiyon riskini de artırır. Bu risk, obez kadınlarda daha yüksek olmasına rağmen, zayıf kadınlarda da mevcuttur. Özellikle insülin direnci mekanizması, genelde kan pıhtılaşma olasılığını artırır ve damar tıkanıklığı riskini yükseltir (Yanes ve ark., 2013). PKOS'un oluşumunda kritik bir rol oynayan faktörlerden biri, hiperinsülinemi ve yüksek C-reaktif protein (CRP) seviyelerinin bir araya gelmesidir. Bu birliktelik, kardiyovasküler hastalıklar için ciddi bir risk faktörü oluşturur. Bu gözlemler, PKOS ile obezite, hiperinsülinemi ve artmış CRP düzeyleri arasındaki karmaşık ilişkiyi yansıtmaktadır. Bu faktörler, birbirini etkileyen ve riski artıran unsurlar olarak görülmektedir (Abuelezz ve ark., 2020; Duică ve ark., 2021; Yanes ve ark., 2013).

3.7.5. PKOS ve Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom (MetS), üreme çağındaki kadın popülasyonunun yaklaşık %20'sini etkileyen bir durumdur. Bu sendrom, insülin direnci, abdominal obezite, hiperinsülinemi, inflamasyon, bozulmuş glikoz metabolizması, dislipidemi, endotel

fonksiyon bozukluğu ve hipertansiyon gibi metabolik bozuklukların kompleks bir birleşimi olarak ortaya çıkar (Han ve Lean, 2015). PKOS, metabolik sendrom ile çeşitli klinik ve biyokimyasal benzerlikler taşıyan bir durumdur ve bilimsel olarak metabolik sendromun bir varyantı olarak değerlendirilebilir (Alberti ve ark., 2005). PKOS'un patogenezi oldukça karmaşıktır ve bu kompleks süreç, bir dizi genetik ve çevresel faktörün etkileşimi sonucunda ortaya çıkar. Bu nedenle, PKOS hastaları, metabolik sendrom geliştirme riski altında olabilirler (Alberti ve ark., 2005; Han ve Lean, 2015). Erişkin Tedavi Paneli, Ulusal Kolesterol Eğitim Programı tarafından tanı kriterlerini oluşturmuştur (Wu ve ark., 2010). Tanı kriterlerinin yaygın uygulanabilirliği hedeflenerek, Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III), American Heart Association/National Heart Lung Blood Institute (AHA), ve International Diabetes Federation (IDF) tarafından düzenlenen konsensüs toplantılarında bildirilen metabolik sendromla ilgili kriterlerinden en az üçünün mevcut olması durumunda, hastalara metabolik sendrom tanısı koymak için yeterli kabul edilmektedir (Alberti ve ark., 2005; Han ve Lean, 2015) (Tablo 3).

Tablo 3. Metabolik sendrom tanı kriterleri

Abdominal obezite, Bel çevresi	Erkeklerde > 102cm Kadınlarda > 88cm
Trigliserid düzeyi	>150 mg/dl
HDL düzeyi	Erkeklerde < 40 mg/dl Kadınlarda < 50 mg/dl
Kan basıncı	>130/85 mmHg
Kan glikoz yüksekliği	>110 mg/dl

Metabolik sendromun prevalansı, tanı kriteri, cinsiyet, yaş ve etnik köken gibi değişkenlere bağlı olarak farklılık gösterir, bu nedenle kesin rakamlara ulaşmak nispeten zordur. Örnek olarak, Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan 20 yaş ve üzeri bireyler arasında metabolik sendromun prevalansı %27 olarak rapor

edilmişken, Türkiye'de bu oran %35 olarak tespit edilmiştir. Cinsiyet bazında incelendiğinde, kadınlarda bu oran %41,1 iken erkeklerde %28,8 olarak kaydedilmiştir. PKOS hastalarının büyük bir bölümünde metabolik sendrom prevalansı %46-47 aralığındadır ve bu hastaların %91'inde ilk muayene sırasında metabolik sendrom kriterlerinden en az biri tanımlanmıştır (Alberti ve ark., 2005; Han ve Lean, 2015; Kandaraki ve ark., 2009; Spinedi ve Cardinali, 2018). 2018 PKOS rehberine göre:

- Beyaz ırkta genellikle daha hafif bir fenotip görülmektedir.
- Beyaz ırk arasında, özellikle Kuzey Amerika ve Avustralya'da vücut kitle indeksinin (VKİ) daha fazla olduğu tespit edilmiştir.
 - Orta Doğu, Hispanik ve Akdeniz kökenli kadınlarda daha belirgin hirsutizm gözlenmektedir.
 - Güneydoğu Asya ve Avustralya yerlilerinde artmış santral obezite, insülin direnci, diyabet, metabolik riskler ve akantoz sıklıkla görülmektedir.
 - Doğu Asyalılarda düşük VKİ ve daha hafif hirsutizm formları dikkat çekmektedir.
 - Afrikalılarda ise daha yüksek VKİ ve metabolik özellikler öne çıkmaktadır.

PKOS'lu hastalarda metabolik sendrom görülme olasılığı, PKOS tanılı olmayan aynı yaş grubundaki kadınlara göre 4 kat daha fazla görülmektedir. Oligomenore, polikistik over görüntüsü ve androjen yüksekliğinin hepsinin aynı anda görüldüğü hastalarda, metabolik sendrom görülme sıklığının kontrol grubuna göre 6-8 kat artmış olduğu tespit edilmiştir (Kandaraki ve ark., 2009). Sonuç olarak, PKOS, çoklu sistemlere etki eden önemli bir toplumsal sağlık sorunu olup, sadece üreme sistemini değil aynı zamanda metabolik (metabolik sendrom, insülin direnci,

kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet vb.) ve psikolojik (depresyon, anksiyete, cinsel fonksiyon bozuklukları, vücut algısı bozuklukları, yeme bozuklukları vb.) yönlerini de içeren birçok özelliği içermektedir (Alberti ve ark., 2005; Han ve Lean, 2015; Kandaraki ve ark., 2009; Spinedi ve Cardinali, 2018).

3.7.6. PKOS ve İnfertilite

Her 25 kadından 1'inde görülen PKOS, kısırlık yaşayan kadınların yaklaşık 1/4'ünde görülür. PKOS, yumurtlamayı engelleyen ve kısırlığa neden olan bir hastalıktır. PKOS'lu kadınların yaklaşık yarısında androjen hormonları yüksektir. Bu kadınlarda kısırlık yaşama riski daha yüksektir. Androjen hormonları yüksek olmayan PKOS'lu kadınlarda ise kısırlık yaşama riski daha düşüktür (Ali ve ark., 2023; Mvondo ve ark., 2020; Zangeneh ve ark., 2010). PKOS, yumurtalıkların androjen üretimini artıran bir hastalıktır. Bu durum, adet düzensizliği, tüylenme, kilo alma ve kısırlık gibi belirtilere neden olabilir (Goswami ve ark., 2012). PKOS'lu kadınlarda, hipotalamus tarafından salgılanan gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) üretiminde bir bozukluk meydana gelir. Bu bozukluk, hipofiz bezinden salgılanan LH üretiminin artmasına ve FSH üretiminin azalmasına neden olur (Goswami ve ark., 2012). PKOS'lu kadınların %60'ı doğurgandır. PKOS, oligo-ovülasyon (yumurtlama düzensizliği) dışında erken doğum, preeklampsi ve gebelik diyabeti gibi maternal ve perinatal komplikasyonlar için de bir risk faktörüdür (Spinedi ve Cardinali, 2018). İnfertilite nedeniyle başvuran anovulatuvar kadınların yaklaşık %75'i PKOS'tur (Goswami ve ark., 2012; Zangeneh ve ark., 2010).

İnfertilite sebepleri kaynağına göre 3 ana başlıkta incelenebilir.

1. Kadına ait nedenler (%40-50)

Over fonksiyonları (%30-40), ovulasyonun gerçekleşmemesi, anovulatuvar sikluslar halinde düzensiz ovulasyon, polikistik over sendromu, hiperprolaktinemi. perimenopozal dönem, prematür over yetmezliği, tubaların infeksiyon gibi sebeplerle tamamen ya da kısmen kapanması (%20- 40), servikal ve immünolojik faktörler (%1-2), diğer nedenler infertilitede kadına ait nedenler olarak sayılabilir (Goswami ve ark., 2012; Zangeneh ve ark., 2010).

2. Erkeğe ait nedenler (%30-40)

3. Açıklanamayan (%10-15) nedenler olarak 3 gruba ayrılmaktadır.

İnsülin direnci ve obezite, infertilitenin önemli belirleyicileridir (Goodarzi ve Korenman, 2003; Sam, 2007). Grodstein ve ark., infertilitesi olan 597 kadın ve kontrol grubundaki 1695 kadından oluşan bir çalışmada, BKİ'si 27 kg/m²'nin üzerinde olan kadınların infertilite riskinin, BKİ'si 20-24,9 kg/m² olan kadınlara göre 3,1 kat daha yüksek olduğunu göstermiştir (Zangeneh ve ark., 2010). Barbieri'nin çalışmasında ise, kadınların BKİ'sinin 27 kg/m²'nin üzerinde veya 17 kg/m²'nin altında olması durumunda infertilite riskinin arttığı bulunmuştur (Wang ve Wang, 2003).

3.7.7. PKOS ve Psikolojik Sorunlar

Toplumda yaygınlığı yüksek olan PKOS'nun psikolojik iyi oluşumu üzerindeki etkisi, son yıllarda yapılan çalışmalarla giderek daha fazla araştırılmaktadır. PKOS, remenin azaltılmasında en sık görülen endokrinolojik bozukluktur ve prevalans oranı kullanılan tanı kriterlerine göre %6-%19.9 arasında değişmektedir (Himelein ve Thatcher, 2006). Yapılan araştırmalar, PKOS'nun

anksiyete, depresyon, yeme bozuklukları ve yaşam kalitesi üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Özellikle PKOS'lu hastalarda yapılan araştırmalarda anksiyete görülme oranının %60'lara kadar çıkabileceği, depresyonun ise %28-64 arasında olduğu bildirilmiştir (Farkas ve ark., 2014; Himelein ve Thatcher, 2006). PKOS, kaygı bozukluğu, depresyon, yeme bozukluğu ve intihar riskinin artmasıyla ilişkili bir endokrinolojik bozukluktur. Yapılan çalışmalarda, PKOS tanılı hastalarda kaygı bozukluğu görülme sıklığının genel kadın popülasyonuna kıyasla yaklaşık iki kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (Farkas ve ark., 2014). Bu durumun, PKOS'un, hirsutizm, akne, obezite ve infertilite gibi bazı klinik tablolarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Farkas ve ark., 2014; Himelein ve Thatcher, 2006).

3.8. PKOS ve Serbest Radikaller ile İlişkisi

Oksidatif stres, vücutta üretilen zararlı serbest radikallerin antioksidanların etkilerini nötralize etme kapasitesini aşmasıyla oluşan bir denge bozukluğu durumudur; bu, hücre hasarına ve olumsuz sağlık sonuçlarına yol açabilir. Canlı organizmalardaki antioksidan sistem, RNT, ROT ve diğer reaktif metabolik ara maddelerin aşırı varlığıyla baskılanır ve oksidatif strese neden olur. Oksidatif stresin DNA, RNA, proteinler ve lipitler dahil olmak üzere çeşitli hücresel bileşenler üzerindeki olumsuz etkisi, hızlanmış yaşlanma, hücre ölümü, kardiyovasküler hastalık, kronik böbrek hastalığı, nörodejeneratif hastalıklar, metabolik sendrom ve diğer ilgili bozukluklar gibi zararlı etkilere yol açar (Bahreiny ve ark., 2024). PKOS, yaygın bir endokrin-metabolik bozukluktur ve üreme çağındaki kadınlarda yumurtlama eksikliğinden kaynaklanan kısırlığın ana nedenidir. PKOS ayrıca yüksek androjen seviyeleri ve yumurtalık disfonksiyonu semptomlarıyla karakterizedir. Oksidatif stres, PKOS'un başlangıcında ve

ilerlemesinde önemli bir rol oynar. Çok sayıda araştırma, oksidatif stresin PKOS'lu hastalarda yüksek olduğunu ve çeşitli oksidatif stres belirteçlerinden etkilenebileceğini göstermiştir (Changaei ve ark., 2023; Liu ve ark., 2021; Talat ve ark., 2022). Obezite, insülin direnci ve hiperglisemi, oksidatif stresi destekleyen PKOS'un önemli bileşenleridir. Oksidatif stres indeksinin belirlenmesi, PKOS'lu bireylerde metabolik hastalığın oluşumunu tahmin etmek için değerli bir araç görevi görebilir. Bu özellikle önemlidir çünkü dolaşım biyobelirteçleri, bu durumdan etkilenen kadın popülasyonunda oksidatif stresi tespit etmede etkinliklerini göstermiştir (Bahreiny ve ark., 2024).

Önceki araştırmalar, PKOS'un patogenezinin oksidatif stres ve ileri oksidasyon proteinleri, MDA, ürik asit (UA) ve nitrik oksit (NO) gibi serbest radikal ürünlerinin birikimiyle ilişkili olabileceğini öne sürmektedir (Bahreiny ve ark., 2024; Changaei ve ark., 2023; Liu ve ark., 2021; Talat ve ark., 2022). Ancak, PKOS'un şiddeti ile serbest radikal ürünlerinin varlığı arasındaki ilişki tartışmalı olmaya devam etmektedir ve literatürde tutarsız veriler bulunabilir. Dahası, ilgili mekanizmaların nasıl birbirine bağlı olduğu ve PKOS tedavisinde hangi klinik sonuçların beklenebileceği belirsizdir (Bahreiny ve ark., 2024).

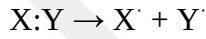
3.9.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip atom veya moleküllerdir. Atomlar, çekirdek etrafında belirli enerji düzeylerine göre düzenlenmiş yörüngelerde hareket eden elektronlardan oluşur. Elektronlar, genellikle bir orbitalde zıt yönlerde dönen iki elektron şeklinde bulunarak kararlı bir yapı oluşturur. Ancak serbest radikaller, ortaklanmamış elektronları nedeniyle

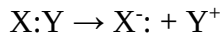
kararsız, kısa ömürlü ve yüksek kimyasal reaktiviteye sahiptir. Bu durum onları non-radikallere göre daha aktif duruma getirir. Serbest radikaller, organik veya inorganik yapıda olup pozitif, negatif ya da nötr yüke sahip olabilir (Fujii ve ark., 2022).

Serbest radikallerin oluşumu genellikle üç şekilde gerçekleşir:

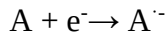
1. **Homolitik bölünme:** Kovalent bağlı bir molekülün ikiye ayrılarak her bir parçasının bir ortaklanmamış elektronla radikal oluşturması.



2. **Elektron kaybı veya heterolitik bölünme:** Molekülün bir elektron kaybetmesi ya da elektronların bir atom üzerinde toplanmasıyla iyonların oluşması. Bu süreçte radikal yerine iyonlar meydana gelir. Ancak bazı hücrel antioksidanlar (örneğin, askorbik asit ve glutatyon) bir elektronu radikal türlere vererek kendileri radikal formuna dönüşebilir.



3. **Elektron kazanımı:** Radikal olmayan bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle dış orbitalde paylaşılmamış bir elektron oluşur ve radikal meydana gelir. Örneğin, moleküler oksijenin (O_2) bir elektron ile indirgenmesi $O_2^{\cdot-}$ oluşumuna yol açar (Fujii ve ark., 2022).



Serbest radikaller, hem normal metabolik süreçlerin bir sonucu olarak hem de çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkabilir. Kısa ömürlü olmalarına rağmen, eşlenmemiş elektronlarının yarattığı yüksek reaktivite sayesinde hücre

bileşenleriyle kolayca etkileşime girerler. Bu süreçte, diğer moleküllerden elektron alıp vererek onların yapısını bozabilir ve onları da radikal hale getirebilirler. Örneğin, hidrojen atomu, eşleşmemiş elektronu olan bir radikaldir. Halojenler, oksijen türleri, NO ve nitrojen dioksit gibi moleküller de radikal olarak tanımlanır. Geçiş metalleri (örneğin, bakır, demir, mangan) ortaklanmamış elektronlara sahip olmalarına rağmen, serbest radikal olarak kabul edilmez; ancak reaksiyonları katalizleyerek radikal oluşumuna katkıda bulunurlar (Moridani ve ark., 2003).

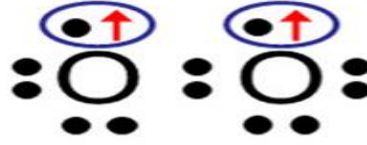
Son yıllarda serbest radikallerin biyolojik süreçlerdeki rolleri, özellikle hastalıklar üzerindeki etkileri, yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Kanseri, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, romatoid artrit ve yaşlanma gibi birçok durumun gelişiminde serbest radikallerin önemli bir rol oynadığı anlaşılmıştır. Ayrıca, beslenmenin serbest radikaller üzerindeki etkisi de keşfedilmiş ve bu konu, bilimsel araştırmalarda daha fazla öncelik kazanmaya başlamıştır (Fujii ve ark., 2022; Moridani ve ark., 2003).

3.9.1.Serbest Radikal Türleri

Aerobik metabolizmaya sahip canlılarda, serbest radikallerin başlıca kaynağı O_2 türevli serbest radikaller olarak kabul edilmektedir. Aerobik organizmalar, hayatta kalabilmek için organik moleküllerden enerji üretiminde O_2 kullanmak zorundadır. Ancak bu durum, oksijenin toksik metabolik yan ürünleriyle sürekli bir arada yaşamayı gerektirir (Lushchak ve ark., 2014).

O_2 molekülünün eşleşmemiş elektronlar içerdiği ve atomik oksijenin ise iki eşleşmemiş elektrona sahip olduğu bilinmektedir. Bu özelliğinden dolayı O_2 , bazen bir diradikal olarak değerlendirilir. Diradikal yapısı, O_2 'nin diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesine olanak tanır. Ancak, radikal olmayan

maddelerle reaksiyonu çok daha yavaştır. Bunun sebebi, O_2 molekülünün son yörüngesindeki elektronların paralel spinlerde olmasıdır. Bu durum, O_2 'nin iki elektronu birden alarak kimyasal bağ oluşturmamasını zorlaştırır. Sonuç olarak, oksijen molekülü genellikle tek elektron olarak daha kararlı hale geçmeye eğilimlidir (Lushchak ve ark., 2014) (Şekil 2).



Şekil 2. Oksijen Molekülündeki Elektronların Paralel Spin Yapısı (Lushchak ve ark., 2014)

Oksijen (O_2), tam olarak indirgendikten sonra metabolik reaksiyonların son ürünü olarak suya (H_2O) dönüşür. Ancak O_2 'nin H_2O 'ya indirgenmesi esnasında, kısmi indirgenme ya da indirgenmenin ara basamaklarında birçok yüksek reaktiviteye sahip ara ürün ortaya çıkar. Bu oluşan ürünlerin herbiri radikal olmadığından, genel olarak **Reaktif Oksijen Türleri (ROT)** terimi kullanılmaktadır (Lushchak ve ark., 2014).

Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikaller arasında en önemli olanları, oksijen türevli serbest radikallerdir. Bunun yanında, organizmada az miktarda karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşabilir (Lushchak ve ark., 2014).

- **Reaktif Oksijen Türleri (ROT):** Oksijen radikallerini, oksitleyici ajanları ve kolayca radikal hale dönüşebilen radikal veya non-radikal oksijen bileşiklerini içeren bir kavramdır.
- **Reaktif Nitrojen Türleri (RNT):** Nitrik oksit radikali ($NO\cdot$), nitrojen dioksit radikali ($NO_2\cdot$) ve non-radikal azot bileşiklerini kapsayan bir tanımdır.

Bu tür reaktif moleküller, biyolojik sistemlerde önemli roller oynayabilir ve çeşitli süreçlerde zarar verme potansiyeline sahiptir (Lushchak ve ark., 2014).

3.9.2. *Reaktif Oksijen Türleri (ROT)*

Aerobik organizmalar, yaşamları boyunca O_2 kaynaklı ROT'ne maruz kalır. Bu türler, O_2 'nin indirgenmesiyle oluşan $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve hidroksil radikali ($OH\cdot$) gibi bileşikler içerir. Ayrıca, karbon merkezli radikallerle O_2 'nin reaksiyonu sonucu alkoksil radikali ($RO\cdot$), peroksil radikali ($RO_2\cdot$) ve organik hidroperoksitler ($ROOH$) gibi bileşikler de oluşur. Diğer serbest radikal formunda bulunan peroksinitrit ($ONOO^-$), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik oksit radikali ($NO\cdot$), singlet oksijen ($^1O_2$) ve nitrojen dioksit radikali ($NO_2\cdot$) da bu gruba dahildir (Lushchak ve ark., 2014) (Tablo 4).

ROT, radikal olan ve radikal olmayan bileşikler olarak ikiye ayrılabilir. Bu ayrım, ROT'nin kimyasal yapısını ve biyolojik etkilerini daha iyi anlamamıza olanak tanır (Lushchak ve ark., 2014).

Tablo 4. Bazı Reaktif Oksijen Türleri (Lushchak ve ark., 2014)

Radikal Olan ROT'lar	Radikal Olmayanlar ROT'lar
Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali ($OH\cdot$)	Lipid hidroperoksit ($LOOH$)
Peroksil radikali ($RO_2\cdot$)	Hipohalöz asit (HOX)
Alkoksil radikali ($RO\cdot$)	N-halojenli <u>aminler</u> ($R-NH-X$)
Semikinon radikali ($HQ\cdot$)	Singlet oksijen ($^1O_2$)
Organik radikaller ($R\cdot$)	Ozon (O_3)
Organik peroksit radikali ($RCOO\cdot$)	Azot dioksit (NO_2)
Nitrik oksit radikali ($NO\cdot$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Hemoproteine bağlı radikaller	Peroksinitrit ($ONOO^-$)

Elektron taşıma zincirinde yer alan koenzim Q, flavin adenin dinükleotit (FAD) ve nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) gibi bileşikler, oksijenle reaksiyona girerek $O_2^{\bullet-}$ oluşumuna yol açar. Metabolizmada, oksijenazların katalizlediği enzimatik reaksiyonlar sonucunda endojen olarak oksijen metabolitleri oluşur. Bunun yanı sıra, otooksidasyon reaksiyonları gibi enzimatik olmayan süreçlerden de ROT oluşabilir (Lushchak ve ark., 2014).

Bunların dışında, çeşitli dış etkenler de ROT üretiminde önemli bir rol oynar. Radyasyon, halojenlenmiş hidrokarbonlar, karbon tetraklorür (CCl_4), hava kirliliği, pestisitler (örneğin, malathion ve fenthion), antibiyotikler, ağır metaller, sigara, uyuşturucu ve alkol gibi etmenler, ROT oluşumunu artıran önemli dış kaynaklardır (Lushchak ve ark., 2014).

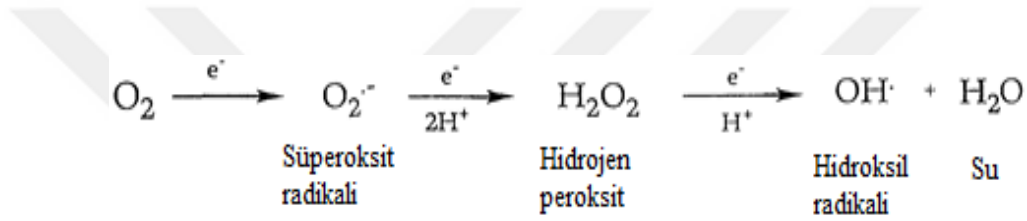
3.9.3. Serbest Radikallerin Oluşumu

ROT, hücrenin tüm bölümlerinde oluşabilir. Hücre içinde, zara bağlı ya da serbest halde bulunan çeşitli enzimlerin etkisiyle serbest radikaller oluşur. Bunun yanı sıra, enzimatik olmayan otooksidasyon süreçleri ile radyasyon, hava kirliliği, toksik kimyasallar, sigara dumanı ve pestisitlere maruz kalma gibi dış faktörler de ROT oluşumunu hızlandırır. Serbest radikal üretimi hücre tipine göre değişiklik gösterse de, tüm aerobik hücrelerde belirli seviyelerde radikal oluşumu kaçınılmazdır (Halliwell, 1994; Lushchak ve ark., 2014).

Serbest radikaller, çekirdeklerindeki proton sayısına eşit olmayan elektron sayısı nedeniyle kararsızdır ve yüksek reaktivite gösterir. Elektron yapılarını dengelemek için bir elektronlarını başka bir moleküle aktarabilir veya başka bir molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler. Bu reaktif özellikleri,

hücre içinde farklı kimyasal tepkimelere neden olabilir (Halliwell, 1994; Lushchak ve ark., 2014).

Aerobik memelilerde, O_2 'nin suya indirgenmesi sırasında meydana gelen ROT, normal bir durumda belirli seviyelerde bulunmalı ve canlılığın sürdürülmesi için de önemlidir. Örneğin, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle $O_2^{\cdot-}$ oluşur. $O_2^{\cdot-}$ bir elektron daha alarak peroksite dönüşür. Peroksit molekülü, iki hidrojen atomuyla birleşerek H_2O_2 meydana getirir (Halliwell, 1994; Lushchak ve ark., 2014) (Şekil 3).



Şekil 3. Oksijenin Suyu İndirgenmesi Esnasında ROT Oluşumu (Halliwell, 1994)

Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'in ana üretim mekanizması, $O_2^{\cdot-}$ 'nin dismutasyonu yoluyla gerçekleşir. Bu süreçte, $O_2^{\cdot-}$ molekülü yapısına iki proton molekülü alarak H_2O_2 ve O_2 oluşturur. H_2O_2 , serbest bir radikal olmamakla birlikte, ROT grubunda yer alır ve serbest radikal biyokimyasındaki önemli bir rolü vardır (Halliwell, 1994; Lushchak ve ark., 2014).

Dismutasyon reaksiyonu olarak adlandırılan bu süreçte, reaksiyon sonucunda radikal olmayan ürünler meydana gelir. Bu özelliği nedeniyle H_2O_2 , biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türlerinin dengelenmesinde ve çeşitli hücresel işlevlerde kritik bir bileşik olarak görev yapar (Halliwell, 1994; Lushchak ve ark., 2014).

3.9.4. Hücrede Serbest Radikallerin Oluşum Yerleri

Hücresinin bütün bölümlerinde serbest radikallerin oluşabildiği bilinmektedir. Bunların kaynağı, hücre içindeki çeşitli metabolik süreçlerdir ve bunlar;

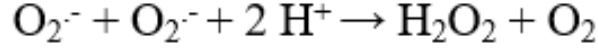
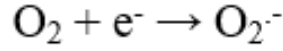
mitokondride gerçekleşen elektron taşıma zinciri reaksiyonları, endoplazmik retikulumda olan karma fonksiyonlu oksidaz sisteminin faaliyetleri, ürat oksidaz, dopamin- β -hidroksilaz, ksantin oksidaz ve D-amino oksidaz gibi enzimlerin etkisi, prostaglandin sentetaz, hücre zarına bağlı olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz ve lipoksijenaz gibi enzimlerin etkinliği, peroksizomlar ve lizozomlarda gerçekleşen metabolik olaylar olabilir (Goetz ve Gerlach, 2004).

Serbest radikallerin oluşturduğu reaksiyonlar, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan kaynaklara dayanabilir. Enzimatik reaksiyonlar arasında fagositoz, solunum zinciri, sitokrom P-450 sistemindeki süreçler ve prostaglandin sentezi bulunur. Diğer taraftan, oksijen türlerinin organik bileşiklerle bakır (Cu) veya demir (Fe) gibi katalizörler eşliğinde girdiği reaksiyonlar ise enzimatik olmayan serbest radikal reaksiyonlarına örnek teşkil eder (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

3.9.5. Biyolojik Sistemlerde Meydana Gelen Serbest Radikaller ve ROT

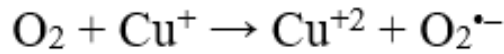
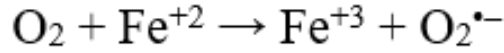
3.9.5.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Aerobik canlılarda O_2 , bir elektron ile indirgendikten sonra ilk olarak $O_2^{\cdot-}$ oluşturur. Bu dönüşüm, oksijenin potansiyel olarak toksik bir madde olarak kabul edilmesinin temel nedeni olarak gösterilmektedir. Endojen O_2 radikallerinin en önemli kaynağı olan $O_2^{\cdot-}$, hem yükseltgeyici hem de indirgeme özelliklerine sahiptir. $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 üretiminin yanı sıra geçiş metallerinin iyonlarını indirgeme yeteneği nedeniyle biyokimyasal süreçlerde kritik bir rol oynar (Fujii ve ark., 2022; Moridani ve ark., 2003).

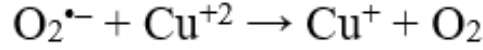
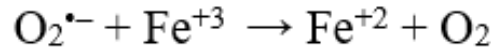


$\text{O}_2^{\bullet-}$, mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi hücresel transport zincirinin çeşitli bileşenlerinden O_2 'ye elektron sızması sonucu oluşur. Ayrıca, fagositik hücrelerdeki solunumsal patlama da önemli bir $\text{O}_2^{\bullet-}$ üreticisidir. Nötrofillerdeki plazma membranının en dış yüzeyinde bulunan NADPH oksidaz enzimi, nötrofilin tetiklenmesiyle O_2 'ye iki elektron vererek iki molekül $\text{O}_2^{\bullet-}$ üretir (Fujii ve ark., 2022; Moridani ve ark., 2003).

Hücrelerde $\text{O}_2^{\bullet-}$ oluşturan diğer bir enzim ise ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz, ksantini ürik aside dönüştürürken aynı zamanda $\text{O}_2^{\bullet-}$ oluşumuna neden olur. Ayrıca, indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu sırasında da $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikali meydana gelir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

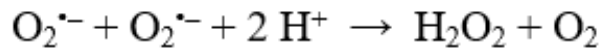
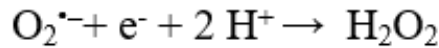
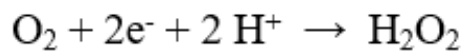


Geçiş metal iyonlarının oksijenle etkileşimleri, geri dönüşümlü redoks reaksiyonlarının ve serbest radikal reaksiyonlarının ilerlemesinde kritik bir rol üstlenir. $\text{O}_2^{\bullet-}$, oksitlenmiş Fe veya Cu iyonlarıyla reaksiyona girerek bu süreçleri etkiler.



3.9.5.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Mikromolar konsantrasyonlarda, H₂O₂ reaktiftir ve yüksek konsantrasyonlarda, örneğin glikolitik enzim olan gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz aktivitesini inaktive ederek enerji dönüştüren hücre sistemlerine zarar verebilir. Fenton reaksiyonunda, çözünür Fe(II), bir H₂O₂ molekülüne bir elektron bağışlayarak, bunun hidroksil radikallerine ayrışmasına neden olur $\cdot\text{OH} + {}^-\text{OH}$, bunlar difüzyon hızlarında reaksiyona girer ve hemen hemen her organik molekülü rastgele okside edebilir. Organizmadaki asıl H₂O₂ üretimi, O₂^{•-} dismutasyonu ile gerçekleşir. Bu tepkime, hem kendiliğinden gelişebilir hem de SOD enzimi vasıtasıyla katalize edilebilir. Enzimatik olan dismutasyon, geniş bir pH aralığında etkinlik gösterir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

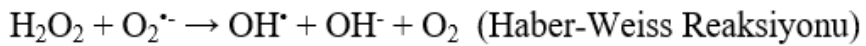


H₂O₂, reaktif bir oksijen bileşiğidir ve en basit peroksittir, oksijen-oksijen tek bağına sahip bir bileşiktir. Işığa maruz kaldığında yavaşça suya ve elementel oksijene ayrışır ve organik veya reaktif bileşiklerin varlığında hızla

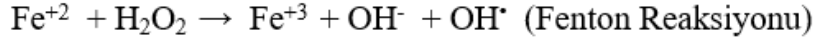
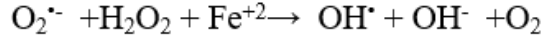
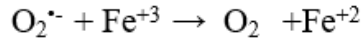
ayırır. H_2O_2 , insan vücudu da olmak üzere bir çok biyolojik sistemde meydana gelebilir. H_2O_2 ayırıştırıcı veya kullanan enzimler peroksidazlar olarak isimlendirilebilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

3.9.5.3. Hidroksil Radikali ($OH^\bullet$)

Kimya literatüründe, demir ve H_2O_2 arasındaki reaksiyondan oluşan yüksek reaktif $OH^\bullet$ 'nin doğası (Fenton reaksiyonu) ile ilgili devam eden bir tartışma vardır. Klasik Fenton mekanizması veya ligandlar dahil edildiğinde, H_2O_2 'in serbest $OH^\bullet$ 'nin oluşumuyla demir merkezinde indirgendiğini öngörür. Bununla birlikte, Fenton reaksiyonunda üretilen $OH^\bullet$ 'nin bir kısmının, tamamının değilse bile, demir merkezinde $[Fe(OH)]^{+3}$ veya $[Fe(O)]^{+2}$ ara maddesi olarak bağlı kalabileceği öne sürülmüştür. Bu ara ürünlerin, serbest hidroksil radikaline benzer, ancak ondan farklı oksitleyici özelliklere sahip olduğu ileri sürülmüştür ve Fenton reaksiyon kinetiğinin, demirden bağımsız olarak oluşan hidroksil radikalinin kinetiğiyle karşılaştırılmasına dayanarak desteklenmiştir (Goetz ve Gerlach, 2004).



$OH^\bullet$, H_2O_2 'nin indirgenmesiyle geçiş metallerinin varlığında oluşan son derece reaktif özellik gösteren bir radikaldir. Bu indirgenme, ilk defa Fenton isimli araştırmacı tarafından belirtildiği için "Fenton Reaksiyonu" olarak adlandırılmaktadır. Reaksiyon, önce ferrik demir (Fe^{3+}) $O_2^{\bullet-}$ tarafından ferrous demire (Fe^{2+}) indirgenir. Ardından, Fe^{2+} kullanılarak Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 'den $OH^\bullet$ ve hidroksit iyonu (OH^-) üretilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).



$\text{OH}^{\cdot}$, tüm canlı organizmalarda, yüksek enerjili iyonize edici radyasyonun etkisiyle su moleküllerindeki O-H bağlarının homolitik olarak kopması sonucu in vivo olarak oluşabilir. Kısa yarılanma ömrüne rağmen, meydana geldiği bölgede tüm biyomoleküllerle etkileşime girme potansiyeline sahiptir. Proteinler, DNA ve membranlarda bulunan poliansatüre yağ asitleriyle reaksiyon vererek zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olabilir. Özellikle, metalloproteinler, $\text{OH}^{\cdot}$ için seçici hedeflerdir. En reaktif ve toksik bir serbest radikal olan $\text{OH}^{\cdot}$, olduğu hücre bölgesinde bileşenlerle doğrudan reaksiyona girer, difüzyona ihtiyaç duymaz. Bu nedenle, endojen olarak oluşan prooksidanların büyük bir kısmının ve onların zararlı etkilerinin temel sorumlusu $\text{OH}^{\cdot}$ olarak kabul edilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

3.9.5.4. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), ortaklanmamış elektronu bulunmadığından dolayı bir radikal olarak kabul edilmez. Bununla birlikte, çok sayıda serbest radikal reaksiyonunun başlamasına neden olabilir. Oksijenin elektronlarından birinin enerjisi olarak, kendi yörüngesinin ters yönündeki başka bir orbitale geçmesi sonucu $^1\text{O}_2$ oluşur (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004) (Şekil 4).



Şekil 4. Singlet Oksijen (Lushchak ve ark., 2014)

Serbest radikal reaksiyonları sonucunda oluşabilen $^1\text{O}_2$, sigma ve delta diye iki farklı şekle sahiptir. Lökositlerden meydana gelen miyeloperoksidaz enzimi, Hipokloröz asit (HOCl) oluşturur. Ayrıca, H_2O_2 ile HOCl arasındaki reaksiyon da $^1\text{O}_2$ 'nin oluşmasına yol açar. Membran lipid peroksidasyonunda (LPO) etkili olan $^1\text{O}_2$, aynı zamanda mutajenik özellik gösterir (Lushchak ve ark., 2014)

3.9.5.5. Nitrik Oksit Radikali ($\text{NO}\bullet$)

Hem sitoprotektif hem de tümör destekleyici ajana sahip serbest $\text{NO}\bullet$, L-arginin'in nitrik oksit sentaz enzimleri aracılığıyla l-sitrüline dönüştürülmesiyle oluşur. $\text{NO}\bullet$ 'nin $\text{O}_2^{\bullet-}$ ile reaksiyon ürünü, doku ve hücre hasarının ana aracısı olan güçlü bir oksitleyici ajan olan peroksinitrit (ONOO^-) üretir. Peroksinitrit, amino asitler, nükleik asit bazları; metal içeren bileşikler vb. dahil olmak üzere birçok biyomoleküle karşı reaktiftir. NO metabolitleri, DNA hasarı, protein veya lipid modifikasyonu vb. gibi birçok genotoksik/karsinojenik etkiyi aracılık etmede önemli bir rol oynayabilir. Nitrik oksidin temel reaksiyonları, radikalın tek başına hücre ortamına zarar verme veya korumada rol oynadığı doğrudan etki ve iki bağımsız radikal oluşturma yolunun birleşmesiyle oluşan nitrik oksit yan ürünlerinin, esas olarak oksidatif ve nitrozatif stresi içeren biyolojik reaksiyonlarda rol oynadığı dolaylı etki olarak ikiye ayrılabilir (Halliwell, 1994; Lushchak, 2014).

Fizyolojik koşullarda, $\text{NO}\bullet$ 'in $\text{O}_2^{\bullet-}$ ile reaksiyonu güçtür, çünkü meydana gelen $\text{O}_2^{\bullet-}$, hücrede fazla miktarlarda var olan SOD enzimi vasıtasıyla kolayca yok

edilir. Ancak, patolojik durumlarda hem $\text{NO}\cdot$ hem de $\text{O}_2^{\cdot-}$ üretimini artar ve bu durumda $\text{O}_2^{\cdot-}$, SOD enzimi vasıtasıyla yeterince ortadan kaldırılamadığı için ONOO^- radikali oluşur (Halliwell, 1994; Lushchak, 2014).

3.9.6. Serbest Radikallerin Kaynakları

3.9.6.1. İntraselüler Kaynakları

Oksidatif stresin ortaya çıkmasında rol oynayan çeşitli faktörlerden bazıları arasında proteinler ve enzimler (hemoglobin, triptofan dioksijenaz, ksantin oksidaz), küçük moleküllerin otooksidasyonu (tioller, tetrahidropterinler, katekolaminler, flavinler, hidrokinonlar ve antibiyotikler), mitokondrial elektron transportu, plazma membranı (prostaglandin sentetaz, lipoksijenaz, LPO fagositlerde NADPH oksidaz), endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom b5, sitokrom P-450), oksidatif strese sebep olabilecek olaylar (iskemi, intoksikasyon, travma), peroksizomlar (oksidazlar, flavoproteinler) sayılabilir (Halliwell, 1994; Lushchak, 2014).

3.9.6.2. Biyolojik Kaynakları

Oksidatif stresin ortaya çıkmasında rol oynayan biyolojik faktörler içinde ise solunum patlaması ile aktive olmuş fagositler; adriamisin, doksorubisin, nitrofurantoin, bleomisin gibi antineoplastik ajanlar; radyasyon; uyuşturucu ve alkol gibi alışkanlık yapan maddeler; fotokimyasal maddeler, sigara dumanı, hiperoksi pestisidler, solventler, aromatik hidrokarbonlar, anestezikler gibi çevresel ajanlar ve stres sayılabilir (Halliwell, 1994; Lushchak, 2014)

3.9.7. Serbest Radikallerin Organizmaya Etkileri

Oksijen, yaşamın devamlılığı için olmazsa olmaz bir moleküldür. Enerji üretmek amacıyla hücreler oksijeni kullandığı zaman ATP üretiminin de bir sonucu olarak mitokondri vasıtasıyla serbest radikaller yaratılır. Oluşan bu ürünler hücrelerdeki dengenin bozulması ile oluşan ROT ve RNT'dir. Düşük veya orta seviyelerde, ROT ve RNT hücrel tepkiler ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde faydalı etkiler uygular. Yüksek miktarlarda oluştuklarında ise, hücrenin tüm yapılarına zararlı etkileri olabilen "oksidatif stres" üretirler.

Oksidatif stres ise yaşlanma, otoimmün bozukluklar, artrit, kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik ve dejeneratif rahatsızlıkların meydana gelmesinde etkindir. Memeli vücudu, doğal olarak meydana gelen veya yiyecekler ve/veya ilave gıdalar yoluyla dışarıdan alınan antioksidanlar ile oksidatif strese karşı koymak için çeşitli mekanizmalara sahiptir. Endojen ve ekzojen antioksidanlar, ROT ve RNT'nin meydana getirdiği hasarları onararak veya önleyerek "serbest radikal temizleyiciler" gibi hareket eder ve bu sayede bağışıklık savunmasını artırabilir, böylece kanser ve dejeneratif hastalık riskini azaltabilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

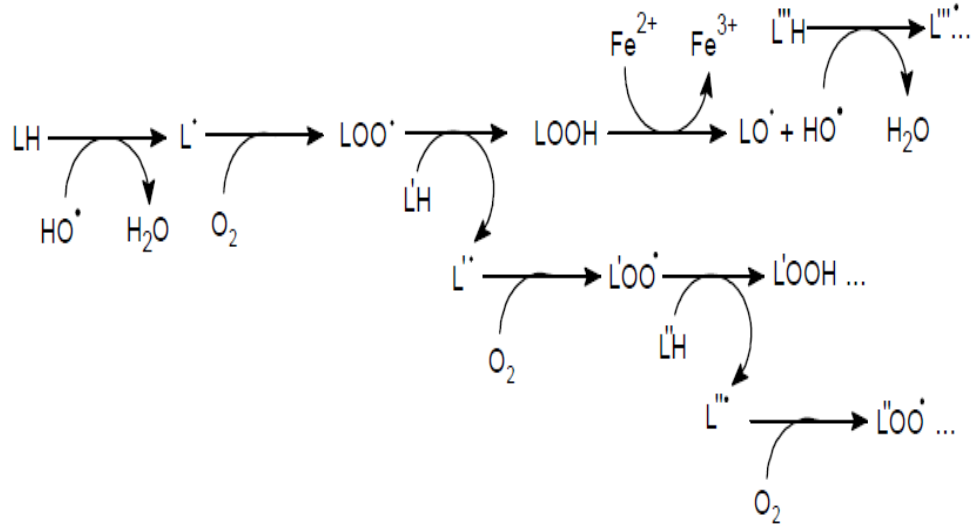
3.9.7.1. Lipidlere Etkisi

Serbest radikaller, biyomoleküllerin çoğuna zarar verebilir, ancak özellikle lipitler daha fazla etkilenir. Hücre membranları, oksidatif radikaller tarafından kolayca okside olabilen doymamış yağ asitlerinden zengindir. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, LPO adı verilen hasara yol açar. LPO, kendiliğinden devam eden zincir reaksiyonları başlatır. LPO ürünlerinden biri olan MDA,

membran bileşenlerinde çapraz bağlanmaya ve polimerizasyona neden olabilir. Ayrıca, DNA'nın azotlu bazlarıyla reaksiyona girerek karsinojenik özellikler gösterebilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

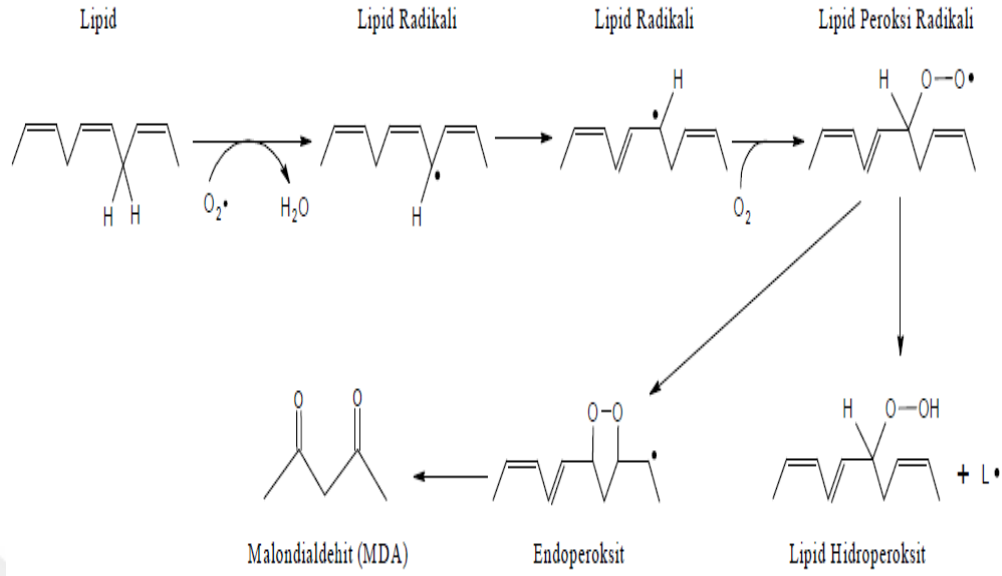
3.9.7.1.1. Lipid Peroksidasyonu (LPO)

LPO genel olarak, serbest radikaller veya radikal olmayan türler gibi oksidanların, özellikle bir karbondan hidrojen soyutlanmasını içeren ve oksijen eklenmesiyle lipid peroksil radikalleri ve hidroperoksitler ile sonuçlanan PUFA'lar olmak üzere karbon-karbon çift bağı içeren lipidlere saldırdığı bir süreç olarak tanımlanabilir. Glikolipidler, fosfolipidler ve kolesterol de hasar verici ve potansiyel olarak öldürücü peroksidatif modifikasyonun iyi bilinen hedefleridir. Lipidler ayrıca lipoksijenazlar, siklooksijenazlar ve sitokrom P450 gibi enzimler tarafından oksitlenebilir. Membran LPO'na yanıt olarak ve belirli hücrel metabolik koşullara ve onarım kapasitelerine göre, hücreler hücre sağkalımını destekleyebilir veya hücre ölümünü indükleyebilir. LPO'nun genel süreci üç adımdan oluşur: Başlatma, yayılma ve sonlanma. LPO'nun başlatma adımı, $\cdot\text{OH}$ gibi prooksidanlar, karbon merkezli lipid radikali ($\text{L}^\bullet$) oluşturan alilik hidrojeni soyutlar. Yayılma aşamasında, $\text{L}^\bullet$ hızla oksijenle kimyasal bir reaksiyon vererek bir lipid peroksi radikali ($\text{LOO}^\bullet$) meydana getirir; bu radikal, başka bir lipid yapılı molekülden bir hidrojen soyutlayarak başka bir $\text{L}^\bullet$ (zincir reaksiyonunu sürdüren) ve lipid hidroperoksit (LOOH) üretir. Sonlanma reaksiyonunda, antioksidan maddeler $\text{LOO}^\bullet$ türüne bir hidrojen atomu aktarır ve başka bir $\text{LOO}^\bullet$ ile reaksiyon vererek non-radikal ürünler oluşturan karşılık gelen bir antioksidan radikali oluşturur (Yin ve ark., 2011) (Şekil 5).



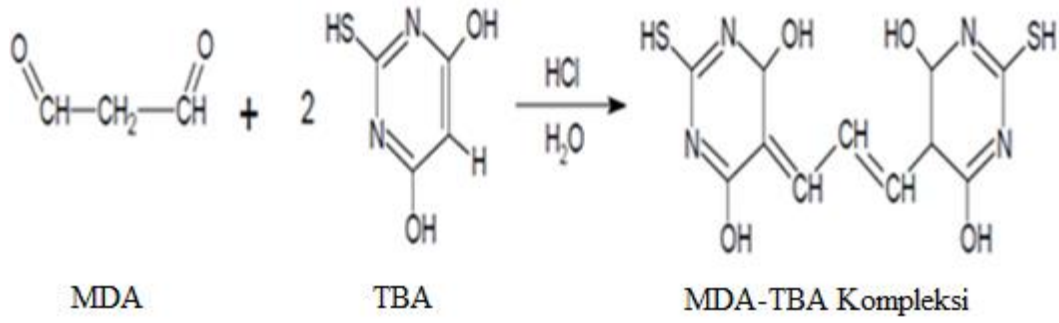
Şekil 5. Lipid Peroksidasyonunun İlerlemesi ve Dallanması (Akkuş, 1995)

Güçlü oksitleyici radikal genellikle $OH^\bullet$ olup, aynı zamanda $^1O_2$ ve $NO^\bullet$ de LPO başlatabilir. Hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla lipit radikalleri oluşur ve bu radikaller otooksidasyona yol açarak LPO'nun zincir reaksiyonu şeklinde devam etmesine neden olur (Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011). Zincir reaksiyonunun kendi kendini sürdürme ve geri dönüşümsüz olma özelliği nedeniyle, LPO metabolizma için en zararlı reaksiyonlardan biridir (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011) (Şekil 6).



Şekil 6. Lipid Peroksidasyonu ve MDA Oluşumu (Akkuş, 1995)

Birçok hastalık durumunda oksidatif hasarın nedensel rolünün giderek daha fazla anlaşılması, LPO'nun güvenilir bir şekilde değerlendirilmesine büyük önem vermektedir. MDA, belirli birincil ve ikincil LPO ürünlerinin ayrışmasıyla oluşan birkaç düşük molekül ağırlıklı son üründen biridir. Düşük pH ve yüksek sıcaklıkta, MDA, 2-tiyobarbiturik asit (TBA) ile nükleofilik ekleme reaksiyonuna kolayca katılarak kırmızı, floresan 1:2 MDA:TBA adüktü oluşturur. Bu, MDA'yı (serbest aldehit veya TBA türevi olarak) ölçmek için kolay ve hassas yöntemlerin mevcudiyetiyle birlikte, MDA tayininin ve özellikle "TBA testinin" çok çeşitli örnek tiplerinde LPO'nu tespit etmek ve ölçmek için rutin olarak kullanılmasına yol açmıştır (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011) (Şekil 7).



Şekil 7. MDA ile TBA'nın Reaksiyonu (Akkuş, 1995)

3.9.7.2. Karbonhidratlara Etkileri

Karbonhidratlardan, özellikle monosakkaritlerin otooksidasyonu, H_2O_2 , peroksitler, glioksal ve okzoaldehitlerin oluşmasına neden olur. Okzoaldehitler, DNA, RNA ve proteinlerle etkileşime girerek antimitotik etki gösterir ve bu nedenle kanser ile yaşlanma gibi süreçlerde rol oynar. Ayrıca, bağ dokusunun önemli mukopolisakkaridi olan hiyalüronik asit, H_2O_2 ve O_2^- etkisiyle parçalanır, bu da hiyalüronik asidin bol bulunduğu bölgelerde patolojik lezyonların oluşmasına yol açar (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011).

3.9.7.3. Proteinlere Etkileri

Serbest radikaller, proteinleri hedef alarak çeşitli hasarlara yol açabilir. Bir proteinin serbest radikallerden aldığı hasarın derecesi, amino asit kompozisyonu ile alakalıdır. Özellikle -SH grubu ve doymamış bağ içeren proteinler (örneğin metionin ve sistein, triptofan, histidin, fenilalanin, tirozin) daha kolay oksidatif hasara maruz kalabilir. Oksijenden oluşan radikaller, proteinlerin hem primer, hem sekonder hem de tersiyer yapılarında değişikliklere neden olabilir. Primer yapının oksidasyonu, sekonder ve tersiyer yapı değişikliklerine yol açar. Bu değişiklikler, proteolitik hassasiyetin artmasına ve membran proteinlerinin yapısında ve

fonksiyonlarında değişikliklere sebep olabilir. Oksidasyon sonucu, membran proteinleri ve sitoplazma proteinleri çapraz bağlanmalar meydana getirerek dimerleşebilir ve çok daha büyük agregatlar oluşturur. Ayrıca, H_2O_2 ve O_2^- gibi radikaller, oksihemoglobini methemoglobine dönüştürür. İn vivo meydana gelen oksidatif hasar, transport proteinlerini, reseptör fonksiyonlarını, enzimleri ve muhtemelen de immün sistem üzerine etki edebilir. Oksidatif protein hasarı, DNA ve enzimler gibi diğer biyomoleküller üzerinde ikincil hasarlara yol açabilir (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011).

3.9.7.4. Enzimlere Etkileri

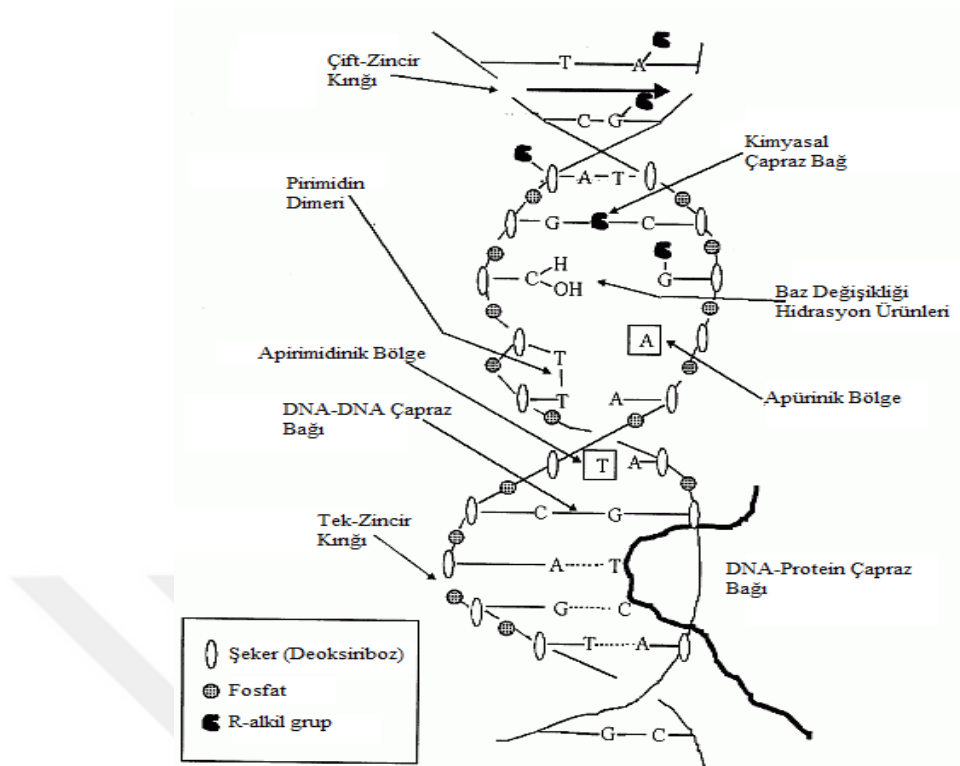
Meydana gelmiş olan serbest radikaller, hem katalitik hem de proteolitik enzimlerin aktivitesini artırır. Proteazlar, elastazlar, fosfolipazlar, ksantin oksidazlar, siklooksijenazlar, triptofan dioksijenazlar, lipoksijenazlar ve galaktoz oksidazlar aktif hale gelirken, α -1-antitripsin inaktive olabilir (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011).

3.9.7.5. Nükleik Asitler zerine Etkileri

Serbest radikaller ile oksidatif reaksiyonların rnleri, DNA'nın bileşenleriyle etkileşime girerek DNA'nın yapısını bozabilir. Bu tür bir hasar, oksidatif DNA hasarı olarak adlandırılır (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011).

Oksidatif Mekanizmalar Sonucu Meydana Gelen DNA Hasarları:

1. DNA Baz Hasarı: DNA'daki bazların serbest radikaller ile etkileşimi sonucunda oluşan hasar süreçleri, DNA baz hasarı olarak adlandırılır.
2. DNA Şeker Hasarı: DNA'nın yapısındaki şekerlerin OH• ile etkileşerek modifikasyonlar yapması sonucu meydana gelen şeker hasarlarıdır.
3. 8-5'-Siklopürin-2'-Deoksinüklozidler: Pürin nükleozitlerinin C8 pozisyonuna şeker radikalinin eklenmesiyle meydana gelen durumdur.
4. DNA-Protein Çapraz Bağlantıları: İyonize radyasyon gibi serbest radikal üreten etkilere hücrelerin maruz kalması sonucu kovalent DNA-protein çapraz bağları oluşur. Bu reaksiyon, DNA baz radikalinin aromatik amino asitlere eklenmesiyle ya da DNA baz radikali ile bir amino asit radikalinin birleşmesiyle gerçekleşir.
5. Abazik Bölgeler: DNA'da bulunan şekerler ile bağ kuran modifiye bazlar, zayıf olan glikozidik bağlardan ayrılarak boşluk oluşturur.
6. Tek ve Çift Zincir Kırıkları: DNA'da meydana gelebilecek zincir kırıkları, nükleik asitler üzerine etkili nükleaz aktiviteleri nedeniyle oluşabilir ve her zaman oksidatif DNA hasarını işaret etmez. Tek zincir kırıklarında, karşı zincirden doğru bilgi okunarak hasarlı zincir onarılabilir. Ancak çift zincir kırıkları daha ciddi hasara yol açar ve genellikle daha kritik kabul edilir (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011) (Şekil 8).



Şekil 8. DNA Üzerinde Oluşan Oksidatif Hasar Türleri (Dizdaroglu ve ark., 2002)

3.9.7.6. Hücresel Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerde bir dizi zararlı etkiye yol açar. Bunlar arasında potasyum ve fosfolipid miktarının azalması, kapiller geçirgenliğin ve mitokondriyal aerobik solunum mekanizmasının bozulması, hücreye demir ve kalsiyum girişinin artması, trombosit agregasyonunun yükselmesi gibi etkiler bulunur. Ancak, hücre ölümüne yol açan kritik etki, kalsiyum dengesinin bozulmasıdır (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011).

Alveoler epitel hücreleri, endotel hücreleri, hepatositler ve eritrositler, serbest radikallere en duyarlı ve en yakın hedef hücrelerdir. Özellikle poliansature yağ asitleri, demir iyonları ve oksijen bulunduran eritrositler, Fenton Reaksiyonu ve Haber-Weiss Reaksiyonu başta olmak üzere serbest radikal üreten mekanizmalarla sürekli karşı karşıya kalmaktadır (Halliwell, 1994). Ağır oksidatif stres, hücrelerde

ciddi hasar ve hatta ölüme neden olabilir. Bu nedenle serbest radikal üretim hızı, birçok hastalıkta artış göstermektedir (Akkuş, 1995; Halliwell, 1994; Yin ve ark., 2011).

3.9.7.7. Dokuya Etkileri

Oksidatif stres, vücutta çok sayıda organı ve dokuyu etkileyebilir. Bu organlardan çok etkilenenlerden biri karaciğerdir. Bununla beraber kanlanmanın fazla olduğu diğer doku ve organlarda oksidatif stresten fazlaca etkilenebilmektedir. Bunların başında da üreme organları gelmektedir. Üreme organlarına etkisi bulunan toksinler veya üreme organlarını etkileyebilecek patolojik durumlar, LPO ve yüksek reaktiviteye sahip aldehid ürünleri (örneğin, MDA ve 4-hidroksinonenal (4-HNE)) gibi faktörler, ağır metal iyonları ve de özellikle serbest demir, hücrelerde oksidatif stresin artmasına katkıda bulunur. ROT'nin üretiminin artması, hücresel sinyal iletimini, genetik ifadeyi ve redoks dengesini değiştirir, böylece GSH seviyelerini düşürerek hücrelerde apoptozis meydana gelmesini ve nekrozun artmasını tetikler. Sonuç olarak organ ve doku hasarı meydana gelir (Halliwell, 1994).

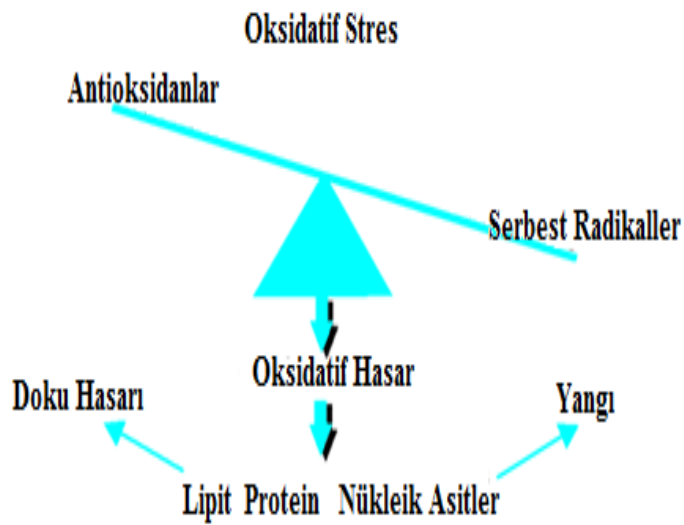
3.9.7.8. Serbest Radikallerin Etkili Olduğu Hastalıklar

Serbest radikallerin meydana getirdiği etkilerin sebep olduğu birçok hastalık ve durum tanımlanmıştır. Bu durumların başında da kanser gelir; birçok dokuda ve organda meydana gelen kanser durumlarında serbest radikallerin etkisi olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca, Alzheimer ve Parkinson başta olmak üzere, Huntington hastalıkları ve multipl skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklar,

glomerulonefrit gibi immün sistem hastalıkları, romatoid artrit, ateroskleroz ve iskemi gibi dolaşım sistemi hastalıkları, gastrointestinal sistem yangıları ve hastalıkları, diyabet ve Down sendromu gibi genetik ya da metabolik hastalıklar, nefrit ve hepatit gibi organ hastalıkları, katarakt ve glokom gibi göz hastalıkları, pnömoni, astım ve hipoksi gibi akciğer hastalıkları da serbest radikallerle ilişkilidir (Cheeseman ve Slater, 1993; Goetz ve Gerlach, 2004).

3.10. Oksidatif Stres

Antioksidan ve oksidan sistemler arasında var olan dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu ortaya çıkan durum   Oksidatif Stres   olarak tanımlanır. Bu durum, oksidanların oluşumunun artışı veya koruyucu sistemlerdeki bir eksiklik sonucu ortaya çıkabilir. Alzheimer, diyabet, böbrek yetmezliği gibi patolojik durumlarda, yaşlanma sürecinde ve pestisitler, uyuşturucular, radyasyon gibi biyolojik kaynaklı oksidan maddelere aşırı maruziyet sonucunda da oksidatif stres gelişebilir (Storz ve Imlayt, 1999) (şekil 9).



şekil 9. Oksidatif Stres

3.11. Antioksidan Savunma Sistemleri

Oksijenli yaşamın ortaya çıkmasıyla birlikte aerobik canlılar, oksijen kaynaklı serbest radikalleri üretmeye başlamıştır. Bu durumla paralel olarak, organizmalarda serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak, hafifletmek veya engellemek amacıyla antioksidan savunma sistemleri meydana gelmiştir. Meydana gelen bu sistemler, antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki bu hassas dengenin korunamaması durumunda hücre hasarına ve patolojik değişikliklere yol açabilir. Antioksidan maddeler ya da sistemler, ya toksinlerle ve radikallerle direkt olarak reaksiyona girerek non-enzimatik şekilde ya da enzimatik yolla reaktif olan bileşiklerin dengeli bir şekilde indirgenmesine neden olarak, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engeller inhibe ederler. Ayrıca, metal iyonlarını inaktive ederek LPO spesifik enzim aktiviteleriyle kontrol altına alabilirler (Aruoma, 1998).

Antioksidanlar, etkilerini iki ana yolla gösterirler (Aruoma, 1998):

1. Serbest radikal meydana gelişinin engellenmesi
 - a) Başlatıcı etkili reaktif türevlerin uzaklaştırılması
 - b) Oksijenin uzaklaştırılması ve/veya konsantrasyonunun azaltılması
 - c) Katalitik etkili metal iyonlarının uzaklaştırılması
2. Meydana gelmiş serbest radikallerin etkisiz bir hale getirilmesi
 - a) Toplayıcı etki: ROT üzerine etki ederek oluşmuş ROT'ni tutmak ve onları daha etkisiz reaktif moleküllere dönüştürmek (enzimler).
 - b) Bastırıcı etki: ROT'ne proton ilave ederek aktivitelerini kaybettiren etkidir (vitaminler, flavinoidler).

- c) Onarıcı etki
- d) Zincir kırıcı etki: ROT'leri ve zincir reaksiyonunu başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran ve fonksiyonlarını engelleyen etki (hemoglobin, seroplazmin, mineraller, vitaminler).

Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olarak iki grupta sınıflandırılabilir (Tablo 3). Hücresel düzeyde etkili enzimatik savunma sistemlerinde primer antioksidan enzimler içerisinde SOD, katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon-S-trasferaz (GST) bulunur. Bunların dışında, dolaylı olarak antioksidan savunma sisteminin parçası olan glikoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi sekonder antioksidan enzimler de vardır. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri içerisinde ise vitamin A, vitamin C, vitamin E, melatonin, GSH, bilirubin, albümin ve ürik asit gibi bileşiklerden bahsedilebilir (Aruoma, 1998).

Tablo 5. Enzimatik ve Non-Enzimatik Antioksidanlar (Aruoma, 1998)

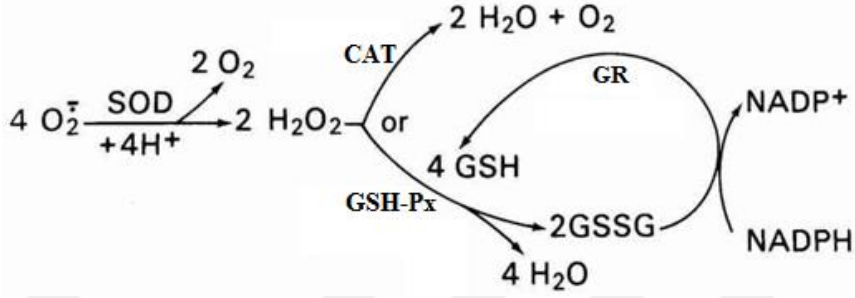
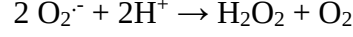
Antioksidan Ajanlar	Etkileri
Enzimatik Antioksidanlar	
SOD	$O_2^{\cdot -}$ detoksifiye eder
KAT	H_2O_2 detoksifiye eder
GSH-Px	H_2O_2 detoksifiye eder
Peroksidaz	H_2O_2 detoksifiye eder
Sitokrom oksidaz sistemi	Hücredeki O_2 'in %95-96'sını detoksifiye eder
Non-Enzimatik Antioksidanlar	
Alfa-tokoferol	$O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$, $^1O_2$ detoksifiye eder
Beta-karoten	$^1O_2$, $O_2^{\cdot -}$ ni temizler
Askorbik asit	$O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$ detoksifiye eder
Ürat	$O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$ tutar
Sistein	$O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$ tutar
Albumin	LOOH, HOCl'i tutar
Bilirubin	$O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$ tutar
Seruloplazmin	SOD'a benzer mekanizma
Transferin	Dolaşan Fe'i bağlar
Laktoferrin	Dolaşan Fe'i bağlar
Ferritin	Dolaşan Fe'i bağlar
Sistein	$O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$, $^1O_2$ detoksifiye eder

3.11.1. Enzimatik Antioksidanlar

3.11.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD, E.C.1.15.1.1)

İki $O_2^{\cdot -}$ dismutasyona uğratarak moleküler oksijene (O_2) ve H_2O_2 'ye ayrıştıran enzim SOD enzimidir (Mruk ve ark., 2002). Aerobik koşullarda hayatın devamlılığı için gerekli olan bu enzimin üç farklı çeşidi vardır ve bunların kinetik özellikleri birbirleriyle benzerdir. SOD enziminin prokaryotlarda bulunanı demir, prokaryot ve ökaryotlarda bulunanı manganez, ökaryotlarda bulunanı ise çinko ve bakır içermektedir. SOD, detoksifikasyonda tam olarak etkili değildir. Bunun sebebi

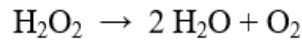
meydana getirdiği H_2O_2 nin toksik oluşundan kaynaklanmaktadır (Mruk ve ark., 2002) (Şekil 10).



Şekil 10. ROT'ne Karşı Antioksidan Savunma (Akkuş, 1995)

3.11.1.2. Katalaz (KAT, E.C.1.11.1.6)

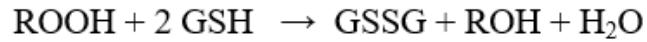
Memeli hücrelerin çoğunda yer alan KAT enzimi değişik yoğunluklarda bulunmaktadır. H_2O_2 'nin konsantrasyonu, organlarda bu enzimin içeriğinin az veya çok oluşuna göre farklılık göstermektedir. Enzim içeriğinin az olduğu kalp ve beyinde, H_2O_2 konsantrasyonu yüksek, karaciğer ve böbrekte ise daha azdır. KAT'ın bünyesinde ve aktivitesinde etkili olan hem grubu yer almaktadır. Enzimin katalitik aktivitesi ile H_2O_2 iki adet H_2O ve O_2 'e dönüştürülür. SOD enzimi gibi bu enzim de canlılarda oksidatif stres durumlarında uyarılabilir (Ighodaro ve Akinloye, 2018).



3.11.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px, E.C.1.11.1.9)

Sitozole yerleşmiş olup, yapısında dört selenyum atomu bulunduran tetramer olarak da bilinen bir enzimdir. Hücrenin yapısında barındırdığı H_2O_2

detoksifikasyona bu enzim aracılığı ile uğramaktadır. LPO'nu ve ilerlemesini durdurmak ve önlemek bu enzimin görevleri arasındadır. Aşağıdaki reaksiyonları katalizler (Ighodaro ve Akinloye, 2018).



GSH-Px fagositoz görevi olan hücrelerde etkili fonksiyonlara sahiptir. Öteki antioksidanlarla beraber solunum patlaması sırasında oluşan serbest radikallerin etkilerinden bu hücrelerin etkilenmesini önlerler. GSH-Px'in oksidatif strese karşı antioksidan etkisi eritrositlerde de etkin bir şekilde mevcuttur. GSH-Px aktivitesinde düşme, H_2O_2 'te artmaya bunun sonucu olarak da şiddetli hücre hasarına sebep olur (Ighodaro ve Akinloye, 2018)

3.11.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST, E.C.2.5.1.18)

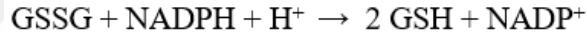
GST çok fonksiyonlu bir enzim olmakla birlikte homeostasiste de etkilidir ve organizmanın toksik maddelerden arınması basamaklarında son ürün olarak merkaptürik asit oluşumundaki ilk reaksiyonda katalizör görevi görür. Ekzojen ve endojen suyu sevmeyen elektrofilik bileşiklerin GSH ile konjuge olması durumu merkaptürik asit meydana gelmesindeki ilk basamakta gerçekleştirilir (Pinkus ve ark., 1996).

GST'nin etkili olduğu durumlar, besinler aracılığıyla alınan toksik maddelerin detoksifikasyonu, substrat yapısında olmayan ligandları (hem, yağ asitleri, safra tuzları) GSH ile konjuge hale getirerek taşıma, prostoglandinlerin izomerizasyonu şeklinde sıralanabilir (Pinkus ve ark., 1996). Ayrıca organizmayı

reaktif elektrofilik bileşiklerden koruyarak, bu korumayı da aynı tür bileşikleri kovalent olarak birleştirerek gerçekleştirmektedir (Ighodaro ve Akinloye, 2018; Pinkus ve ark., 1996).

3.11.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR, E.C.1.6.4.2)

GR enzimi, 120.000 Dalton moleküler ağırlığında olan ve GSSG'yi redükte GSH'a dönüştüren iki alt birimden oluşmuş bir dimer yapıya sahiptir (Gill ve ark., 2013). Her bir alt birim, NADPH bağlanma bölgesi, FAD bağlanma bölgesi ve ara yüz alanı olmak üzere 3 yapısal bölgeden oluşur. GSH'un indirgenmesi esnasında, elektronlar genellikle NADPH'den FAD'ye aktarılır. Ardından bu elektronlar, alt birimlerde yer alan iki sistein arasındaki disülfid bağlarına iletilir ve okside GSH'a dönüşüm gerçekleşir (Gill ve ark., 2013).



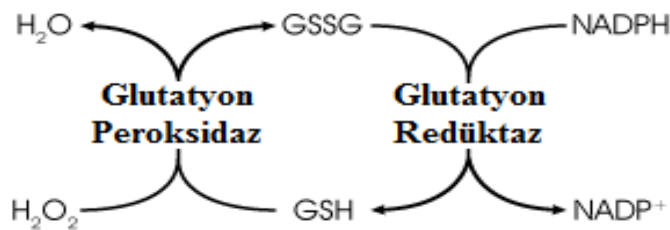
Bu tepkime, özellikle GSSG'ye özgüdür, ancak NADH ile (elektron vericisi) düşük düzeyde bir etkileşimi vardır. GR enziminin, bu reaksiyonun tersini fazla GSH ve NADP⁺ konsantrasyonunda in vitro ortamlarda meydana getirebildiği belirlenmiştir. Ancak, in vivo koşullarda bu ters tepkimenin meydana gelmesi, gerekli substrat konsantrasyonunun fizyolojik koşullarla uyumsuz olması sebebiyle mümkün değildir (Ighodaro ve Akinloye, 2018; Gill ve ark., 2013).

3.11.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

3.11.2.1. Glutasyon (GSH)

Yapısında glutamik asit, glisin ve sistein olmak üzere üç aminoasit bulunduran, suda çözünebilen, enzim yapısında olmayan bir antioksidandır (Robaczewska ve ark., 2016). Doku ve organlarda ROT'un oluşturduğu hasara karşı koruyucu etkiye sahiptir. Serbest radikal çeşitlerinden olan H_2O_2 nin, süperoksit radikallerinin ve membran protein tiyollerinin giderilmesinde görev alır (Gill ve ark., 2013; Robaczewska ve ark., 2016). H_2O_2 'nin miktarının giderek artması GSH'nin yokluğunda meydana gelmektedir. GSH düzeyinin dengelenmesi GR aracılığı ile GSSG nin devamlı indirgenmesinden ileri gelir ve GSH-Px'in substratıdır (Gill ve ark., 2013).

GSH hücreleri oksidatif hasardan, radyasyondan, toksik maddelerden korumakta ve birtakım ilaçların inaktivasyonunda, endojen bileşiklerin (östrojen, prostoglandin, lökotrien) metabolik işlemlerinde görev almaktadır. GSH, serbest radikallerle doğrudan tepkime verebilir ve hücresel taşınımı sayesinde tiyol kısımlarını ve başka membran komponentlerini koruyarak hücreyi oksidan hasardan korur. Ayrıca GSH'nin antioksidan rolü GST ve GSH-Px e substrat oluşundan ileri gelir (Şekil 11) (Gill ve ark., 2013).



Şekil 11. Glutasyonun Oksidasyon ve Redüksiyon Reaksiyonları (Akkuş, 1995)

3.11.2.2. E Vitamini (α -tokoferol)

Vitamin E, dört tokoferol ve dört tokotrienolden oluşan optik olarak aktif metillenmiş fenolik bileşiklerin bir koleksiyonudur, burada α -tokoferol en yaygın ve biyolojik olarak aktif türdür (Traber ve Atkinson, 2007). Yapılar iki ana parçadan oluşur: yoğun şekilde ikame edilmiş polar kromanol aromatik halkası ve lipofilik uzun poliprenil yan zinciri. E Vitamininin farklı formları arasındaki temel kimyasal yapısal fark, tokotrienollerin üç karbon-karbon çift bağı olan doymamış izoprenoid hidrokarbon yan zincirlerine sahip olması, tokoferoller içinse doymuş izoprenoid yan zincirlerine sahip olmasıdır. Her grup içinde, vitamerler kromat halkasındaki metillerin sayısına ve pozisyonlarına göre farklılaştırılır. Tokoferollerin ve tokotrienollerin biyosentezi için poliprenil öncüsü sırasıyla fitil pirofosfat (PPP) ve geranilgeranil pirofosfattır (GGPP). E vitamini şikimat yoluyla biyosentezlenir ve α -tokoferol ve α -tokotrienol yapısal olarak benzersiz kabul edilirken, her sınıftaki kalan bileşikler anayasal izomerlerdir. Üç stereogenik merkezin varlığı (kromat halkasının C2 pozisyonu, fitil yan zincirinin C4 ve C8 pozisyonu), her bir kiral merkezdeki grupların pozisyonuna ve yönelimine bağlı olarak 8 farklı stereoizomer (dört çift enantiyomer) üretir. 1920'de E vitamininin keşfedilmesinden bu yana, hücreler tarafından reaktif nitrojen ve oksijen türlerini temizlemek için kullanılan en güçlü zar bağı antioksidan olduğu ve bunun sonucunda çoklu doymamış yağ asitlerinin (PFA) ve LDL hücresel lipid peroksidasyonu sırasında hücre zarı fosfolipitlerine verilen oksidatif hasarın bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir. Antioksidan yağda çözünür ve hücre zarlarına yerleşmiştir. E vitamini, kroman halkasının fenolik hidrojen atomunu transfer ederek lipid peroksil radikallerini (LOO.) azaltarak işlev görür, bu da

nispeten kararlı ve tepkisiz rezonans-stabilize tokoferoksil radikali ile sonuçlanır. Lipid peroksidasyonunun genel süreci lipid peroksidasyonunun kendisini daha da ileri götürür. α -tokoferol radikali, askorbik asit veya koenzim Q10 tarafından orijinal aktif α -tokoferol formuna geri indirgenebilir. Alternatif olarak, ortaya çıkan tokoferil peroksitin bir peroksit ayrılan grubunu ortadan kaldırdığı, suyla reaksiyona girdikten sonra bir hemiketal oluşturduğu ve son olarak tokoferolkinona hidrolize olduğu ikinci bir peroksil radikalini söndürebilir. Bu özellik, bir maddenin iyi bir antioksidan olarak kabul edilmesinin temel kriterlerinden biridir. E vitamini ile C vitamininin askorbat iyonu arasındaki sinerjik antioksidasyon etkileşimleri, E vitaminini anti-radikal savunma sisteminin ön saflarına yerleştirir. E vitamini ekzojendir ve dolayısıyla gereklidir ve organizma tarafından sentezlenemediği için diyet yoluyla az miktarda alınmalıdır. Biyosentezi bitkilerle, fotosentetik alglerle ve bazı siyanobakterilerle sınırlıdır. A vitamini eksikliği nadir görülse de, eksikliğin en sık görülen belirtileri ensefalomalazi, eksüdatif diatez, kas distrofisi ve seroid pigmentasyonu içeren bir dizi bozukluk ve hastalık durumudur. α -Tokoferol en yüksek biyoaktiviteyi (%100) gösterirken, β -, γ - ve δ -tokoferollerin göreceli aktiviteleri sırasıyla %50, %10 ve %3'tür (Traber ve Atkinson, 2007).

3.11.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit)

Vitamin C (L-askorbik asit), nötr pH'ta tamamen iyonize olduğu bilinen oldukça asidik bir hidroksil grubu ($pK_a = 4.2$) taşıyan optik olarak aktif bir hidro-çözünür serbest radikal süpürücüsüdür. Bu nedenle, asidik vitamin 3-hidroksil grubundan kolayca bir proton kaybederek rezonansla stabilize edilmiş bir askorbat anyonu (AsC^-) sağlar. Alkolün alışılmadık asiditesi, deprotone edilmiş

monoanyonik konjugat bazını stabilize eden iki konjuge çift bağı varlığıyla ilişkilidir. Dahası, aynı elektronik faktörler, lipid radikalleri tarafından bir elektron oksidasyonuna uğradığında askorbat radikalini ürettiğinde C vitamininin radikal formuna stabilite kazandırır; bu, diğer serbest radikallerin çoğundan çok daha az reaktif bir türdür. Bu nedenle, C vitamini serbest radikal süpürücü rolünü üstlenebilir. Düşük standart 1 elektron indirgeme potansiyeli (282 mV), C vitaminini mükemmel bir elektron vericisi yapar. Ayrıca, düşük askorbat konsantrasyonlarında, bir pro-oksidan indirgeyici ajan olarak işlev görebilir ve redoks aktif bakır ve demir metallerini indirgeyebilir. Bu nedenle C vitamini, tüm hayvanlarda ve bitkilerde temel biyolojik işlevleri aracılık eden bir dizi metabolik süreç için bir kofaktör olarak gereklidir. Yapı, kiral bir 3,4-dihidroksifuran-2(5H)-on halkası ve başka bir stereogenik merkez içeren bir 1,2-dihidroksietil bağı içerir. 6 karbonlu ketolakton yapısal olarak glikozla ilişkilidir. Stereogenik merkezler etrafındaki ikame edicilerin konumuna bağlı olarak dört stereoizomer beklenmesine rağmen, yalnızca L-enantiyomeri hem in vivo hem de in vitro biyolojik sistemlerde antioksidan kapasitesi sergiler. C vitamini neredeyse tüm hayvanlar tarafından biyosentezlenirken, insanlar dikkate değer bir istisnayı oluşturur. Sonuç olarak, temel bir besindir ve diyet yoluyla elde edilmelidir. Biyolojik türlerde, vitamin düşük pH'da protonlanmış formda bulunur, ancak pH'ı 5'in üzerinde olan ortamlarda ayrılmış askorbat formunda bulunur. Bu tür 2 elektronlu bir donördür ve herhangi bir antioksidan kapasitesi olmayan bir dehidroaskorbat (DHA) molekülüne oksitlenir. Bununla birlikte, askorbatın DHA'dan rejenerasyonu iki elektron eklenmesiyle mümkündür ve oksidoredüktaz tarafından gerçekleştirildiği önerilmiştir. Hayvanlarda, askorbik asidin biyosentezi, başlangıçta uridin difosfat

(UDP) türevleri yoluyla D-glukuronik aside oksidasyonu içeren sentetik bir yolla, karaciğerdeki çeşitli enzimler tarafından glikozdan gerçekleştirilir. C Vitamininin bir antioksidan olarak diğer bir temel işlevi, E vitamini oksijen radikallerini temizlediğinde oluşan E vitamini radikallerini azaltarak E vitaminini (HO-tokoferol) oksitlenmiş formundan (.O-tokoferol) aktif durumuna geri döndürmektir. E vitamininin geri dönüşümü, glutatyon (GSH) veya diğer kurban indirgeyicilerle birlikte hücre zarlarında gerçekleştirilir. Benzer şekilde, C vitamini çeşitli enzimatik ve non-enzimatik reaksiyonlara elektron vererek bir antioksidan ve indirgeyici ajan gibi etki eder. Birkaç biyosentetik enzimin geçiş metal iyonlarını indirgeyerek makromoleküllerin biyolojik oksidasyonunu önler. Bitkilerde, C vitamini toksik H₂O₂ suya indirgenmesini katalize eden askorbat peroksidaz enzimi için bir substrattır. Günümüzde bu vitamin, dünya çapında ilaçlarda, premedikasyonda ve diyet takviyelerinde en yaygın kullanılan vitamindir (Bendich ve ark., 1986).

3.11.2.4. Karotenoidler

Karotenoidler, tetraterpenoidler olarak da bilinir, bitkiler ve algler ile bazı bakteri ve mantarlar tarafından üretilen bir grup fitonutrienttir. Uzun çoklu doymamış hidrokarbon alkil zinciri, karotenoidleri oldukça yağda çözünür şekle getirir. Bu sebeple, lipoproteinlerin ve hücre zarlarının LPO'ndan korunmasında ciddi bir rol üstlenirler ve diğer ROT'lara kıyasla peroksil radikallerine karşı özellikle etkili temizleme kapasitesi gösterirler ve en yaygın lipitte çözünen antioksidanlar oldukları bilinmektedir. 1100'den fazla karotenoid tanımlanmış ve öncelikle iki gruba sınıflandırılmıştır. Biyosentetik olarak, tüm karotenoidler, sekiz

izopren biriminden üretilen 40 karbon atomundan oluşan tetraterpenlerdir. Yapısal omurga, baştan kuyruğa veya kuyruktan kuyruğa işlemle biyosentezlenen izoprenoid ünitelerinden oluşur. Karotenoidlerin temel yapı taşları, majör karotenoid öncüsü geranilgeranil pirofosfatı (GGPP) üreten izopentil difosfat (IPP) ve dimetilalil difosfattır (DMAPP). GGPP, karotenler veya ksantofiller sağlamak için karotenoid biyosentetik yolunda birkaç farklı reaksiyona girer. Karotenoidler, rezonansla stabilize edilmiş karbon merkezli bir radikal ürünü oluşturmak için peroksil radikallerini indirger. Likopen ve karoten en belirgin ve güçlü karotenoid antioksidanlardır. Birincisi, yapıda bulunan yüksek sayıda konjuge trans-konfigürasyon çift bağı nedeniyle özellikle güçlü bir singlet oksijen söndürücüdür. Genel olarak, karotenoidlerdeki genişletilmiş konjuge sistem güçlü bir şekilde indirgeyicidir, hidrojen atomlarının bu konjugasyona alilik pozisyonlardan soyutlanmasını kolaylaştırır ve ayrıca serbest radikal ekleme reaksiyonlarının kolayca ilerlemesini sağlar. Örneğin likopen, elektron transferi yoluyla peroksil radikallerini azaltarak tepkisiz rezonans stabilize karbon merkezli bir radikal sağlar (Krinsky, 2001).

3.11.2.5. Flavonoidler

Flavonoidler, zengin yapısal çeşitlilik gösteren ve bitkilerde ve bazı fotosentetik organizmalarda yaygın olan ekzojen antioksidanlardır. Bu benzo- γ -piran türevlerinden 8000'den fazlası tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Genel yapı, heterosiklik bir halka ile birbirine bağlı iki adet fenil halkasından oluşan bir C6-C3-C6 15 karbonlu flavon iskeletine sahiptir. Flavonoidler, flavonlar, flavanonlar, flavanoller, flavonoller ve antosiyaninler olarak sınıflandırılmıştır.

Flavonlar C2 ve C3 arasında çift bağına sahipken, flavononlar doymuş bir C2–C3 bağına sahiptir. Flavonlarla karşılaştırıldığında, karşılık gelen flavonoller C3 pozisyonunda ek bir hidroksil grubuna sahipken, flavonoller flavonollerin C2-C3 doymuş analoglarıdır. Flavonoid grupları, fenil halkalarındaki hidroksil ve diğer ikame edicilerin sayısına göre farklılaştırılır (Pietta, 2000).

3.11.3. Doğal Antioksidanlar

Zengin bir bitki örtüsüne sahip olan ve fotokimyasallar açısından zengin meyve, sebze, kabuklu yiyecekler ve tahıllar, içeriklerindeki antioksidanlar sayesinde çeşitli hastalıklara karşı koruyucu bir etki gösterirler. Ayrıca, birçok sektörde olduğu gibi gıda teknolojisinde kullanılan doğal olmayan antioksidanların kanserojenik etkiler yaratabileceği göz önüne alındığında, bitkisel doğal ürünlerin kullanımı ve biyokimyasal yaklaşımlar oldukça önemlidir. Vitamin C, E ve karotenoidlerin dışında, birçok antioksidan gıda bileşenleri de bulunur. Önemli antioksidan aktivitesine sahip bazı gıdalar arasında çilek, kiraz, turuncgiller, kivi, kuru erik, zeytin, zeytinyağı ve meyve suları yer alır. Bu gıdalar, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olup, vücudu oksidatif strese karşı korumada önemli rol oynar (Pokorný , 1991).

3.12. Maca (*Lepidium meyenii*)

Peru'ya özgü, yumru köklü ve Brassicaceae (Turpgiller) ailesinden bir bitki olan Maca, And Dağları'nın 3500 metrenin üzerindeki soğuk platolarında yetişir (Bower-Cargill ve ark., 2022). Maca (*Lepidium meyenii*), Brassicaceae familyasının (turpgiller) yumru köklü bir türüdür. Bu aile, brokoli, turp, şalgam, lahana ve kolza gibi bitkileri de içermektedir (Lee ve Chang, 2019). Gen Kaynakları

Koruma Platformu, 1982 yılında, maca'nın nesli tükenmekte olan bitki türlerinden biri olduğunu bildirmiştir. Son on yılda, Japonya ile Avrupa ve Kuzey Amerika'daki tüketici talebinin artması sonucunda maca, çok çeşitli ürünler şeklinde pazarlarda yer almaya başlamıştır (Bower-Cargill ve ark., 2022). Maca köklerinin başlıca 13 farklı rengi vardır: beyaz, siyah, kırmızı, kahverengi ve sarı bunlardan bazılarıdır. Kimyasal bileşimleri ve besin içerikleri, kök rengi ve yetiştirildikleri bölge ve yöreye göre değişiklik gösterir. Son yıllarda maca, nutrasötik endüstrisi için ilgi çekici bir bitki haline dönüştüren potansiyel olarak sağlık yararları sebebiyle gözde bir madde haline gelmiştir (Lee ve Chang, 2019).

3.12.1. Maca Besin İçeriği

Maca'nın kurutulmuş ve öğütülmüş yumru kökünün besin bileşenleri, çeşitli bilimsel araştırmalarda incelenmiştir. Macanın besleyici değeri ve bunun meydana getirdiği metabolik yanıtlar, içerisinde bulundurduğu besin maddeleri ile ilişkilidir (Tablo 6). Maca köklerinin besin içeriği ise, biyoaktif bileşiklerin kompozisyonuna bağlıdır (Tablo 7) ve bu bileşiklerin miktarları, kök renklerine ve yetiştirilme koşullarına göre değişiklik gösterir (Wang ve Zhu, 2019).

Tablo 6. Macanın Besin Maddeleri

Besin Maddeleri (% KM)	Yapılan Çalışmalar*				
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Protein	11,6	17,69	8,8	9,1	7,66
Yağ	1,09	3,61	0,9	1,1	4,81
Karbonhidrat	60	72,78	72,8	71,3	75,09
Lif	9,08	-	4,4	4,2	16,33
Suda Çözünebilir Lif	-	8,5	-	-	-
Suda Çözünemeyen Lif	-	23,24	-	-	-
Toplam Nişasta	-	23,17	-	-	-
Toplam Şeker	-	18,87	-	-	-
Azaltılmış Şeker	-	13,1	-	-	-
Kül	5	5,93	4,8	5,5	-
Mineraller	(mg/kg)		(mg/dl)	(mg/dl)	
Kalsiyum	-	-	61,4	42,1	-
Magnezyum	-	-	19,1	18,1	-
Potasyum	16,2	-	96,7	321,3	-
Sodyum	260	-	7,7	11,3	-
Çinko	58,4	-	0,5	0,4	-
Demir	72,3	-	19,1	1,6	-
Bakır	5,14	-	3,2	3,4	-
Manganez	-	-	0,8	0,6	-
Nikel	0,49	-	-	-	-

KM: Kuru madde.

(*) : (1) Valentova ve ark., 2006; (2) Rondán-Sanabria ve Finardi-Filho 2009;

(3), (4) Valdivia Zambrana ve Almanza, 2013; (5) Peruvian Nature S&S SAC., 2013.

Tablo 7. Maca köklerinin besin içeriği, biyoaktif bileşiklerin kompozisyonu

Madde	Referans
Glikosiyonatlar	
İzotiyosiyonat	34
Benzil izotiyosiyonat	
Metoksibenzil izotiyosiyonat	
Alkaloidler	
Macaridine	
Lepidilin A	11, 39, 43
Lepidilin B	
(1R,3S)-1-metiltetrahidro-β-carboline	
Lepidine	
Alkamideler	
Macaene	15, 39, 59
Macamide	

Macaene ve macamide, önemli biyolojik aktivitelere sahip olduklarına inanılan, sadece maca bitkisine özgü bileşiklerdir (Lee ve Chang, 2019; Wang ve Zhu, 2019). Bugüne kadar bir macaene ile 19 macamide türü bulunmuştur (Chen ve ark., 2016). Muhammad ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada maca bitkisinin, diğer bitkilerde bulunmayan kendine özgü alkamidler içerdiğini göstermişlerdir. Bu bileşikler, macaridine (1,2-dihidro-N-hidroksipiridin) ve macamide (N-benzaildekanonik asit ve N-benzaildekanonat) olarak adlandırılmıştır. L. meyenii, tanen, saponin ve çeşitli mikro elementler de bulundurmaktadır. İçeriğindeki fenolik bileşikler ve polisakkaritler, serbest radikalleri ve etkilerini inhibe ederek antioksidan etki ortaya koymaktadır ve oksidatif strese karşı korumaktadır (Muhammad ve ark., 2005; Wang ve Zhu, 2019). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, maca bitkisinin içerdiği aromatik izotiyosiyanatların antioksidan aktivitelerinin yanı sıra plazma serbest yağ asidi ve glikoz seviyelerini düşürücü etkileri de gözlemlenmiştir (Muhammad ve ark., 2005; Wang ve Zhu, 2019).

3.12.2. Maca ve Antioksidan Etkisi

Diğer birçok bitki gibi, maca bitkisi de çeşitli antioksidan bileşikler içerir. Bu maddelerin miktarları toprak bileşimine, çöp ekotipine, hasat zamanına, kurutma işlemine ve çıkarma yöntemine göre değişir. Miktardaki farklılıklara rağmen, önemli miktarda çeşitli kompost antioksidanları içerir. Bunlar özellikle fenoller, glukozinolatlar, alkamidler ve polisakkaritlerdir. Metabolizmadaki çeşitli işlevleri ve bilimsel araştırmalardaki antioksidan etkileri vardır. *In vitro* çalışmalarla, antioksidan etkileri esas olarak ferrik indirgeyici antioksidan potansiyeli, OH⁻ temizleme kapasitesi, LPO'nu inhibe etme kapasitesi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil ve

2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal temizleme yeteneklerinin biyoaktif bileşiklerin ölçümleri gibi çeşitli yöntemler kullanılarak belirlenir (Li ve ark., 2017; Rondán-Sanabria ve ark., 2012).

Inoue ve ark. (2016) metanolde çözülmüş sulu bir ekstreden sarı ve siyah macanın antioksidan etkisini incelemişlerdir. Her iki maca türünün de düşük bir antioksidan kapasitesi gösterdiğini, ancak sarı maca ekstresinin siyah maca özütünden daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Maca bitkisinin antioksidan etkisini inceleyen bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda etanolde çözülmüş sulu maca ekstresi kullanılmıştır. Bu çalışmada, Maca bitkisinin antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, macanın, doza bağlı olarak yüksek konsantrasyonlarda serbest radikalleri yakalamada daha yüksek aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Peroksit testlerinin sonuçları maca'nın bu bileşiğin oluşumunu azalttığını göstermiştir. Maca (1 ila 3 mg/mL), deoksiribozu sırasıyla %57 ila %74 arasında değişen oranlarda hidroksil radikallerine karşı koruduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada, yazarlar ayrıca maca'nın oksidatif stres koşullarına maruz kalan makrofajlarda ATP'nin hücre içi düzeylerini koruyup koruyamayacağını da değerlendirmişler ve maca ile tedavinin (1 mg/mL) ATP üretimini artırdığını bulmuşlardır (Rondán-Sanabria ve ark., 2012).

Bir çalışmada, macanın farklı çözücülerle (dietyl eter, etanol ve su) 1, 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında üç ekstresi hazırlanmıştır. Tüm örnekler 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ile reaksiyona girdiğinde aktive edilmiş ve etil eter özütünün 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında daha yüksek bir serbest radikal yakalama aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Veriler, Maca yapraklarından

elde edilen farklı ekstrelerin antioksidan etkiye sahip olabileceğini ve antioksidan aktivitenin ekstrenin konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir (Cuentas ve ark., 2008).

Bir çalışmada, hipertrigliseridemik ratlar, maca kökünün antioksidan aktivitesini değerlendirmek için iki hafta boyunca yüksek seviyelerde sakkaroz ve maca ile beslenmiştir. Maca ile beslenen hayvanların, plazma kolesterolünde, toplam plazma triasilgliserol seviyelerinde ve karaciğerlerindeki triasilgliserol içeriğinde önemli bir azalmaya yol açtığı saptanmıştır. Aynı çalışmada, macanın, kas dokusundaki triasilgliserol seviyesini önemli ölçüde etkilemediği de belirtilmiştir. Ayrıca kan glikoz seviyelerinde de belirgin bir azalma saptanmıştır. Maca verilmesi, kandaki ve karaciğerdeki LPO belirteçlerini önemli ölçüde etkilememiştir. Bu nedenle, araştırmacılar, macanın, kronik hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde bir diyet takviyesi olarak kullanılabilileceğini vurgulamışlardır (Večeřa ve ark., 2007).

Başka bir çalışmada, 50 ml soya fasulyesi yağına 2,5 g un eklenerek ve ısıtılmasıyla oluşan oksidasyon ürünleri gözlemlenerek maca bitkisinin antioksidan aktivitesi analiz edilmiştir. Sonuçlar, bitkinin antioksidan türlerini stabilize etmenin yanı sıra oksidasyon ürünlerinin oluşumunu engelleyebilen bir antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (Soares, 2015).

Macanın antioksidan aktivitesinin, ekstrenin konsantrasyonu ve bileşiğın bulunduğu mikroçevre ile ilişkili olabileceğini vurgulamak önemlidir. Her ikisi de birbirleriyle etkileşime girerek engelleyici etkiler üretebilir (Cuentas ve ark., 2008). Bu nedenle maca bitkisi doğal bir antioksidan madde olarak kullanılabilir ve ayrıca

oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengeyi korumaya yardımcı olabilir (Sandoval ve ark., 2002).

3.12.3. Kan Parametreleri Üzerine Etkileri

Familial hipertrigliseridemi (FHT) olan deney hayvanlarının yemlerine maca eklendiğinde kan glikoz, plazma toplam kolesterol, VLDL, LDL ve trigliserit seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Çalışmanın sonucunda ise, macanın kronik hastalıkların tedavisinde ve ilerlemesinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (Večeřa ve ark., 2007). Metabolik sendromlu 101 hastada 0,6 g/gün dozda gıda takviyesi olarak maca verildiğinde, metabolik sendromlu hastaların kan glikoz seviyesi ve diğer birçok kan parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler görülmemiştir. Ancak, maca kullanan grupta plazma aspartat aminotransferaz (AST) seviyesi yükselmiş ve kadın hastalarda diyastolik kan basıncı, erkek hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (Gonzales-Arimborgo ve ark., 2016). Zhang ve ark. (2006), 28 hafta boyunca sıçanlara iki farklı dozda (0,096 ve 0,24 g/kg vücut ağırlığı) macanın etanol ekstraktını oral yolla uygulamışlardır. Araştırmanın sonucunda, maca tüketiminin ovariektomi sonrası kemiklerde görülen olumsuz etkileri azalttığı ve kemik mineral yoğunluğunu artırdığı tespit edilmiştir. Ancak serum kalsiyum ve fosfor değerleri açısından kontrol grubuyla anlamlı bir fark bulunamamıştır. Lee ve ark. (2004) ise Güney Amerika'da 2000 yılı aşkın süredir yiyecek ve geleneksel ilaç olarak kullanılan *Lepidium meyenii* bitkisinin gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) yavruları üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bu çalışmada, balık yemlerine farklı oranlarda öğütülmüş maca kökü (%0, %5, %10 ve %15) ilave edilerek (maca köklerinin Andean alabalıklarının yem

formülasyonlarında kullanıldığı ve balık büyümesini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir) deneme sonucunda, %10 ve %15 maca kökü içeren yemlerle beslenen grupların, kontrol grubuna göre daha hızlı büyüdüğü ve lökosit sayısını artırarak bağışıklık sistemini geliştirdiği ve yaşam oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Bu çalışma ile ratlarda deneysel PKOS ile oluşturulan oksidatif strese LPO düzeyleri, bazı antioksidan parametreler ve LH, FSH, testosteron, insülin, glikoz, kolestreol gibi biyobelirteçler üzerine maca kökünün potansiyel terapötik etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Bu çalışmada, 35 adet 2,5 aylık Sprague-Dawley cinsi dişi rat kullanılmıştır. Araştırmaya başlanmadan önce, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Protokol No: 2022/21-06) etik kurul izni alınmıştır. Deney hayvanları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM) tarafından temin edilmiştir. Deney sürecinde, hayvanların bakımı ve kullanımı için belirlenen standart koşullara (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık, sıcaklık 24 ± 3 °C) uyulmuştur. Ayrıca, deney süresince ratlara standart ticari pellet rat yemi ve musluk suyu ad libitum olarak verilmiştir.

4.2. Yöntemlerin Uygulanması

4.2.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Uygulamalar

Hayvanlar beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki sıçanlara herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. Diğer gruplar ise aşağıdaki şekilde düzenlenmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. Çalışmadaki Deney Grupları ve Uygulamalar

Deney Grupları	Yapılan Uygulamalar	Rat Adedi	Toplam Süre (Gün)
Grup 1	Herhangi bir uygulama yapılmamıştır (Kontrol grubu)	7	21
Grup 2	Negatif Kontrol (CMC uygulanan grup, %1'lik)	7	21
Grup 3	Maca Kökü Uygulanan grup, 2 g/kg/gün vücut ağırlığı dozunda, gavaj	7	7
Grup 4	DeneySEL PKOS oluşturulan grup, %1'lik CMC de çözünmüş 1 mg/kg letrozol, gavaj	7	21
Grup 5	PKOS + Maca kökü uygulanan grup	7	21/7

Çalışmada kullanılacak maca kökü ve letrozol (*deneySEL PKOS oluşturacak ajan- Letrozol, steroid yapıda olmayan bir aromataz inhibitörüdür. Bu molekül, enzimin sitokrom P450 alt birimindeki heme ile yarışmalı bir şekilde bağlanarak aromataz enzimini inhibe eder ve bu mekanizma sonucunda tüm dokularda östrojen biyosentezi azalır*) miktarları daha önceki çalışmalara göre belirlenmiştir (Gonzales ve ark., 2006; Yildirim ve ark., 2010). Birinci gruba herhangi bir uygulama yapılmamıştır. İkinci grup ise negatif kontrol olarak planlanmıştır. Bu gruba letrozolün çözücüsü olan karboksimetil sellüloz (CMC) (%1'lik) 21 gün süre ile gavaj yoluyla uygulanmıştır. Üçüncü gruba maca kökü 2 g/kg/gün vücut ağırlığı dozunda 7 gün süre ile gavaj yoluyla uygulanmıştır. Maca kökü suda çözülerek hazırlanmıştır. 4. gruba 21 gün süresince %1'lik CMC de çözünmüş 1 mg/kg/gün letrozol gavaj yoluyla uygulanmıştır. Beşinci gruba ise letrozol ve maca kökü yukarıda belirlenen doz ve sürelerde uygulanmıştır. Letrozol uygulamasının 15. gününde maca kökü uygulamasına başlanarak 7 gün süre ile uygulanmış, letrozol toplam 21 gün süre ile uygulanarak 22. günde her iki uygulama da sonlandırılmıştır.

4.2.2. Örneklerin Toplanması ve Biyokimyasal Analizler

Deneylerin sonunda ratlar sakrifiye edilerek kan, ovaryum ve uterus doku örnekleri toplanmıştır. Kan örnekleri hem antikoagülan (EDTA) içeren tüplere hem de düz serum tüplerine alınmıştır. Plazma ve serumun ayrıştırılması için örnekler, +4°C’de 3.000 rpm hızında 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Serum örneklerinde LH, FSH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol seviyeleri, otoanalizör (Advia 1800 Chemistry Analyzer (Siemens Healthineers)) kullanılarak ölçülmüştür. EDTA’lı tam kan örnekleri GSH ve GSH-Px analizlerinde, serum fizyolojik ile yıkanmış eritrositler KAT ve SOD tayinlerinde, plazma örnekleri ise MDA analizi için kullanılmıştır. Kan örnekleri ile birlikte ovaryum ve uterus doku örnekleri biyokimyasal analizler gerçekleştirilene kadar -80°C’de muhafaza edilmiştir. Analizlerden önce, ovaryum ve uterus dokuları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra distile su ile 1:10 oranında seyreltilmiş ve homojenizatörde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, soğutmalı santrifüjde (NÜVE NF 800R) farklı analizler için santrifüj edilmiştir: MDA, GSH, KAT, GST ve SOD tayinleri için 3.500 rpm’de 15 dakika; GSH-Px tayini için ise 14.000 rpm’de 55 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar toplanmıştır.

4.3. Hemolizat Hazırlanması

KAT aktivite tayini için plazması ayrılan kan örnekleri serum fizyolojik (%0,9’luk NaCl) ile 3 kez yıkandıktan sonra eritrositler 1:5 oranında distile su ile sulandırılmıştır. Daha sonra dilüe edilmiş bu kan örnekleri 1:100 oranında fosfat tamponuyla (50 mM, pH:7) tekrar sulandırılarak KAT aktiviteleri belirlenmiştir. EDTA’lı tüplere alınan tam kan örnekleri GSH tayini için 1:10 oranında distile su

ile, GSH-Px aktivite tayini için 1:20 oranında distile su ile GST aktivite tayini için ise 1:100 oranında fosfat tamponu (0.1M, pH:6,5) ile SOD tayini için 1:5 distile su, ardından 1:2 kloroform/etanol ile tekrar sulandırılarak düzey ve aktivite tayinleri yapılmıştır.

4.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması

MDA, GSH, KAT, GSH-Px, GST, SOD tayini için ovaryum ve uterus Doku örneklerinin suyu, iki süzgeç kağıdı arasında alındıktan sonra tartılmış ve distile su ile 1:10 oranında (ağırlık/hacim) seyreltilmiştir. Daha sonra, kırılmış buz içinde homojenizatör (DAIHAN Scientific, HG-15A, Güney Kore) kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenat soğutmalı santrifüjde +4 °C'de MDA, GSH, KAT, GST analizleri için 3.500 rpm'de 15 dakika, GSH-Px analizi için 14.000 rpm'de 55 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlarda MDA, GSH, KAT, GSH-Px, GST, SOD ve protein tayini yapılmıştır.

4.5. MDA Düzeyinin Belirlenmesi

Plazma ve doku örneklerindeki MDA düzeylerinde meydana gelen değişimler spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiştir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda tiobarbitürik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA oluşur. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks meydana getirir. Oluşan bu pembe rengin absorbansı 532 nm'de ölçülmüştür (Placer ve ark., 1966).

Metodun Ayıraçları:

1. TBA Çözeltisi: 0,67 g TBA, 80 ml %10'luk perklorik asitte çözülür ve distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
2. %10'luk Trikloroasetik Asit (TCA): 10 g TCA distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanır. Hazırlanan çözelti, koyu renkli bir şişede oda sıcaklığında saklanır.
3. Renk Ayırıcı: 3 birim TCA çözeltisi ile 1 birim TBA çözeltisi bir reaktif şişesine alınır ve 1 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Bu reaktif günlük olarak hazırlanır.

Deneyin yapılışı:

1. Numunelerin çalışılmasından önce numunede bulunması olası olan ve 532 nm'de absorbans verebilen maddelerin sebep olabileceği absorbans düşüşünü saptamak amacıyla kör tüpü hazırlanmıştır.
2. Kör tüpüne 0,25 ml serum fizyolojik, örnek tüplerine ise 0,25 ml plazma ilave edilmiştir.
3. Deney tüplerinin üzerine 2,25 ml renk ayırıcı (TBA ve %10'luk TCA) eklenmiştir.
4. Tüplerin ağızları kapatılarak karıştırılmış ve 100 °C'de 20 dakika bekletilmiştir. Musluk suyu altında soğutma işleminden sonra tüpler 3.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve oluşan üst faz pipet yardımı ile dikkatlice alınarak absorbansı 532 nm'de okunmuştur.

Kanda ve Dokuda MDA Düzeyinin Hesaplanması

$$\text{MDA} = \frac{\text{Örneğin Absorbansı}}{\text{Standartın Absorbansı}} \times \text{Standartın Konsantrasyonu}$$

4.6. GSH Düzeyinin Belirlenmesi

GSH düzeyi, 5.5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), NADPH ve glutatyon redüktaz (GR) varlığında enzimatik döngü yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntem, DTNB ilavesiyle sülfidril gruplarının kararlı bir şekilde sarı renk oluşturması prensibine dayanan bir spektrofotometrik teknik olarak uygulanmıştır (Ellman ve ark., 1961).

Deneyde kullanılan ayraçlar şu şekildedir:

Metodun Ayraçları:

1. Çöktürücü Solüsyon: 1,67 g glasiyel metafosforik asit, 0,20 g disodyum EDTA ve 30 g NaCl, 100 ml distile suda çözülür. Bu çözeltinin raf ömrü +4°C'de 3 hafta kadardır.
2. 0,3 M Na₂HPO₄: 42,60 g Na₂HPO₄ tartılır ve distile su ile 1 L'ye tamamlanır. +4°C'de saklanır.
3. DTNB Çözeltisi (Ellman Ayıracağı): 20 mg DTNB, %1'lik Na-sitrat çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlanır ve +4°C'de saklanır.

Deneyin Yapılışı:

1. Kör tüpüne 1 ml distile su, örnek tüplerine 1 ml kan örneklerinden ilave edilmiştir. Tüm tüplere 1,5 ml çöktürücü solüsyon eklenip 3.000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir.
2. Tüplerin üst kısmındaki süzüntüden 0,25 ml alınarak temiz tüplere aktarılmıştır.
3. Üzerine 1 ml 0,3 M Na₂HPO₄ ve 0,125 ml Elman ayıracağı eklenmiştir. Daha sonra deney tüpleri karıştırılacak ve 412 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur.

Kanda ve Dokuda GSH Düzeyinin Hesaplanması

$$\text{GSH } (\mu\text{mol/ml}) = \frac{(\text{Standartın Konsantrasyonu}) \times (\text{Örneğin Absorbansı})}{(\text{Standartın Absorbansı})} \times \text{Dilüsyon}$$

4.6.KAT Aktivite Tayini:

KAT aktivitesini belirlemek için Aebi (1984) metodundan faydalanılmıştır. H_2O_2 'in yıkımını KAT enzimi katalize eder. H_2O_2 'in KAT enzimi vasıtasıyla yıkımlanma hızı, spektrofotometrik olarak H_2O_2 'in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden belirlenmiştir.

Metodun Ayıraçları

1. 30 mM H_2O_2 : 0,34 ml %30'luk H_2O_2 , fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır.
2. Fosfat Tamponu (pH: 7.0, 50 mM): 8,90 g Na_2HPO_4 ($2\text{H}_2\text{O}$) ve 6,81 g KH_2PO_4 tartılarak 1 L distile suda çözülerek hazırlanmıştır. pH 7.0'ye Na_2HPO_4 ($2\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi üzerine KH_2PO_4 ilave edilerek ayarlanır.

Deneyin Yapılışı:

1. Kör tüpüne 2 ml örnek ve 1 ml fosfat tamponu eklenerek cihaz köre göre sıfırlanmıştır.
2. Örnek tüplerine 2 ml örnek 1 ml'de H_2O_2 çözeltisi eklendikten sonra 0. (A1) ve 30. (A2) saniyelerdeki absorbans farkı belirlenmiştir.

Kan ve Doku KAT Aktivitesinin Hesaplanması

$$k = (2,3/30) \times (\log A1/A2) \times \text{Dilüsyon}$$

4.7. GSH-Px Aktivite Tayini:

Eritrosit ve doku GSH-Px aktivitesinin ölçümü, Beutler (1984) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Bu enzim, H_2O_2 kullanarak glutatyonun (GSH) okside formu olan GSSG'ye dönüşümünü katalizler. GSSG oluşum hızı, GR enzimi aracılığıyla ölçülmektedir.

Reaksiyon sisteminde kullanılan t-butilhidroperoksit (t-BOOH), bu ölçümde tercih edilen peroksit substratıdır. t-BOOH'un her bir molekülü indirgendikçe GSSG'dan 1 mol meydana gelir oluşur. GSSG'nin tekrar GSH'a indirgenmesi ise GR enziminin katalizlediği bir reaksiyonla sağlanır ve bu süreçte her bir mol GSSG için 1 mol NADPH oksitlenir.

GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın oksidasyonu sırasında 340 nm'de sistemin optik yoğunluğundaki (OD) azalma izlenerek spektrofotometrik olarak hesaplanır.

Metodun Ayıraçları:

1. Tris Tamponu (pH 8.0, 1 M): 121,14 g Tris tartıldıktan sonra distile suda çözülerek pH 8,0'e ayarlanır. Daha sonra 1,68 g EDTA (5 mM EDTA) eklenir ve hacim 1 litreye tamamlanır.
2. GSH (0,1 M): 0,31 g GSH tartıldıktan sonra, 10 ml distile suda çözülerek günlük hazırlanır.
3. GR (10 U/ml): Her 1 ml solüsyonda 10 ünite GR bulunacak şekilde hazırlanır, 1 ml distile suda 7,22 μ l GR çözülür.
4. NADPH (2 mM): 0,07 g NADPH, 30 ml distile suda çözülür.
5. t-BOOH (7 mM):, 10 ml distile suda 10 μ l t-BOOH çözülerek hazırlanır ve günlük olarak tazelenir.

Deneyin yapılışı:

1. Kör tüpüne 100 µl 1 M Tris-HCl tamponu, 20 µl 0,1 M GSH, 100 µl 10 Ünite GR, 100 µl 2 mM NADPH, 670 µl distile su ilave edilerek karıştır, 37 °C’de 10 dakika preinkübe edilmiştir. Spektrofotometre 340 nm dalga boyunda hazırlanan köre karşı sıfırlanmıştır.
2. Örnek tüplerine 100 µl 1 M Tris-HCl tamponu, 20 µl 0,1 M GSH, 100 µl 10 Ünite GR, 100 µl 2 mM NADPH, 660 µl distile su, 10 µl örnek ilave edilmiştir.
3. Örnek tüpleri karıştırılarak 37 °C’de 10 dakika preinkübe edilmiştir. Tüplere 10 µl 7 mM t-BOOH ilave edilmiştir.
4. 340 nm dalga boyunda 0. ve 2,5. dakikadaki optik dansitedeki azalma belirlenmiştir.

Kanda GSH-Px Enzim Aktivitesinin Hesaplanması

$$\text{U/g Hb} = \frac{\frac{\text{OD}_2 - \text{OD}_1}{t} \times \frac{1}{6.22 \times 0.01}}{\text{Hb (g/ml)}}$$

Dokuda GSH-Px enzim aktivitesinin hesaplanması

$$\text{U/g Protein} = \frac{\frac{\text{OD}_2 - \text{OD}_1}{t} \times \frac{1}{6.22 \times 0.01}}{\text{Protein (g/ml)}}$$

OD₁: 0. dk’daki absorbans, **OD₂**: 2,5 dk sonundaki absorbans, **6,22**: 1 µmol NADPH’in verdiği absorbans, **t**: 2,5 dk, **0,01**: Hemolizatın hacmi (ml), **1**: Küvetin toplam hacmi (ml), **Hb**: Hemogloblin

4.8. GST Aktivite Tayini:

GSH ve 1-2 dikloro,4 nitrobenzenin (CDNB) birleşmesi ile oluşan ürünün 340 nm dalga boyunda meydana getirdiği absorbansın spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanan metoda göre GST aktivitesi belirlenmiştir (Habig ve ark., 1974).

Deneyin Ayıraçları:

- 1- Tris Tamponu (pH: 7,4, 0,1M): 12,114 gr Tris tartılarak distile suda çözülür, pH 7,4'e ayarlanır ve 1 L'ye tamamlanır.
- 2- CDNB (1 mM): 0,02 gr CDNB tartılıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır.
- 3- GSH (5 mM): 0,154 gr GSH tartılıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanır.

Deneyin yapılışı:

1. Kör ve örnek tüplerine 80 µl CDNB, GSH ve 1,76 ml Tris tamponu eklenmiştir.
2. En son örnek tüplerine 80 µl örnek eklenip karıştırıldıktan sonra 340 nm'de optik dansitedeki artış 2 dk. boyunca takip edilmiştir.

Dokuda GST Aktivitesinin Hesabı

$$U = \frac{OD_2 - OD_1}{\epsilon} \times \text{Dilüsyon}$$

ϵ =1 dk'daki ekstinksiyon katsayısı (1µmol 1-(S-glutatyonil)-2,4 dinitrobenzen için)

4.9. SOD Aktivite Tayini:

SOD aktivitesi, süperoksit üreticisi olan ksantin/ksantin oksidaz sistemi tarafından nitroblue tetrazolium (NBT)'un indirgenmesi esasına dayanır (Sun ve ark., 1988).

Deneyin Ayıraçları:

1. Assay Reaktifi (Reaksiyon Çözeltisi):

- a) 0,3 mM Ksantin: 9,13 mg ksantin, 200 ml distile suda çözülür.
- b) 0,6 mM Na₂EDTA: 23 mg Na₂EDTA, 100 ml distile suda çözülür.
- c) 0,15 mM NBT: 12,3 mg NBT, 100 ml distile suda çözülür.
- d) 400 mM Na₂CO₃: 2,54 g Na₂CO₃, 60 ml distile suda çözülür.
- e) Sığır Serum Albumini (BSA, 1 g/L): 30 mg BSA, 30 ml distile suda çözülür.

Tüm bu bileşenler karıştırılarak toplamda 490 ml çözeltisi elde edilir ve koyu renkli bir şişede +4°C'de saklanır.

2. 167 U/L Ksantin Oksidaz: Ksantin oksidaz, 2 M amonyum sülfat

((NH₄)₂SO₄) içinde 0,167 U/ml olacak şekilde çözülür.

3. 2 M (NH₄)₂SO₄: 2,64 g amonyum sülfat, bir miktar distile suda çözülüp

toplam hacim 10 ml'ye tamamlanır.

4. Bakır (II) Klorid (CuCl₂, 0,8 mM): Bir miktar distile suda 10,75 mg CuCl₂

çözülüp toplam hacim 100 ml'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

1. Doku örnekleri ve 1/5 oranında sulandırılmış eritrosit hemolizati kloroform/etanol (3/5-V/V) ile eşit hacimde karıştırıldı ve 45 dk boyunca

5,600 rpm devirde santrifüj edilmiştir. SOD aktivite tayininde en üstteki berrak kısım ayrılmıştır.

2. Ardından örnek tüplerine 0,1 ml süpernatant, 2,85 reaksiyon çözeltisi, 0,05 ml ksantin oksidaz eklenmiştir. Kör tüpünde ise süpernatant yerine aynı miktarda deiyonize su eklenmiştir.
3. Tüm örnekler 25°C’de 20 dk süreyle inkübe edilmiştir.
4. Reaksiyonu durdurmak amacıyla tüm tüplere CuCl₂ (1 ml) ilave edilmiştir. Assay Reaktifine karşı örneklerin ve körün absorbensları 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmüştür.

SOD Aktivitesinin Kanda ve Dokuda Hesabı

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Örneğin Absorbansı} - \text{Körün Absorbansı}}{\text{Körün Absorbansı}} \times 100$$

1 Ünite SOD: %50’lik NBT inhibisyonu meydana getiren enzim miktarıdır.

$$\text{U/ml SOD} = \frac{\% \text{ İnhibisyon}}{\%50 \text{ İnhibisyon}} \times \text{Dilüsyon}$$

4.10. Hemoglobin Tayini:

Ferrisiyanür (Fe(CN)₆²⁻), hemoglobindeki demir atomunu Fe²⁺ (demirin +2 değerlik durumu) formundan Fe³⁺ (demirin +3 değerlik durumu) formuna oksitleyerek methemoglobin oluşturur. Bu reaksiyon, hemoglobinin oksijen taşıma kapasitesini kaybetmesine neden olur, çünkü methemoglobin oksijen bağlama yeteneğini kaybetmiştir. Methemoglobin daha sonra potasyum siyanid (KCN) ile reaksiyona girer ve siyanomethemoglobin (MetHb-CN) meydana gelir. Bu bileşik, methemoglobinin siyanür ile bağlanarak stabil bir pigment oluşturduğu bir

bileşiktir. Siyanomethemoglobin'in absorbanası, özellikle 546 nm'de ölçülür (Frankel ve ark., 1970).

Metodun Ayıraçları

- 1- Drabkin Çözeltisi: 200 mg potasyum ferrisiyanid, 1 g sodyum bikarbonat ve 50 mg KCN tartılarak bir miktar distile suda çözülür ve 1 L'ye tamamlanır.
- 2- Standart (Hb için): 18 g liyofilize hemoglobin (Hb) alınıp 100 ml distile su ile çözülür. Bu çözeltinin konsantrasyonu, çözülmüş 18 g hemoglobinin 100 ml suya eklenmesiyle 18 g/dL olur. Yani, her 100 ml çözelti içinde 18 gram hemoglobin bulunmaktadır.

Deneyin Yapılışı:

1. Örnek tüplerine 0,02 ml hemolizat, standart tüpüne aynı miktarda standart çözeltisi, kör tüpünede aynı miktarda distile su eklenmiştir.
2. Tüm tüplere 5 ml drabkin çözeltisi eklendikten sonra tüpler, iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletilmiştir. Ardından, 546 nm'de köre karşı diğer tüplerin absorban değerleri okunmuştur.

Kanda Hb Düzeyinin Hesaplanması

$$\text{Hb (g/dl)} = \frac{\text{Örneğin Absorbansı}}{\text{Standartın Absorbansı}} \times 18$$

4.11. Protein Tayini:

Alkali bakır tartarat reaktifi, peptid bağlarıyla kompleks oluşturur. Her 7 veya 8 amino asit artığı, 1 bakır atomu ile bağlanır. Fenol reaktifi, bakır ile işlenmiş karışıma eklendiğinde mor-mavi bir renk oluşur. Bu rengin yoğunluğu 650 nm dalga boyunda ölçülür. Protein konsantrasyonu ile renk arasındaki ilişki, yüksek

konsantrasyonlarda doğrusal olmadığından, ölçümler yapılmadan önce örnekler sulandırılmıştır (Lowry ve ark., 1951).

Metodun Ayıraçları

1. Alkali Bakır Reaktifi: 10 g sodyum karbonat (Na_2CO_3), 0,10 g potasyum tartarat ve 0,05 g bakır sülfat, 0,5 N sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisinde çözülür ve hacim 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti oda sıcaklığında 30 gün boyunca kullanılabilir.
2. Fenol Reaktifi: 2 N Folin-Ciocalteu-Fenol reaktifinden 3,75 ml alınarak distile su ile 67,50 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltinin örnek sayısına göre günlük olarak hazırlanması gerekir.
3. Okuma Sınırına Getirilmiş (Sulandırılmış) Örnek
4. Protein Standartı: 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ BSA (Bovien Serum Albümini).

Deneyin yapılışı:

1. Tüm deney tüplerine 1 ml alkali bakır ayıracı koyulmuştur.
2. Kör tüpüne 1 ml distile su, örnek tüplerine ise aynı miktarda doku örneği ilave edilmiştir.
3. Tüpler iyice karıştırılıp, 10 dakika oda ısısında bekletilmiştir.
4. Tüm deney tüplerine 4 ml fenol ayıracı eklenmiştir. Tüpler hemen vortekste iyice karıştırılarak ve 55 °C'de 5 dakika bekletilmiştir.
5. İnkubasyon sonrası musluk suyu altında hemen soğutulup 650 nm dalga boyunda örnek tüplerinin absorbansı kör tüpüne karşı okunmuştur.

Dokuda Protein Düzeyinin Hesaplanması

$$\text{Protein (mg/ml)} = \frac{\text{Örneğin Absorbansı}}{\text{Standartın Absorbansı}} \times \text{Standartın Konsantrasyonu} \times \text{Dilüsyon}$$

4.12. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen veriler, ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. İstatistiksel anlamlılık, $p<0,05$ ve $p<0,001$ seviyeleri için değerlendirilmiş ve bu değerler anlamlı kabul edilmiştir. Ölçülen tüm parametrelerin normal dağılıma uyup uymadığını belirlemek için Shapiro-Wilk normallik testi yapılmış ve sonuçlar, tüm parametrelerin normal dağılım gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgulara dayanarak, gruplar arasındaki farklılıkları incelemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ikili karşılaştırmalar için post hoc Tukey testi uygulanmıştır. Tüm istatistiksel analizler, SPSS 22 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

5. BULGULAR

Kan, ovaryum ve uterus dokularındaki MDA ve GSH düzeyleri, KAT, GSH-Px, GST ve SOD gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri hem kontrol hem de deney grupları için Tablo 9-11'de sunulmaktadır. Tablo 12'de FSH, LH, testosteron, kolesterol, insülin ve glikoz ölçümleri verilmektedir.



5.1. Plazma MDA düzeyleri ile Eritrosit GSH düzeyi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Veriler, PKOS grubunun plazma MDA düzeylerinin kontrol grubundakilerden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($p<0,001$). PKOS+maca grubu ile kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı görüldü. PKOS grubu ile karşılaştırıldığında PKOS+maca grubunda MDA düzeylerinin istatistiki olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, PKOS grubunda GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px ve SOD aktiviteleri önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,001$). Kontrol, maca kökü ve CMC grupları arasında tüm parametreler açısından bir fark saptanmamıştır. PKOS grubuyla karşılaştırıldığında, GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px ve SOD aktiviteleri PKOS+maca grubunda daha yüksek bulunmuştur ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,001$). PKOS+maca grubunda, tüm antioksidan parametrelerin değerlerinin kontrol grubu değerlerine yaklaştığı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmüştür (Tablo 9).

Tablo 9. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının plazma MDA ve eritrosit GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px ve SOD aktiviteleri üzerine etkisi

	Kontrol	Maca	CMC	PKOS	PKOS+Maca	P
MDA (nmol/ml)	8,04±0,16 ^{ab}	7,74±0,12 ^{ab}	7,57±0,11 ^a	9,18±0,20 ^c	8,24±0,12 ^b	0,001
GSH (µmol/ml)	50,18±1,31 ^a	51,48±0,77 ^a	51,08±0,46 ^a	45,25±0,92 ^b	49,08±0,60 ^a	≤0,001
KAT (k/g Hb)	55,78±2,67 ^a	55,94±2,14 ^a	54,76±3,18 ^a	34,84±1,05 ^b	53,97±2,05 ^a	<0,001
GSH-Px (U/mg Hb)	320,39±4,94 ^{ab}	305,60±8,13 ^b	341,55±4,82 ^a	253,18±4,18 ^c	308,0±6,57 ^b	<0,001
SOD (U/mg Hb)	77,33±0,27 ^a	77,35±2,56 ^a	77,13±0,30 ^a	74,60±0,08 ^b	76,59±0,24 ^a	<0,001

Aynı satırlarda harflerle (a, b ve c) gösterilen ortalamalar önemli ölçüde farklılık göstermektedir ($p<0,05$).

5.2. Ovaryum MDA, GSH düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Veriler, PKOS grubunun ovaryum MDA düzeylerinin kontrol grubundakilerden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($P \leq 0,001$). PKOS+maca grubu ile kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmüştür. PKOS grubu ile karşılaştırıldığında PKOS+maca grubunda MDA düzeylerinin istatistiki olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, PKOS grubunda GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri önemli ölçüde azalmıştır ($p < 0,001$). Kontrol, maca kökü ve CMC grupları arasında tüm parametreler açısından bir fark saptanmamıştır. PKOS grubuyla karşılaştırıldığında, GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri PKOS+maca grubunda daha yüksek bulunmuş ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. PKOS+maca grubunda GSH-Px hariç diğer tüm antioksidan parametrelerin değerlerinin kontrol grubu değerlerine yaklaştığı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmüştür. GSH-Px aktivitesinin PKOS+maca grubunda PKOS grubundan farklı olduğu ancak istatistiksel olarak kontrol grubu ortalamalarına ulaşmadığı görülmüştür (Tablo 10).

Tablo 10. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının ovaryum dokularındaki MDA ve GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri üzerine etkisi

	Kontrol	Maca	CMC	PKOS	PKOS+Mac a	P
MDA (nmol/g tissue)	0.86±0.05 ^{ab}	0.66±0.04 ^a	0.86±0.05 ^{ab}	1.21±0.06 ^c	0.92±0.07 ^b	≤0.001
GSH (μmol/ml)	2.04±0.06 ^{ab}	0.08±0.05 ^a	2.13±0.05 ^a	1.46±0.06 ^c	1.87±0.02 ^b	<0.001
KAT (k/g prot.)	19.89±0.79 ^a	19.03±1.15 ^a	19.34±1.04 ^a	11.76±1.08 ^b	17.30±0.69 ^a	<0.001
GSH-Px (U/mg prot.)	0.15±0.003 ^a	0.16±0.002 ^a	0.15±0.003 ^a	0.10±0.003 ^c	0.13±0.003 ^b	<0.001
GST (U/mg prot.)	26.97±0.36 ^{ab}	27.37±0.36 ^a	27.07±0.31 ^a	21.46±0.62 ^c	25.39±0.32 ^b	<0.001
SOD (U/mg prot.)	3.15±0.02 ^a	3.14±0.01 ^a	3.14±0.06 ^a	2.85±0.02 ^b	3.09±0.07 ^a	<0.001

Aynı satırlarda harflerle (a, b ve c) gösterilen ortalamalar önemli ölçüde farklılık göstermektedir ($p < 0,05$).

5.3. Uterus MDA, GSH düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Veriler, PKOS grubunun uterus MDA düzeylerinin kontrol grubundakilerden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($P<0,001$). PKOS+maca grubu ile kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı görülmüştür. PKOS grubu ile karşılaştırıldığında PKOS+maca grubunda MDA düzeylerinin istatistiki olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, PKOS grubunda GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,001$). Kontrol, maca kökü ve CMC grupları arasında tüm parametreler açısından bir fark saptanmamıştır. PKOS grubuyla karşılaştırıldığında, GSH düzeyleri ve KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri PKOS+maca grubunda daha yüksek bulunmuş ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,001$). PKOS+maca grubunda GST hariç diğer tüm antioksidan parametrelerin değerlerinin kontrol grubu değerlerine yaklaştığı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise istatistiksel fark olmadığı görülmüştür. GST aktivitesinin PKOS+maca grubunda PKOS grubundan farklı olduğu ancak istatistiksel olarak kontrol grubu ortalamalarına ulaşmadığı görülmüştür (Tablo 11).

Tablo 11. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının uterus dokularındaki MDA ve GSH düzeyleri ile KAT, GSH-Px, GST ve SOD aktiviteleri üzerine etkisi

	Kontrol	Maca	CMC	PKOS	PKOS+Mac a	P
MDA (nmol/g doku)	0,66±0,02 ^a	0,63±0,01 ^a	0,63±0,01 ^a	0,80±0,02 ^b	0,67±0,02 ^a	<0,001
GSH (µmol/ml)	1,76±0,04 ^a	1,92±0,05 ^a	1,88±0,05 ^a	1,27±0,05 ^b	1,78±0,04 ^a	<0,001
KAT (k/g prot.)	24,64±1,35 ^a	22,10±1,0 ^a	20,82±1,46 ^a	14,92±0,88 ^b	21,10±1,17 ^a	<0,001
GSH-Px (U/mg prot.)	0,17±0,01 ^{ab}	0,17±0,01 ^{ab}	0,18±0,01 ^a	0,14±0,01 ^c	0,16±0,01 ^b	<0,001
GST (U/mg prot.)	26,88±0,53 ^a	24,92±0,72 ^{ab}	25,72±0,52 ^{ab}	21,63±0,37 ^c	24,45±0,69 ^b	<0,001
SOD (U/mg prot.)	3,73±0,01 ^a	3,72±0,01 ^a	3,75±0,01 ^a	3,62±0,01 ^b	3,76±0,01 ^a	<0,001

Aynı satırlarda harflerle (a, b ve c) gösterilen ortalamalar önemli ölçüde farklılık göstermektedir ($p<0,05$).

5.4. Serum LH, FSH, Testosteron, Glikoz, İnsülin ve Kolesterol Düzeyleri

PKOS'ta önemli laboratuvar bulguları olan LH, FSH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeylerindeki değişimler değerlendirildiğinde serum LH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeylerinin PKOS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu ($P<0,001$), FSH düzeylerinin ise PKOS grubunda daha düşük olduğu görülmüştür ($P<0,001$). Kontrol, maca kökü ve CMC grupları arasında tüm parametreler açısından bir fark saptanmamıştır. PKOS grubuyla karşılaştırıldığında, FSH düzeylerinin PKOS+maca grubunda istatistiksel olarak daha yüksek olduğu, LH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeylerinin istatistiksel olarak daha düşük olduğu görülmüştür. PKOS+maca grubunda, FSH hariç diğer tüm parametrelerin değerlerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kontrol grubu değerlerine yaklaştığı ve kontrol grubuyla istatistiksel olarak bir farkı olmadığı görülmüştür. PKOS+maca grubunda FSH düzeylerinin PKOS grubundan farklı olduğu ancak istatistiksel olarak kontrol grubu ortalamalarına ulaşmadığı görülmüştür (Tablo 12).

Tablo 12. PKOS'lu ratlarda maca kökü uygulamasının serum LH, FSH, testosteron, glikoz, insülin ve kolesterol düzeyleri üzerine etkisi

	Kontrol	Maca	CMC	PKOS	PKOS+Maca	P
LH (mIU/ml)	2,49±0,04 ^{ab}	2,38±0,06 ^a	2,39±0,06 ^a	3,89±0,18 ^c	2,88±0,08 ^b	<0,001
FSH (mIU/ml)	5,25±0,03 ^a	5,42±0,08 ^a	5,48±0,12 ^a	2,36±0,06 ^c	4,51±0,30 ^b	<0,001
Testosterone (ng/ml)	2,48±0,07 ^a	2,44±0,04 ^a	2,56±0,04 ^a	4,96±0,09 ^b	2,72±0,11 ^a	<0,001
Glikoz (mg/dl)	75,57±1,29 ^a	74,28±1,02 ^a	75,28±1,23 ^a	124,14±5,82 ^b	83,0±3,12 ^a	<0,001
İnsülin (ng/ml)	2,13±0,05 ^a	2,09±0,07 ^a	2,28±0,04 ^a	4,42±0,31 ^b	2,66±0,19 ^a	<0,001
Kolesterol (mg/dl)	77,86±1,42 ^a	75,71±1,15 ^a	77,43±1,32 ^a	106,57±5,03 ^b	81,14±1,83 ^a	<0,001

Aynı satırlarda harflerle (a, b ve c) gösterilen ortalamalar önemli ölçüde farklılık göstermektedir ($p<0,05$).

6. TARTIŞMA

Oksidatif stres çeşitli bakış açılarından değerlendirilebilir, ancak en dikkat çekici ilgi alanlarından biri PKOS'lu hastalarla bağlantısıdır. Çok sayıda çalışma, oksidatif stres seviyelerinin PKOS'lu bireylerde önemli ölçüde yüksek olduğunu ve genellikle birçok ilişkili bozuklukla bağlantılı olduğunu göstermiştir (Cheng ve He, 2022; Gonzalez ve ark., 2012; Sandhu ve ark., 2021). Bu durumlar bağımsız olarak, farklı hastalıkların bir parçası olarak veya kombinasyon halinde ortaya çıkabilir ve bu durum hem tanıyı hem de tedaviyi karmaşıktırabilir. Oksidatif stres bağlamında PKOS'un gelişimi, hücresel organellerdeki bozuklukların yanı sıra moleküler ve biyokimyasal süreçleri de içerebilir. Bu çalışmada, çeşitli biyokimyasal parametreleri analiz ederek maca kökünün deneysel PKOS tarafından indüklenen oksidatif stres üzerindeki potansiyel etkilerini araştırmayı amaçladık.

Anormal oksidatif durum PKOS dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla bağlantılıdır. Oksidatif stres, insülin direncine, aşırı androjen üretimine ve kronik inflamasyona katkıda bulunarak PKOS'un gelişiminde rol oynar. Oksidatif stresin dolaşımdaki temel belirteçleri arasında MDA, asimetrik dimetilarginin (AMDA), SOD, GSH ve paraoksonaz 1 (PON1) bulunur. PKOS'lu kadınlar genellikle bu oksidatif stres biyobelirteçlerinin seviyelerini değiştirir. PKOS'daki toplam serum antioksidan seviyelerindeki dengesizlik, hücresel hasarın artmasına ve koruyucu mekanizmaların azalmasına yol açar (Murri ve ark., 2013).

PKOS gerçekten de çeşitli metabolik ve hormonal bozukluklarla ilişkilidir ve oksidatif stres patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Oksidatif stres, ROT ile vücudun bunları antioksidanlar aracılığıyla nötralize etme yeteneği arasındaki

dengeşizliği ifade eder. Bu dengeşizlik hücreşel hasara, inflamasyona yol açabilir ve insülin direncinin, artan androjen seviyelerinin (testosteron gibi) ve kronik inflamasyonun gelişmesine katkıda bulunabilir - bunların hepsi PKOS'un ayırt edici özellikleridir (Zeber-Lubecka ve ark., 2023).

MDA, bir enol olarak oluşun ve hücrelerde çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) peroksidasyonunun bir yan ürünü olan oldukça reaktif bir bileşiktir. Serbest radikallerin birikmesi aşırı MDA üretimine yol açar. Konsantrasyonu, birçok hastalıkta oksidatif stres ve antioksidan durumunun bir göstergesi olarak hizmet eder. Özellikle, MDA seviyeleri hem PKOS'da hem de obezitede yüksektir (Uçkan ve ark., 2022). Ghowsi ve ark. (2018), PKOS'lu sıçanların karaciğerinde ve serumunda resveratrolün oksidatif stres üzerindeki etkisini incelemişler ve serum MDA seviyelerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu ve resveratrol uygulandığında MDA seviyelerinin daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Aşırı androjen seviyeleri, obezite ve diğer birçok hastalıktan bağımsız olarak oksidatif strese neden olabilir. Hiperandrojenizmin PKOS hastalarında mononükleer hücrelerin erken aktivasyonunu tetikleyebileceği ve diğer koşullardan bağımsız olarak ROT üretiminde bir artışa yol açabileceği öne sürölmüşür (Rojas ve ark., 2014). Bununla birlikte, PKOS'da ROT üretiminin arkasındaki kesin mekanizmalar henüz net değildir. Bazı çalışmalar, NADP oksidazın çeşitli hücrelerde ROT üretiminde rol oynayabileceğini öne sürmektedir (Rojas ve ark., 2014). Mevcut çalışmada, testosteron ve LH düzeylerindeki artış ve FSH düzeylerindeki azalma, ROT artışına bağlı LPO'ndaki artışı desteklemektedir. Ayrıca bu değişiklikler redoks dengesindeki değişiklikler nedeniyle de meydana gelebilir. PKOS'lu ratlarda MDA düzeyleri üzerine mevcut çalışmanın sonuçları, bazı araştırmacıların

PKOS'lu obez olmayan kadınlarda kontrollerle karşılaştırıldığında PKOS'lu ratlarda MDA düzeylerinin arttığını bildirdiği çalışmayla uyumludur (Fenkci ve ark., 2003). Sonuçlarımız, testosteron kaynaklı polikistik overli ratlarda oksidatif stresin varlığını göstermektedir. Birkaç çalışma, insülin direncinin PKOS gelişimine katkıda bulunabileceğini ve oksidatif stresi şiddetlendirebileceğini öne sürmüştür (Moghetti, 2016; Goodarzi ve Korenman, 2003) ve bu çalışmadaki bulgular, özellikle PKOS grubunda insülin düzeyleri ve oksidatif stres biyobelirteçleriyle ilgili olarak bu fikri desteklemektedir.

Pandey ve ark. (2016), ratlarda letrozol kaynaklı PKOS'da oksidatif stresin ve düşük dereceli inflamasyonun etkisini incelemiştir. Antioksidan enzimler KAT ve SOD'nin aktivitelerinde 7. günde bir azalma, ardından 15. ve 21. günlerde bir artış gözlemlenildi. Bunun yanı sıra LPO ve testosteron seviyelerinde bir artış bulunmuştur. KAT ve SOD'un 7. gündeki verileri bulgularımızla tutarlı olsa da, 21. gündeki verilerde bir fark vardır. Araştırmacılar, oksidatif stres ve inflamatuvar belirteçlerdeki artışın letrozol ile oluşturulan hayvan modelinde PKOS gelişiminin nispeten erken bir döneminde meydana geldiğini öne sürmüşlerdir. Mevcut çalışmada ve diğer birçok çalışmada, değişikliklerin 21. günde belirgin olduğu bulundu (Jahan ve ark., 2018; Reddy ve ark., 2016; Yildirim ve ark., 2010). Hassan ve ark. (2019) PKOS hastalarında KAT enzim aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığını ve MDA seviyelerinin arttığını buldular. Huang ve Zhang (2021), luteolinin ratlarda insülin direncini ve oksidatif stresi çözerek PKOS'nu hafiflettiğini göstermiş ve çalışmamızda aktiviteleri belirlenen SOD, GSH-Px, KAT ve GSH gibi antioksidanların seviyelerinin azaldığını belirlemiştir. Uçkan ve ark. (2022), antioksidan bir enzim olan GST aktivitesinin PKOS hasta grubunda

azaldığını bulmuş ve bu azalmanın ROT ile mücadelede kullanılmasından kaynaklandığını düşünmüştür.

PKOS, potansiyel olarak hidroksil ($\text{OH}\cdot$) radikalleri tarafından başlatılan oksidatif hasarla ilişkilidir. GSH ve GST, dokuları PKOS'un zararlı etkilerinden korumada hayati roller oynar. GSH, doğrudan etkileşime girer veya ROS'un etkileşimine benzer şekilde -SH grubunu kullanarak bir kofaktör/koenzim görevi görür. Biyolojik zarlar özellikle peroksidasyona karşı hassas olduğundan, GSH temel koruyucu faydalar sağlar (Kaya ve ark., 2019). Mevcut çalışmada, GST aktivitesinde bir azalma gözlemlenmiştir, bu muhtemelen PKOS ilerlemesi sırasında oluşan ROT'ne karşı koymada artan kullanımını yansıtmaktadır. Dahası, PKOS grubunda KAT aktivitesi azalmıştır, bu da yumurtalık toksisitesinin göstergesi sayılabilir. Azalmış KAT aktivitesi, H_2O_2 'den $\text{OH}\cdot$ oluşumunu kolaylaştırarak oksidatif stresi şiddetlendirir. Bu azalma, muhtemelen yumurtalık dokusunda yükselen oksidatif stres seviyelerine adaptif bir yanıt olarak bozulmuş antioksidan savunmalardan kaynaklanabilir. ROT'ne karşı erken bir savunma olan antioksidan enzim GSH-Px, PKOS'tan etkilenen gruplarda azalmış aktivite göstermiş ve buna substratı GSH'de bir düşüş eşlik etmiştir. Azalmış GSH-Px aktivitesinin ana nedeni, ROS nedeniyle enzimatik fonksiyonun inhibisyonudur. Dahası, ROS'un proteinlere bağlanması yapısal değişikliklere ve oksidasyona yol açabilir ve PKOS tarafından indüklenen oksidatif stres bağlamında enzimatik aktiviteyi daha da azaltabilir (Kaya ve ark., 2019). PKOS, üreme çağındaki kadınlarda yaygın görülen bir endokrin bozukluktur ve sıklıkla hiperandrojenizm, polikistik overler, kronik anovülasyon ve metabolik bozukluklarla karakterizedir. PKOS'lu kadınlarda hormonal dengesizlikler çeşitli patolojik semptomlara yol açar.

İnsülin, büyüme hormonu (GH), grelin, LEAP-2, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), LH, FSH, testosteron ve östrojenler dahil olmak üzere çeşitli hormonların bu kadınlarda anormal olduğu bulunmuştur. Bu hormonal düzensizlikler, PKOS hastalarında insülin direnci, diyabet, obezite, kısırlık ve düzensiz adet döngüleri gibi metabolik sorunlarla bağlantılıdır (Yang ve Chen, 2024). Birçok çalışma, LH, FSH, insülin, glikoz, kolesterol ve testosteron gibi hormon ve biyobelirteç seviyelerinde değişiklikler göstermiştir (Huang ve Zhang, 2021; Jahan ve ark., 2018; Moghetti, 2016; Pandey ve ark., 2016; Reddy ve ark., 2016). Genel olarak PKOS'lu bireylerde endokrinopatiye bağlı olarak yumurtlamayı başlatan ve korpus luteumun büyümesini sağlayan LH hormonu düzeylerinde artış, over foliküllerinin olgunlaşmasını sağlayan FSH düzeylerinde azalma, androjen olan testosteron düzeylerinde artış, insülin, glikoz ve kolesterol düzeylerinde artışlar, yine endokrinopatinin doğrudan veya dolaylı bir sonucu olarak belirlenmiştir. Mevcut çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuş olup, bu değişikliklerin hiperandrojenizm, polikistik overler, kronik anovülasyon ve metabolik bozukluklar sonucu meydana geldiği belirtilmiştir. PKOS'lu sıçanlarda over dokusunun histopatolojik yapısındaki değişiklikleri vurgulayan çalışmalarda kistik ve atretik folikül sayısının arttığı (Gozukara ve ark., 2016; Jahan ve ark., 2018), bir başka çalışmada ise PKOS oluşturulan grupta kontrol grubuna göre primordial ve primer foliküllerin ve korpus luteumun ortalama sayısında hafif bir azalma olduğu bulunmuştur (Jahan ve ark., 2018). Mevcut çalışmada, kistik folikül sayısı PKOS ve PKOS+maca gruplarında daha yüksek olmasına rağmen, korpus luteum sayısının PKOS+maca grubunda PKOS grubuna göre daha yüksek olması ve kontrol grubu değerlerine yaklaşması, sağlıklı cinsel gelişim için gerekli ortamın yeniden sağlandığını göstermektedir.

Maca, Hausa'da yaygın olarak 'Gadaliyar Albasar Tamoji' olarak bilinen ve Yaroba Langaage'nin 'Isu baka' dediği bir afrodizyak bitki olarak kabul edilir. Maca bir adaptojendir, yani vücudun strese uyum sağlamasına yardımcı olur. Maca, vücudun uygun hormon seviyelerini üretmesine yardımcı olan bitki sterolleri içerir (Govier ve ark., 1995). Geleneksel ve bilimsel olarak maca bitkisinin insanlarda ve hayvanlarda doğurganlığı artırabileceği kanıtlanmıştır, çünkü kanıtlar maca bitkisinin erkeklerde libidoyu ve sperm sayısını artırabileceğini (Gonzales ve ark., 2001) ve hayvanlarda menopoz sonrası kadınlarda cinsel işlev bozukluğunu azaltabileceğini (Lee ve ark., 2011) ve muhtemelen kadın doğurganlığını artırabileceğini göstermektedir (Bower-Cargill ve ark., 2022; Dording ve ark., 2015). Tam etki mekanizması bilinmemekle birlikte, daha ileri çalışmalar bu konuya ışık tutacaktır.

Bu çalışmanın yürütüldüğü zaman dilimini göz önünde bulundurarak, PKOS'lu sıçanlarda bizimkine benzer deneysel kurulumlara sahip çok sınırlı sayıda çalışmanın olması, çalışmanın özgünlüğünü artırdığını göstermektedir. Maca kökü uygulamalarına ilişkin çalışmalar incelendiğinde, çoğu erkek üreme sistemleri üzerindeki etkilere odaklanmıştır (Ali Amin ve ark., 2024; Dording ve ark., 2015; Gonzales ve ark., 2001). Buna karşılık, günümüzde önemli bir sorun olan ve doğurganlığı önemli ölçüde etkileyen PKOS üzerindeki etkilerini kadınlarda incelemeyi seçtik.

Günümüzde PKOS, birincil tedavi düzeyinde nafarelin, troglitazon, klomifen, metformin ve spironolakton gibi bir dizi allopatik ilaçla tedavi edilmektedir. Ancak bu ilaçların uzun süreli kullanımı adet düzensizlikleri, mide bulantısı, kusma,

gastrointestinal rahatsızlıklar, kilo alımı, insülin direnci ve diğer kontrendikasyonlar gibi ciddi sonuçlara yol açabilir. Tüm bu komplikasyonlar nedeniyle, insanlar artık mevcut allopatik ilaçlardan çok daha etkili olan bitkisel ilaçlar, yoga terapileri, yaşam tarzı değişiklikleri ve naturopati dahil olmak üzere doğal tedaviye yöneliyor. Bitkisel tedavilerin önleme, tedavi ve rehabilitasyonda önemli bir rolü vardır. Ancak, mevcut tedavilerin maliyetini, süresini ve yan etkilerini azaltmak için yukarıda belirtilen değişkenlere dayanarak çok yözlü formülasyonlar da geliştirilebilir (Balkrishna ve ark., 2023).

Genel olarak, tat, koku veya tıbbi amaçlar için kullanılan bir bitki, onun bir parçası veya özütü, ticarete sıklıkla kullanılır ve karşımıza çıkar. Geleneksel bitkisel ilaçlar, doğal olarak oluşan ve çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılmadan önce çok az veya hiç endüstriyel işleme tabi tutulmamış bileşiklerdir. Ek olarak, bitkisel tedaviler küresel sağlık hakkındaki tartışmalarda çok fazla ilgi görmektedir. Benzer şekilde, bitkisel ilaçlar, vücut üzerindeki genel olarak daha hafif etkileri ve diğer ilaçlardan daha az yan etkisi nedeniyle PKOS için de çok faydalı bir terapötik seçenek olabilir. Bitkisel terapinin normal terapiye göre avantajı, daha az riskli olması, daha az komplikasyona sahip olması ve tıbbi bitkilerde birçok aktif kimyasalın varlığı nedeniyle güçlendirici bir etkiye sahip olmasıdır (Balkrishna ve ark., 2023).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmaya benzer düzenekte hazırlanmış az sayıdaki çalışmalardan birinde, Ozioko ve ark., (2022), PKOS'nun doğurganlık çağındaki kadınlarda kısırlığa neden olduğunu, PKOS olan hastaların, oldukça travmatik ve ağrılı olan çeşitli tıbbi prosedürler de dahil olmak üzere yıllarca seri ilaç almanın

stresinden geçtiklerini belirtip dişi wistar albino ratlarda PKOS neden olduğu kısırlılığın tedavisinde içlerinde maca kökünün de olduğu beş tıbbi bitkinin doğurganlık potansiyellerini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında mevcut çalışma modeliyle benzer şekilde PKOS oluşturmak amacıyla 21 gün boyunca 1 mg/kg letrozol uygulaması yapmışlardır. 100 ve 300 mg/kg/gün dozlarında 15 gün süre ile iki farklı dozda *Lepidium meyenii* uygulaması yapmışlardır. L. meyenii'nin PKOS grubunda testosteron seviyesini düşürerek artan androjen seviyesi ve hirsitizm üzerinde etkili bir kontrol gösterdiği gösterilmiştir. Ayrıca HDL, trigliserid, kolesterol, progesteron östradiol, testosteron ve LH düzeylerinde de düzenleyici etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Ali Amin ve ark. (2024), obez diyabetli erkek sıçanlarda maca kökü özütünün sperm durumunun iyileştirilmesi üzerindeki etkisini incelemiş ve maca uygulamasından sonra azalan KAT aktivitelerinin dozla orantılı olarak arttığını ve artan lipid peroksidasyon (MDA) seviyelerini azalttığını bulmuşlardır. Ayrıca, çalışmamızda vurgulamaya çalıştığımız seks hormonu (Testosteron, FSH, LH), glikoz ve kolesterol seviyelerinde iyileşme sağladığını da vurgulamışlardır. Araştırmacılar, maca bitkisinin bunu oksidan ve antioksidan durum arasındaki dengeyi koruyarak başardığını düşünmüşlerdir. Sıçan ve farelerde çeşitli dozlarda maca veya antioksidan bileşikler kullanıldığında, stres faktörlerine karşı bazı etkiler meydana geldi. Özellikle serum, karaciğer ve beyindeki GSH-Px, SOD ve GSH seviyeleri artarken, MDA ve ROS azaldı (Ai ve ark., 2014; Onaolapo ve ark., 2018). Qui ve ark. (2016), macanın kan ve karaciğerdeki antioksidan enzim (KAT, SOD, GSH-Px) aktivitesini, maca aktif bileşenleri makaid ve makaene'den bağımsız olarak iyileştirdiğini ve antioksidan etki ile bu biyoaktif bileşikler arasında bir

korelasyon olmadığını savunmaktadır. Mevcut çalışmada, maca kökü uygulamasından sonra artan lipid peroksidasyon seviyelerinin azaldığı, azalan antioksidan parametrelerin arttığı bulunmuştur. Miktarlar değişebilmesine rağmen, maca fenoller, glukozinolatlar, alkilamidler ve polisakkaritler dahil olmak üzere birkaç önemli antioksidan bileşik içerir. Bu bileşiklerin çeşitli metabolik fonksiyonlara ve antioksidan etkilere sahip olduğu bilimsel çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada gözlemlenen değişikliklerin, başlıca, ferrik indirgeyici antioksidan potansiyeli (FRAP), hidroksil radikal temizleme yeteneği (HRSA), lipid peroksidasyon inhibisyon yeteneği (LPIA), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) dahil olmak üzere biyoaktif bileşiklerin radikal temizleme özelliklerinden kaynaklandığını ileri sürüyoruz.

Rat ve farelerde çeşitli dozlarda maca veya antioksidan bileşikleri kullanıldığında stres faktörlerine karşı bazı etkiler meydana gelmiştir. Özellikle serum, karaciğer ve beyindeki GPx, SOD ve glutatyon (GSH) düzeyleri artmakta, MDA ve ROS (reaktif oksijen türleri) azalmaktadır (Ali Amin ve ark., 2024; Bower-Cargill ve ark., 2022. Choi ve ark. (2012), macanın lipitte çözünen özütünün 7,8 mg/g DM makamid ve macaen içerdiğini, maca tozunun ise 0,3-0,4 mg/g DM düzeyinde içerdiğini belirlemiştir. Bu lipide çözünen özüt günde 100 mg/kg vücut ağırlığı olarak verildiğinde, sıçanların kaslarındaki lipid peroksidasyonunu azaltır, GSH'yi ve egzersiz süresini artırır. Benzer şekilde, macadan izole edilen macamidler (N-benzilinoamid, N-benziloleamid, N-benziloleamid), egzersizle indüklenen oksidatif stresi azaltır ve serumdaki atık ürünleri ortadan kaldırır [31].

Maca, hipotalamus ve hipofiz bezlerinin optimum şekilde çalışmasını destekleyerek tüm endokrin bezlerinin işlevini iyileştirir. Farelerde ve sıçanlarda maca tüketiminin progesteron seviyelerinde artışla dişi doğurganlığını artırabileceği gösterilmiştir (Oshima ve ark., 2003). Başka bir çalışmada, Ruiz-Lina ve ark. (2005), maca ile tedavi edilen grupta gebelik oranının, daha fazla sayıda yavrunun ve doğum sonrası hayatta kalma oranının artırılabilceğini vurgulamıştır. FSH, östradiol ve progesteron üzerinde dengeli etkiler kaydedilmiştir. Meissner ve ark. (2006), maca tozu uygulamasının 4. haftada estradiol ve progesteron seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir. Diğer araştırmacılar, bunun farelerde uterus ayrılmasında artışa neden olabileceğini göstermiştir (Ruiz-Lina ve ark., 2005). Mevcut çalışmada, 7 gün boyunca 2 g/kg vücut ağırlığı dozunda uygulanan maca kökünün PKOS sıçanlarında hem oksidatif stresle ilişkili parametreleri hem de LH, FSH, testosteron insülin, glikoz ve kolesterol gibi biyobelirteçleri iyileştirdiği gözlemlenmiştir.

Sonuçlarımız, maca kökünün PKOS ile ilişkili metabolik ve endokrin komorbiditeleri ele alabilen güçlü bir flavonoid antioksidan olduğunu göstermektedir. Maca kökü, lipid profili, hormonal seviyeler ve glikoz metabolizması üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. Ek olarak, yumurtalık kistlerini onarmaya, sağlıklı folikülleri desteklemeye ve foliküllerin yapısını geri kazandırmaya yardımcı olan güçlü antioksidan özellikler sergilemiştir. Yumurtalık fonksiyonunun restorasyonu ve maca kökünün anti-androjenik etkileri, PKOS için yararlı bir tedavi seçeneği sağlayabilir. Aynı zamanda insanlarda en sık görülen üreme sorunlarından biri olan PKOS'a karşı maca kullanımına yönelik yapılacak çalışmalar için bir ön çalışma da olabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abuelezz, N. Z., Shabana, M. E., Abdel-Mageed, H. M., Rashed, L., & Morcos, G. N. (2020). Nanocurcumin alleviates insulin resistance and pancreatic deficits in polycystic ovary syndrome rats: Insights on PI3K/AkT/mTOR and TNF- α modulations. *Life sciences*, 256, 118003. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118003>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In *Methods in enzymology*, 105, 121-126). Academic press.
- Ai, Z., Cheng, A. F., Yu, Y. T., Yu, L. J., & Jin, W. (2014). Antidepressant-like behavioral, anatomical, and biochemical effects of petroleum ether extract from maca (*Lepidium meyenii*) in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Journal of medicinal food*, 17(5), 535-542. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.2950>
- Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1, 57-63.
- Alberti, K. G. M., Zimmet, P., & Shaw, J. (2005). The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *The Lancet*, 366(9491), 1059-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67402-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67402-8)
- Ali Amin, A., Mohammed Rabeh, N., & Saad Obid, A. (2024). The Use of Maca (*Lepidium meyenii*) to Improve Semen Quality in Diabetic Obese Male Rats. *Homo Econ. J.*, 40(4), 1-16. <https://doi.org/10.21608/jhe.2024.390715>
- Ali, A., Paramanya, A., Poojari, P., Arslan-Acaroz, D., Acaroz, U., & Kostić, A. Ž. (2023). The utilization of bee products as a holistic approach to managing polycystic ovarian syndrome-related infertility. *Nutrients*, 15(5), 1165. <https://doi.org/10.3390/nu15051165>
- Andrade, V. H. L. D., MATA, A., Borges, R. S., Costa-Silva, D. R., Martins, L. M., Ferreira, P. M. P., Cunha-Nunes, L. C. & Silva, B. B. D. (2016). Current aspects of polycystic ovary syndrome: A literature review. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 62, 867-871. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.62.09.867>
- Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 75(2), 199-212. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9>
- Bahmani, M., Shokri, S., Akhtar, Z. N., Abbaszadeh, S., & Manouchehri, A. (2022). The effect of pomegranate seed oil on human health, especially epidemiology of polycystic ovary syndrome; a systematic review. *JBRA assisted reproduction*, 26(4), 631. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210121>
- Bahreiny, S. S., Ahangarpour, A., Saki, N., Dabbagh, M. R., Ebrahimi, R., Mahdizade, A. H., ... & Aghaei, M. (2024). Association of free radical product and polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-

- analysis. *Reproductive Sciences*, 31(6), 1486-1495. 10.1007/s43032-023-01447-x
- Balkrishna, A., Rana, M., Mishra, S., Srivastava, D., Bhardwaj, R., Singh, S., ... & Arya, V. (2023). Incredible combination of lifestyle modification and herbal remedies for polycystic ovarian syndrome management. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023(1), 3705508. <https://doi.org/10.1155/2023/3705508>
- Bendich, A., Machlin, L. J., Scandurra, O., Burton, G. W., & Wayner, D. D. M. (1986). The antioxidant role of vitamin C. *Advances in Free Radical Biology & Medicine*, 2(2), 419-444.
- Beutler, E. (1984). Red cell metabolism, A manual of Biochemical Methods, Grune and Starton. Inc. Orlando, FL, 32887, 248-251.
- Bower-Cargill, C., Yarandi, N., & Petróczi, A. (2022). A systematic review of the versatile effects of the Peruvian Maca Root (*Lepidium meyenii*) on sexual dysfunction, menopausal symptoms and related conditions. *Phytomedicine Plus*, 2(4), 100326. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100326>
- Bower-Cargill, C., Yarandi, N., & Petróczi, A. (2022). A systematic review of the versatile effects of the Peruvian Maca Root (*Lepidium meyenii*) on sexual dysfunction, menopausal symptoms and related conditions. *Phytomedicine Plus*, 2(4), 100326. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100326>
- Catteau-Jonard, S., Bancquart, J., Poncelet, E., Lefebvre-Maunoury, C., Robin, G., & Dewailly, D. (2012). Polycystic ovaries at ultrasound: normal variant or silent polycystic ovary syndrome?. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 40(2), 223-229. <https://doi.org/10.1002/uog.11202>.
- Changaei, M., Javidan, M., Ramezani Tehrani, F., Mosaffa, N., Noroozzadeh, M., Hosseinzadeh, R., & Rajaei, S. (2023). Reduced expression of Il10, Stat3, Hoxa10, and Itgb3 in the embryo implantation site of rat model with prenatal androgen-induced polycystic ovary syndrome. *American Journal of Reproductive Immunology*, 90(1), e13702. <https://doi.org/10.1111/aji.13702>
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49(3), 481-493.
- Chen, J., Xia, C., Zhu, Y., & Bai, F. (2016). Nutritional compositions of maca grown in Ebian and HPLC fingerprints of macaene and macamide. *Agricultural Science & Technology*, 17(4), 947.
- Cheng, X., & He, B. (2022). Clinical and biochemical potential of antioxidants in treating polycystic ovary syndrome. *International Journal of Women's Health*, 467-479. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S345853>.
- Choi, E. H., Kang, J. I., Cho, J. Y., Lee, S. H., Kim, T. S., Yeo, I. H., & Chun, H. S. (2012). Supplementation of standardized lipid-soluble extract from maca (*Lepidium meyenii*) increases swimming endurance capacity in rats. *Journal of Functional Foods*, 4(2), 568-573.

- Cooney, L. G., & Dokras, A. (2017). Depression and anxiety in polycystic ovary syndrome: etiology and treatment. *Current psychiatry reports*, 19, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11920-017-0834-2>.
- Cuentas, R., De la Cruz, L., Hernández, G., Mateo, I., & Castañeda, C. (2008). Evaluación del efecto antioxidante de hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, "maca". *Horizonte Médico*, 8(1), 45-55.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., & Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1102-1115. <https://doi.org/10.3109/10715762.2011.653969>.
- Dording, C. M., Schettler, P. J., Dalton, E. D., Parkin, S. R., Walker, R. S., Fehling, K. B., Fava, M. & Mischoulon, D. (2015). A double-blind placebo-controlled trial of maca root as treatment for antidepressant-induced sexual dysfunction in women. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 949036. <https://doi.org/10.1155/2015/949036>.
- Duică, F., Dănilă, C. A., Boboc, A. E., Antoniadis, P., Condrat, C. E., Onciul, S., Suciu, N., Crețoiu, S. M., Varlas, V. N. & Crețoiu, D. (2021). Impact of increased oxidative stress on cardiovascular diseases in women with polycystic ovary syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 614679. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.614679>
- Dumesic, D. A., & Lobo, R. A. (2013). Cancer risk and PCOS. *Steroids*, 78(8), 782-785. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2013.04.004>
- Dumesic, D. A., Oberfield, S. E., Stener-Victorin, E., Marshall, J. C., Laven, J. S., & Legro, R. S. (2015). Scientific statement on the diagnostic criteria, epidemiology, pathophysiology, and molecular genetics of polycystic ovary syndrome. *Endocrine reviews*, 36(5), 487-525. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1018>
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- ESHRE, T. R., & ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. (2004). Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility*, 81(1), 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.10.004>
- Farkas, J., Rigó, A., & Demetrovics, Z. (2014). Psychological aspects of the polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, 30(2), 95-99. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.852530>
- Fenkci, V., Fenkci, S., Yilmazer, M., & Serteser, M. (2003). Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. *Fertility and sterility*, 80(1), 123-127. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)00571-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)00571-5)

- Frankel SS, Reitman S, Sonnenwirth AC. (1970). Grandwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. In: Reading CA, Glynn LE (Editors). 7th Edition, The C. V. Mosby Company, St Louis, USA.: 403-404.
- Fujii, J., Homma, T., & Osaki, T. (2022). Superoxide radicals in the execution of cell death. *Antioxidants*, 11(3), 501. <https://doi.org/10.3390/antiox11030501>
- García-Sáenz, M. R., Lobaton-Ginsberg, M., Ramírez-Rentería, C., López-Juárez, N., Saucedo, R., Valencia-Ortega, J., & Ferreira-Hermosillo, A. (2023). Hirsutism and polycystic ovarian morphology are the most frequent components of polycystic ovary syndrome in women with type 1 diabetes. *Archives of Medical Research*, 54(7), 102895. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2023.102895>.
- Ghowasi, M., Khazali, H., & Sisakhtnezhad, S. (2018). The effect of resveratrol on oxidative stress in the liver and serum of a rat model of polycystic ovary syndrome: An experimental study. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 16(3), 149.
- Gill, S. S., Anjum, N. A., Hasanuzzaman, M., Gill, R., Trivedi, D. K., Ahmad, I., Pereira, E. & Tuteja, N. (2013). Glutathione and glutathione reductase: a boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 204-212. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.032>
- Gimenez-Peralta, I., Lilue, M., Mendoza, N., Tesarik, J., & Mazheika, M. (2022). Application of a new ultrasound criterion for the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 915245. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.915245>
- Goetz, M. E., & Gerlach, M. (2004). Formation of radicals. In *Brain Damage and Repair: From Molecular Research to Clinical Therapy* (pp. 135-164). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Gonzales, G. F., Cordova, A., Gonzales, C., Chung, A., Vega, K., & Villena, A. (2001). *Lepidium meyenii* (Maca) improved semen parameters in adult men. *Asian journal of andrology*, 3(4), 301-304.
- Gonzales, G. F., Nieto, J., Rubio, J., & Gasco, M. (2006). Effect of Black maca (*Lepidium meyenii*) on one spermatogenic cycle in rats. *Andrologia*, 38(5), 166-172.
- Gonzales-Arimborgo, C., Yupanqui, I., Montero, E., Alarcón-Yaquetto, D. E., Zevallos-Concha, A., Caballero, L., **Gasco, M., Zhao, J., Khan, I. A.** & Gonzales, G. F. (2016). Acceptability, safety, and efficacy of oral administration of extracts of black or red maca (*Lepidium meyenii*) in adult human subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Pharmaceuticals*, 9(3), 49. <https://doi.org/10.3390/ph9030049>
- Gonzalez, F., Sia, C. L., Shepard, M. K., Rote, N. S., & Minium, J. (2012). Hyperglycemia-induced oxidative stress is independent of excess abdominal

- adiposity in normal-weight women with polycystic ovary syndrome. *Human reproduction*, 27(12), 3560-3568. <https://doi.org/10.1093/humrep/des320>.
- Goodarzi, M. O., & Korenman, S. G. (2003). The importance of insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility*, 80(2), 255-258. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(03\)00734-9](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(03)00734-9)
- Goswami, P. K., Khale, A., & Ogale, S. (2012). Natural remedies for polycystic ovarian syndrome (PCOS): a review. *Int J Pharm Phytopharmacol Res*, 1(6), 396-402.
- Govier, F. E., Asase, D., Hefty, T. R., McClure, D. R., Pritchett, T. R., & Weissman, R. M. (1995). Timing of penile color flow duplex ultrasonography using a triple drug mixture. *The Journal of urology*, 153(5), 1472-1475.
- Gozukara, I., Dokuyucu, R., Özgür, T., Özcan, O., Pınar, N., Kurt, R. K., Kabil Kucur, S. & Dolapcioglu, K. (2016). Histopathologic and metabolic effect of ursodeoxycholic acid treatment on PCOS rat model. *Gynecological Endocrinology*, 32(6), 492-497. <https://doi.org/10.3109/09513590.2015.1134478>
- Gözükara, İ., Uludağ, E. Ü., Kucur, S. K., Yılmaz, H., & Çarlıoğlu, A. (2013). Polikistik over sendromlu hastalarda lipid parametrelerinin ve ailede diabetes mellitus sıklığının değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, 40(3), 414-417. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2013.03.0300>
- Grundy, S. M., Becker, D., Clark, L. T., Cooper, R. S., Denke, M. A., Howard, J., Hunninghake, D. B., Illingworth, D. R., Luepker, R. V., McBride, P., McKenney, J. M., Pasternak, R. C., Stone, N. J. & Van Horn, L. (2002). Detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Circulation*, 106(25), 3143-3421.
- Gyliene, A., Straksyte, V., & Zaboriene, I. (2022). Value of ultrasonography parameters in diagnosing polycystic ovary syndrome. *Open Medicine*, 17(1), 1114-1122. <https://doi.org/10.1515/med-2022-0505>
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265. [10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x](https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x)
- Han, T. S., & Lean, M. E. (2015). Metabolic syndrome. *Medicine*, 43(2), 80-87.
- Haoula, Z., Salman, M., & Atiomo, W. (2012). Evaluating the association between endometrial cancer and polycystic ovary syndrome. *Human reproduction*, 27(5), 1327-1331. <https://doi.org/10.1093/humrep/des042>
- Hassan, R. J., & Al-Husseini, A. M. H. (2019, September). Estimation of catalase activity and Malondialdehyde levels in blood groups ABO of PCOS patients. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1294, No. 6, p. 062100). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1294/6/062100>

- Himelein, M. J., & Thatcher, S. S. (2006). Polycystic ovary syndrome and mental health: a review. *Obstetrical & gynecological survey*, 61(11), 723-732. <https://doi.org/10.1097/01.ogx.0000243772.33357.84>
- <http://www.slideshare.net/rawanayman/oxidative-stress-and-disease-45205741>, 12.12.2024
- Huang, Y., & Zhang, X. (2021). Luteolin alleviates polycystic ovary syndrome in rats by resolving insulin resistance and oxidative stress. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 320(6), E1085-E1092. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00034.2021>.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293. 10.1016/j.ajme.2017.09.001
- Inoue, N., Farfan, C., & Gonzales, G. F. (2016). Effect of butanolic fraction of yellow and black maca (*Lepidium meyenii*) on the sperm count of adult mice. *Andrologia*, 48(8), 915-921. <https://doi.org/10.1111/and.12679>
- Jahan, S., Abid, A., Khalid, S., Afsar, T., Shaheen, G., Almajwal, A., & Razak, S. (2018). Therapeutic potentials of Quercetin in management of polycystic ovarian syndrome using Letrozole induced rat model: a histological and a biochemical study. *Journal of ovarian research*, 11, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13048-018-0400-5>.
- Javid-Naderi, M. J., Mahmoudi, A., Kesharwani, P., Jamialahmadi, T., & Sahebkar, A. (2023). Recent advances of nanotechnology in the treatment and diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 79, 104014. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.104014>
- Ji, S. Y., Liu, X. M., Li, B. T., Zhang, Y. L., Liu, H. B., Zhang, Y. C., Chen, Z. C., Liu, J. & Fan, H. Y. (2017). The polycystic ovary syndrome-associated gene Yap1 is regulated by gonadotropins and sex steroid hormones in hyperandrogenism-induced oligo-ovulation in mouse. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, 23(10), 698-707. 10.1093/molehr/gax046
- Kandaraki, E., Christakou, C., & Diamanti-Kandarakis, E. (2009). Metabolic syndrome and polycystic ovary syndrome and vice versa. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 53, 227-237. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302009000200014>
- Kaya, E., Yilmaz, S., & Ceribasi, S. (2019). Protective role of propolis on low and high dose furan-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Journal of Veterinary Research*, 63(3), 423-431. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0054>
- Kim, J. H., Kim, O., Jung, H., Pang, Y., & Dan, H. (2022). Body mass index, menstruation, acne, and hirsutism of polycystic ovary syndrome in women:

- A cross-sectional study. *Health Care for Women International*, 43(1-3), 85-97. <https://doi.org/10.1080/07399332.2021.1939348>
- Knochenhauer, E. S., Key, T. J., Kahsar-Miller, M., Waggoner, W., Boots, L. R., & Azziz, R. (1998). Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(9), 3078-3082. <https://doi.org/10.1210/jcem.83.9.5090>
- Krinsky, N. I. (2001). Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*, 17(10), 815-817. doi: [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(01\)00651-7](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(01)00651-7).
- Lauretta, R., Lanzolla, G., Vici, P., Mariani, L., Moretti, C., & Appetecchia, M. (2016). Insulin-Sensitizers, Polycystic Ovary Syndrome and Gynaecological Cancer Risk. *International journal of endocrinology*, 2016(1), 8671762. <https://doi.org/10.1155/2016/8671762>
- Lee, K. J., Dabrowski, K., Rinchar, J., Gomez, C., Guz, L., & Vilchez, C. (2004). Supplementation of maca (*Lepidium meyenii*) tuber meal in diets improves growth rate and survival of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) alevins and juveniles. *Aquaculture Research*, 35(3), 215-223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01022.x>
- Lee, M. S., Shin, B. C., Yang, E. J., Lim, H. J., & Ernst, E. (2011). Maca (*Lepidium meyenii*) for treatment of menopausal symptoms: a systematic review. *Maturitas*, 70(3), 227-233. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2011.07.017>
- Lee, Y. K., & Chang, Y. H. (2019). Physicochemical and antioxidant properties of methanol extract from Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) leaves and roots. *Food Science and Technology*, 39, 278-286. <https://doi.org/10.1590/fst.03818>
- Li, J., Sun, Q., Meng, Q., Wang, L., Xiong, W., & Zhang, L. (2017). Anti-fatigue activity of polysaccharide fractions from *Lepidium meyenii* Walp.(maca). *International journal of biological macromolecules*, 95, 1305-1311. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.031>
- Li, N., Yang, C., Xie, H., Liu, Y., & Liao, Y. (2021). Effects of aerobic exercise on rats with hyperandrogenic polycystic ovarian syndrome. *International Journal of Endocrinology*, 2021(1), 5561980. <https://doi.org/10.1155/2021/5561980>
- Liu, Q., Xie, Y. J., Qu, L. H., Zhang, M. X., & Mo, Z. C. (2019). Dyslipidemia involvement in the development of polycystic ovary syndrome. *Taiwanese journal of obstetrics and gynecology*, 58(4), 447-453. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2019.05.003>
- Liu, Y., Yu, Z., Zhao, S., Cheng, L., Man, Y., Gao, X., & Zhao, H. (2021). Oxidative stress markers in the follicular fluid of patients with polycystic ovary syndrome correlate with a decrease in embryo quality. *Journal of*

Assisted Reproduction and Genetics, 38, 471-477.
<https://doi.org/10.1007/s10815-020-02014-y>

- Livadas, S., & Diamanti-Kandarakis, E. (2013). Polycystic ovary syndrome: definitions, phenotypes and diagnostic approach. *Polycystic Ovary Syndrome*, 40, 1-21. <https://doi.org/10.1159/000341673>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J biol Chem*, 193(1), 265-275.
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164-175. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>
- Macut, D., Bjekić-Macut, J., Rahelić, D., & Doknić, M. (2017). Insulin and the polycystic ovary syndrome. *Diabetes research and clinical practice*, 130, 163-170. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.06.011>
- Mahmoud, A. A., Elfiky, A. M., & Abo-Zeid, F. S. (2022). The anti-androgenic effect of quercetin on hyperandrogenism and ovarian dysfunction induced in a dehydroepiandrosterone rat model of polycystic ovary syndrome. *Steroids*, 177, 108936. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2021.108936>
- Matalliotakis, I., Kourtis, A., Koukoura, O., & Panidis, D. (2006). Polycystic ovary syndrome: etiology and pathogenesis. *Archives of gynecology and obstetrics*, 274, 187-197. <https://doi.org/10.1007/s00404-006-0171-x>
- Meier, R. K. (2018). Polycystic ovary syndrome. *Nursing Clinics*, 53(3), 407-420. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2018.04.008>
- Meissner, H. O., Mrozikiewicz, P., Bobkiewicz-Kozłowska, T., Mscisz, A., Kedzia, B., Lowicka, A., Reich-Bilinska, H., Kapczynski, W. & Barchia, I. (2006). Hormone-balancing effect of pre-gelatinized organic Maca (*Lepidium peruvianum Chacon*):(I) biochemical and pharmacodynamic study on Maca using clinical laboratory model on ovariectomized rats. *International journal of biomedical science: IJBS*, 2(3), 260.
- Moggetti, P. (2016). Insulin resistance and polycystic ovary syndrome. *Current pharmaceutical design*, 22(36), 5526-5534. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160720155855>
- Mohammad, M. B., & Seghinsara, A. M. (2017). Polycystic ovary syndrome (PCOS), diagnostic criteria, and AMH. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 18(1), 17. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.1.17>
- Moridani, M. Y., Pourahmad, J., Bui, H., Siraki, A., & O'Brien, P. J. (2003). Dietary flavonoid iron complexes as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(2), 243-253. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)01241-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01241-8)
- Mruk, D. D., Silvestrini, B., Mo, M. Y., & Cheng, C. Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase-a review: its function, regulation in the testis, and role

- in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305-311.
[https://doi.org/10.1016/s0010-7824\(01\)00320-1](https://doi.org/10.1016/s0010-7824(01)00320-1)
- Muhammad, I., Zhao, J., & Khan, I. A. (2005). Maca (*Lepidium meyenii*). *Encyclopedia of Dietary Supplement*, 2nd ed.; Coates, P., Blackman, MR, Cragg, G., Levine, M., Moss, J., White, J., Eds, 522-531.
- Murri, M., Luque-Ramírez, M., Insenser, M., Ojeda-Ojeda, M., & Escobar-Morreale, H. F. (2013). Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update*, 19(3), 268-288.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dms059>.
- Mvondo, M. A., Mzemdem Tsoplack, F. I., Awounfack, C. F., & Njamen, D. (2020). The leaf aqueous extract of *Myrianthus arboreus* P. Beauv.(Cecropiaceae) improved letrozole-induced polycystic ovarian syndrome associated conditions and infertility in female Wistar rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 1-13.
<https://doi.org/10.1186/s12906-020-03070-8>
- Neisy, A., Zal, F., Seghatoleslam, A., & Alaei, S. (2019). Amelioration by quercetin of insulin resistance and uterine GLUT4 and ER α gene expression in rats with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Reproduction, Fertility and Development*, 31(2), 315-323. <https://doi.org/10.1071/RD18222>
- Norman, R. J., Dewailly, D., Legro, R. S., & Hickey, T. E. (2007). Polycystic ovary syndrome. *The Lancet*, 370(9588), 685-697. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61345-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61345-2).
- Olaniyi, K. S., Areloegbe, S. E., Areola, E. D., Sabinari, I. W., Fafure, A. A., Agbana, R. D., Atuma, C. L., Shah, M. Z., Ajadi, I. O. & Olatunji, L. A. (2023). Low-dose spironolactone combats dyslipidemia and hepatic inflammation by modulating PCSK9 in rat model of polycystic ovarian syndrome. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 473, 116604.
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2023.116604>
- Onaolapo, A. Y., Oladipo, B. P., & Onaolapo, O. J. (2018). Cyclophosphamide-induced male subfertility in mice: An assessment of the potential benefits of Maca supplement. *Andrologia*, 50(3), e12911.
<https://doi.org/10.1111/and.12911>
- Oshima, M., Gu, Y., & Tsukada, S. (2003). Effects of *Lepidium meyenii* Walp and *Jatropha macrantha* on blood levels of estradiol-17 β , progesterone, testosterone and the rate of embryo implantation in mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, 65(10), 1145-1146.
<https://doi.org/10.1292/jvms.65.1145>.
- Ozioko, E. N., Ajibade, G. A., & Vantsawa, P. A. (2022). Fertility potentials of five medicinal plants in the treatment of infertility caused by polycystic ovarian syndrome in female Wistar albino rats. *International Journal of*

- Paixão, L., Ramos, R. B., Lavarda, A., Morsh, D. M., & Spritzer, P. M. (2017). Animal models of hyperandrogenism and ovarian morphology changes as features of polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 15, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12958-017-0231-z>
- Pandey, V., Singh, A., Singh, A., Krishna, A., Pandey, U., & Tripathi, Y. B. (2016). Role of oxidative stress and low-grade inflammation in letrozole-induced polycystic ovary syndrome in the rat. *Reproductive biology*, 16(1), 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2015.12.005>.
- Papalou, O., M Victor, V., & Diamanti-Kandarakis, E. (2016). Oxidative stress in polycystic ovary syndrome. *Current pharmaceutical design*, 22(18), 2709-2722. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160216151852>
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042. <https://doi.org/10.1021/np9904509>.
- Pinkus, R., Weiner, L. M., & Daniel, V. (1996). Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF-κB, and glutathione S-transferase gene expression. *Journal of Biological Chemistry*, 271(23), 13422-13429. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.23.13422>
- Placer, Z. A., Cushman, L., & Johnson, B. C. (1966). Estimation of products of lipid peroxidation in biological fluids. *Anal Biochem*, 16(2), 359-364.
- Pokorný, J. (1991). Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science & Technology*, 2, 223-227.
- Polson, D. W., Wadsworth, J., Adams, J., & Franks, S. (1988). Polycystic ovaries—a common finding in normal women. *The Lancet*, 331(8590), 870-872. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(88\)91612-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(88)91612-1)
- Qiu, C., Zhu, T., Lan, L., Zeng, Q., & Du, Z. (2016). Analysis of maceae and macamide contents of petroleum ether extract of black, yellow, and purple *Lepidium meyenii* (Maca) and their antioxidant effect on diabetes mellitus rat model. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, e16150462. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150462>
- Reddy, P. S., Begum, N., Mutha, S., & Bakshi, V. (2016). Beneficial effect of Curcumin in Letrozole induced polycystic ovary syndrome. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(2), 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.apjr.2016.01.006>
- Robaczewska, J., Kedziora-Kornatowska, K., Kozakiewicz, M., Zary-Sikorska, E., Pawluk, H., Pawliszak, W., & Kedziora, J. (2016). Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension. *J Physiol Pharmacol*, 67(3), 331-337.

- Rojas, J., Chávez, M., Olivar, L., Rojas, M., Morillo, J., Mejías, J., Calvo, M. & Bermúdez, V. (2014). Polycystic ovary syndrome, insulin resistance, and obesity: navigating the pathophysiologic labyrinth. *International journal of reproductive medicine*, 2014(1), 719050. <https://doi.org/10.1155/2014/719050>.
- Rondán-Sanabria, G. G., Valcarcel-Yamani, B., & Finardi-Filho, F. (2012). Effects on starch and amylolytic enzymes during *Lepidium meyenii* Walpers root storage. *Food chemistry*, 134(3), 1461-1467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.056>
- Rosenfield, R. L., & Ehrmann, D. A. (2016). The pathogenesis of polycystic ovary syndrome (PCOS): the hypothesis of PCOS as functional ovarian hyperandrogenism revisited. *Endocrine reviews*, 37(5), 467-520. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1104>
- Ruiz-Luna, A. C., Salazar, S., Aspajo, N. J., Rubio, J., Gasco, M., & Gonzales, G. F. (2005). *Lepidium meyenii* (Maca) increases litter size in normal adult female mice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3, 1-6. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-16>.
- Sam, S. (2007). Obesity and polycystic ovary syndrome. *Obesity management*, 3(2), 69-73. <https://doi.org/10.1089/obe.2007>
- Sandhu, J. K., Waqar, A., Jain, A., Joseph, C., Srivastava, K., Ochuba, O., Alkayyali, T., Ruo, S. W. & Poudel, S. (2021). Oxidative stress in polycystic ovarian syndrome and the effect of antioxidant N-acetylcysteine on ovulation and pregnancy rate. *Cureus*, 13(9). <https://doi.org/10.7759/cureus.17887>
- Sandoval, M., Okuhama, N. N., Angeles, F. M., Melchor, V. V., Condezo, L. A., Lao, J., & Miller, M. J. (2002). Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food chemistry*, 79(2), 207-213. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00133-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00133-4)
- Shafiee, M. N., Khan, G., Ariffin, R., Abu, J., Chapman, C., Deen, S., Nunns, D., Barrett, D. A., Seedhouse, C. & Atiomo, W. (2014). Preventing endometrial cancer risk in polycystic ovarian syndrome (PCOS) women: could metformin help?. *Gynecologic Oncology*, 132(1), 248-253. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2013.10.028>
- Shang, Y., Zhou, H., Hu, M., & Feng, H. (2020). Effect of diet on insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105(10), 3346-3360. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa425>
- Shipman, A. R., & Millington, G. W. M. (2011). Obesity and the skin. *British Journal of Dermatology*, 165(4), 743-750. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10393.x>
- Singh, S., Pal, N., Shubham, S., Sarma, D. K., Verma, V., Marotta, F., & Kumar, M. (2023). Polycystic ovary syndrome: etiology, current management, and future therapeutics. *Journal of Clinical Medicine*, 12(4), 1454. <https://doi.org/10.3390/jcm12041454>

- Soares D. R., Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.
- Spinedi, E., & Cardinali, D. P. (2018). The Polycystic Ovary Syndrome and the Metabolic Syndrome: A Possible Chronobiotic-Cytoprotective Adjuvant Therapy. *International journal of endocrinology*, 2018(1), 1349868. <https://doi.org/10.1155/2018/1349868>
- Spritzer, P. M., Marchesan, L. B., Santos, B. R., & Figuera, T. M. (2022). Hirsutism, normal androgens and diagnosis of PCOS. *Diagnostics*, 12(8), 1922. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12081922>.
- Stener-Victorin, E., Padmanabhan, V., Walters, K. A., Campbell, R. E., Benrick, A., Giacobini, P., Dumesic, D. & Abbott, D. H. (2020). Animal models to understand the etiology and pathophysiology of polycystic ovary syndrome. *Endocrine reviews*, 41(4), bnaa010. [10.1210/endrev/bnaa010](https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa010)
- Storz, G., & Imlay, J. A. (1999). Oxidative stress. *Current opinion in microbiology*, 2(2), 188-194. [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(99\)80033-2](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(99)80033-2).
- Sun, Y. I., Oberley, L. W., & Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry*, 34(3), 497-500.
- Taher, M. D. A., Atia, Y. A., & Amin, M. K. (2012). Improving an ovulation rate in women with polycystic ovary syndrome by using silymarin. *Global Journal of Medical Research*, 12(6), 15-21.
- Taheri, A. P. H., Moradi, B., Radmard, A. R., Sanginabadi, M., Qorbani, M., Mohajeri-Tehrani, M. R., Shirzad, N., Hosseini, S., Hekmatdoost, A. & Mansour, A. (2022). Effect of resveratrol administration on ovarian morphology, determined by transvaginal ultrasound for the women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *British Journal of Nutrition*, 128(2), 211-216. [10.1017/S0007114521003330](https://doi.org/10.1017/S0007114521003330)
- Talat, A., Satyanarayana, P., & Anand, P. (2022). Association of superoxide dismutase level in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*, 1-7. <https://doi.org/10.1007/s13224-021-01430-z>
- Traber, M. G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*, 43(1), 4-15. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024>
- Uçkan, K., Demir, H., Başkıran, Y., & Demir, C. (2022). Investigation of activities enzyme prolidase (pro) and glutathione s-transferase (gst) in polycystic ovary syndrome (pcos) patients. *Journal of Scientific Reports-A*, (050), 20-31.
- Večeřa, R., Orolin, J., Škottová, N., Kazdová, L., Oliyarnik, O., Ulrichová, J., & Šimánek, V. (2007). The influence of maca (*Lepidium meyenii*) on antioxidant status, lipid and glucose metabolism in rat. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(2), 59-63. <https://doi.org/10.1007/s11130-007-0042-z>

- Wang, H. S., & Wang, T. H. (2003). Polycystic ovary syndrome (PCOS), insulin resistance and insulin-like growth factors (IGFs)/IGF-binding proteins (IGFBPs). *Chang Gung medical journal*, 26(8), 540-553.
- Wang, S., & Zhu, F. (2019). Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food chemistry*, 288, 422-443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.071>
- Wu, C., Lin, F., Qiu, S., & Jiang, Z. (2014). The characterization of obese polycystic ovary syndrome rat model suitable for exercise intervention. *PloS one*, 9(6), e99155. <https://doi.org/10.1371/dergi.pone.0099155>
- Wu, X. Y., Li, Z. L., Wu, C. Y., Liu, Y. M., Lin, H., Wang, S. H., & Xiao, W. F. (2010). Endocrine traits of polycystic ovary syndrome in prenatally androgenized female Sprague-Dawley rats. *Endocrine journal*, 57(3), 201-209. <https://doi.org/10.1507/endocrj.k09e-205>
- Yanes, L. L., Romero, D. G., Moulana, M., Lima, R., Davis, D. D., Zhang, H., Lockhart, R., Racusen L. C. & Reckelhoff, J. F. (2011). Cardiovascular-renal and metabolic characterization of a rat model of polycystic ovary syndrome. *Gender medicine*, 8(2), 103-115. <https://doi.org/10.1016/j.genm.2010.11.013>
- Yang, J., & Chen, C. (2024). Hormonal changes in PCOS. *Journal of Endocrinology*, 261(1). <https://doi.org/10.1530/JOE-23-0342>.
- Yildirim, G., Attar, R., Ozkan, F., Kumbak, B., Ficicioglu, C., & Yesildaglar, N. (2010). The effects of letrozole and melatonin on surgically induced endometriosis in a rat model: a preliminary study. *Fertility and sterility*, 93(6), 1787-1792.
- Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944-5972. <https://doi.org/10.1021/cr200084z>.
- Zangeneh, F. Z., Minaee, B., Amirzargar, A., Ahangarpour, A., & Mousavizadeh, K. (2010). Effects of chamomile extract on biochemical and clinical parameters in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Journal of reproduction & infertility*, 11(3), 169.
- Zeber-Lubecka, N., Ciebia, M., & Hennig, E. E. (2023). Polycystic ovary syndrome and oxidative stress—from bench to bedside. *International journal of molecular sciences*, 24(18), 14126. <https://doi.org/10.3390/ijms241814126>.
- Zhai, H. L., Wu, H., Xu, H., Weng, P., Xia, F. Z., Chen, Y., & Lu, Y. L. (2012). Trace glucose and lipid metabolism in high androgen and high-fat diet induced polycystic ovary syndrome rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-5>
- Zhai, H. L., Wu, H., Xu, H., Weng, P., Xia, F. Z., Chen, Y., & Lu, Y. L. (2012). Trace glucose and lipid metabolism in high androgen and high-fat diet

induced polycystic ovary syndrome rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-5>

Zhang, Y., Yu, L., Ao, M., & Jin, W. (2006). Effect of ethanol extract of *Lepidium meyenii* Walp. on osteoporosis in ovariectomized rat. *Journal of ethnopharmacology*, 105(1-2), 274-279. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.12.013>

Zuo, T., Zhu, M., & Xu, W. (2016). Roles of oxidative stress in polycystic ovary syndrome and cancers. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016(1), 8589318. <https://doi.org/10.1155/2016/8589318>



ÖZGEÇMİŞ

Eğitim Bilgileri	
Araştırma Deneyimi	
1	
2	
İş Deneyimi	
1	
Akademik Eserler Listesi	
No	
1	
2	