



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTEDE PROLİDAZ ENZİM
AKTİVİTESİ VE OKSİDATİF STRESİN EXTRASELLÜLER
MATRİKSİN YENİDEN ŞEKİLLENMESİNDEKİ RÖLÜ**

Mahmut KIRMIZIOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Elif İŞBİLEN

Gaziantep

2020



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTEDE PROLİDAZ ENZİM
AKTİVİTESİ VE OKSİDATİF STRESİN EXTRASELLÜLER
MATRİKSİN YENİDEN ŞEKİLLENMESİNDEKİ RÖLÜ**

Mahmut KIRMIZIOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Elif İŞBİLEN

Gaziantep

2020

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

17.06.2020

Mahmut KIRMIZIOĞLU

TEŞEKKÜR

Çalışmamın ilk gününden son gününe kadar bilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve beni hep destekleyen, ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabrından dolayı tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi ELİF İŞBİLEN'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince her konuda öneri ve katkılarıyla yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU'na, Prof. Dr. Seyithan TAYSI'ya, Prof. Dr. Hülya ÇİÇEK'e, Prof. Dr. Ayşe Binnur ÖZYURT'a, Prof. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENÇİ'ye ve Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖRKMEZ'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmamda yardımcı olan Doç. Dr. SUZAN TABUR'a ve istatistiksel çalışmalarına yardımcı olan Prof. Dr. Seval Kul'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmam boyunca tezimin her aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen, deneysel aşamalarında yardımcı olan, her türlü konuda bilgilerini benimle paylaşan Ar. Gör. Hasan ULUSAL'a, Arş. Gör. Mehmet Akif BOZDAYI'ya, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı asistanlarına ve bölüm sekreteri Öznur DOĞAN BARIŞ'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmam boyunca tezimin her aşamasında beni destekleyen, Uzm. Biyolog Arzu YÜCEL'e ve değerli dostum Rıdvan YILDIZ'a çok teşekkür ederim.

Bu önemli süreçte her zaman yanımda olup benden desteklerini esirgemeyen, beni motive eden annem Adalet KIRMIZIOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Maddi ve manevi destek veren ve tez çalışmam sırasında her türlü yardımda bulunan babam Hüseyin KIRMIZIOĞLU'na ve bütün aileme şükranlarımı sunarım.

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından TF.YLT.19.25 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
EK LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. MMPs (Matriks Metalloproteinazlar ve prolidaz enzimi).....	5
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	8
3.1. Numune Toplanması.....	9
3.2. Serum Prolidaz Aktivitesinin Ölçümü.....	9
3.2.1. Ölçüm prensibi.....	10
3.2.2. Ayraçlar ve Standart hazırlama.....	11
3.2.3. Yıkama Tamponu hazırlama.....	12
3.2.4. Çalışma Prosedürü.....	12
3.3. Serum vitamin E düzeyinin ölçümü.....	12
3.3.1. Ölçüm prensibi.....	13
3.3.2. Ayraçlar ve Standart hazırlama.....	14
3.3.3. Yıkama Tamponu hazırlama.....	15
3.3.4. Çalışma Prosedürü.....	15
3.4. Total Antioksidan Status (TAS)'ın Ölçümü.....	15
3.5. Total Oksidan Status (TOS)'un Ölçümü.....	16
3.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Ölçümü.....	16
3.7. İstatistiksel Yöntem.....	16
4. BULGULAR.....	17
4.1. Hasta grubu için korelasyonlar.....	18
4.2. Kontrol grubu için korelasyonlar.....	19
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	20
6. KAYNAKLAR.....	23
7. EKLER.....	28
8. ÖZGEÇMİŞ.....	30

KISALTMALAR VE SİMGELER

AMH	Anti-Müllerian Hormon
BMI	Vücut Kitle İndeksi
CDP	Kollajen Yıkım ürünleri
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EC	Ekstrasellüler
ECM	Ekstrasellüler Matriks
FSH	Folikül Stimulan Hormon
HRP	Horse Radish Peroksidaz
HSG	Histerosalpingografi
HYP	Hidroksiprolin
IC	Intrasellüler
IDP	Imidodipeptid
IGF	Insulin-like Growth Factor
IVF	Invitro Fertilizasyon
MDA	Malondialdehit
MMP	Matriks Metallo Proteinazlar
NO	Nitrik Oksit
OSI	Oxidative Stress Index
ox-LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PCOS	Polikistik Over Sendromu
PEPD	Peptidaz D
Pro	Prolin
ROS	Reaktif Oksijen Radikalleri
TAS	Total Antioxidant Status
TOS	Total Oxidant Status
TSH	Tiroid Stimulan Hormon

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1. i.Fibroblastlarda bulunan prolidaz enziminin substratı olan imidopeptidlerin IC ve EC kaynakları, ii. Prokollajen sentezinde kullanılan prolinin tekrar kullanılmasında prolidaz enziminin rolü, Imidodipeptidler (IDP),Kollajen yıkım ürünleri (CDP), Hidroksiprolin (HYP), Proline (Pro), Amino acid (X).....	5
Şekil 2. 2. Açıklanamayan infertilitenin etyolojisinde rol alan faktörler	6
Şekil 3. 1. Hasta seçme prosedürünü gösteren akış şeması	9
Şekil 3. 2. Prolidaz için standart çözeltilerin seyretilmesinin gösterimi	11
Şekil 3. 3. Vitamin E için standart çözeltilerin seyretilmesinin gösterimi	14
Şekil 4. 1. Hasta ve kontrol grubu kolerasyonun gösterilmesi.....	18



TABLO LİSTESİ

Tablo 3. 1. Prolidaz Elisa Reaktifleri	10
Tablo 3. 2. Prolidaz için standart çözeltilerin seyreltilmesi.....	11
Tablo 3. 3. Prolidaz için standart hazırlanması	11
Tablo 3. 4. Vitamin E Elisa reaktifleri	13
Tablo 3. 5. Vitamin E için Standart çözeltilerin seyreltilmesi.....	14
Tablo 3. 6. Vitamin E için standart hazırlanması	14
Tablo 4. 1. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırmaları	17
Tablo 4. 2. Hasta grubu için çalışılan parametrelerin değerleri.....	19
Tablo 4. 3. Kontrol grubu için çalışılan parametrelerin değerleri	19



EK LİSTESİ

EK 1. Etik Kurul 1. sayfası.....	28
EK 2. Etik Kurul 2. sayfa	29



ÖZET

AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTEDE PROLİDAZ ENZİM AKTİVİTESİ VE OKSİDATİF STRESİN EXTRASELLÜLER MATRİKSİN YENİDEN ŞEKİLLENMESİNDEKİ RÖLÜ

Mahmut KIRMIZIOĞLU

Yüksek Lisans Tezi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı Dr. Öğr. Üyesi ELİF İŞBİLEN

Haziran 2020, 40 Sayfa

Açıklanamayan infertilitesi olan kadınların etyolojisinde serum prolidaz aktivitesi ve oksidatif stresin önemli olduğunu özellikle ECM'in yeniden şekillenmesinde rol oynayarak implantasyon aşamasında etkili olduğunu göstermektedir. Açıklanamayan infertilitesi olan 90 kadın hasta ve 74 sağlıklı fertil kadından serum örnekleri alındı. Serum TOS (Total Oksidan Kapasite) düzeyi, TAS (Total Antioksidan Kapasite) düzeyi, serum prolidaz aktivitesi ve serum vitamin E düzeyi ELİZA yöntemiyle ölçüldü. Çalışmamızda serum prolidaz aktivitesi, serum TAS düzeyi açıklanamayan infertilitesi olan hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla $p=0,013^*$, $p=0,001^*$). Ayrıca hasta grubunda prolidaz enzim aktivitesi ile vitamin E arasında çok güçlü pozitif anlamlı korelasyon gözlenirken ($r=0,892$, $P=0,001$), prolidaz enzim aktivitesi ile TOS (Total Oksidan Kapasite) arasında pozitif yönde zayıf bir anlamlı korelasyon saptandı ($r=0,265$, $p=0,049$). Açıklanamayan infertil kadın grubunda vitamin E ile TOS (Total Oksidan Kapasite) arasında pozitif yönde zayıf bir anlamlı korelasyon saptandı ($r=0,288$, $p=0,014$). Hasta grubunda prolidaz enzim aktivitesi ile hem oksidatif kapasitenin belirteci olan TOS hem de antioksidatif kapasitenin non-enzimatik belirteci olan vitamin E arasında ki pozitif korelasyon gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızın sonuçları serum prolidaz aktivitesi ve antioksidan kapasitenin açıklanamayan infertilitenin etyolojisi ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermiştir.

Anahtar sözcük : Açıklanamayan İnfertilite, Prolidaz Enzim Aktivitesi, Vitamin E seviyesi, Total Antioksidan Kapasitesi, Total Oksidatif Kapasite

ABSTRACT

INCREASED PROLIDASE ENZYME ACTIVITY AND THE OXIDATIVE STRESS AFFECT THE REMODELING OF ECM IN UNEXPLAINED INFERTILITY

Mahmut KIRMIZIOĞLU

Master Thesis, Department of Medical Biochemistry

Supervisor: Assist. Prof. ELİF İŞBİLEN

June 2020, 40 pages

The objective of our study was to compare the levels of serum prolidase activity and oxidative stress markers including total oxidative status (TOS), total antioxidant capacity (TAC), and vitamin E levels between unexplained infertility and healthy fertile women. Serum samples were obtained from 74 healthy women and in 90 unexplained infertile women. We have measured serum prolidase activity, Vitamin E levels TAC, TOS, and OSI levels spectrophotometrically. Serum prolidase activity and serum TAC levels were significantly higher in unexplained infertile women than in healthy women ($p=0.013$, $p=0.001$ respectively). Prolidase activity was positively correlated with TOS and vitamin E levels ($r=0,265$, $p=0,049$; $r=0,892$, $p=0,001$, respectively) Our study has shown that serum prolidase activity and oxidative stress are significantly associated with unexplained infertility, and the correlation between serum prolidase activity and the markers of oxidative stress was reflected in increased serum TOS and vitamin E levels.

Keywords: Unexplained infertility, Prolidase enzyme activity, Vitamin E level, Total Antioxidant Capacity, Total Oxidative Capacity

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tüm dünyada yaklaşık 186 milyondan fazla kişiyi etkileyen infertilite gelişmekte olan ülkelerin hem sosyal hem de ekonomik önemli bir sorunudur (1).

İnfertilite, çiftlerin en az 12 aylık sürede düzenli cinsel ilişkiden sonra halen hamile kalamaması ile karakterize kompleks bir üreme bozukluğu olarak tanımlanmaktadır (2).

Bazı çiftlerde, tüm testlere rağmen, infertilitenin nedeni tanımlanamamıştır ve bu durum klinik olarak açıklanamayan veya primer infertilite olarak tanımlanmıştır. Açıklanamayan infertilitenin infertil çiftlerin yaklaşık % 15 ila % 30'unu etkilediği tahmin edilmektedir (3).

Açıklanamayan infertilite tanısı diğer tüm infertilite etyolojileri dışlandıktan sonra konulmalıdır. Tanı sırasında uterin kavite ve tubal açıklık değerlendirilmeli (HSG veya laparoskopik yöntemle), yumurtalıkların özellikle midluteal dönemdeki fonksiyonunu gösteren progesteron düzeyi ölçülmeli (> 3 ng/mL), serum prolaktin ve tiroid stimulan hormon (TSH) düzeyinin yeterli olup olmadığı değerlendirilmeli, yumurtalık rezervini değerlendiren FSH (Folikül Stimulan Hormon), AMH (Anti Müllerian Hormon) düzeyleri ve antral follikül sayısı değerlendirilmeli ve semen analizi (sperm konsantrasyonu 15 milyon / ml, $>40\%$ motilite ve en az 4% normal morfoloji) yapılmalıdır (4).

Açıklanamayan infertilitenin önemli nedenlerinin arasında; implantasyon defektinin, uterus reseptivitesinin (5), endometriyumun bozulmuş fonksiyonunun (6) ve immünomodülatör etkilerin (7) olduğu ileri sürülmüştür.

İmplantasyon defekti genellikle vakaların üçte ikisinde yetersiz endometriyum reseptivitesi ile (blastokistin tutunmasından sorumlu) ve üçte birinde embriyodaki anormallikler ile ilişkilidir (8).

Graham ve arkadaşları, açıklanamayan infertilitenin bozulmuş endometriyum fonksiyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Normal regülasyona sahip endometriyal epitel yeterli miktarda monoklonal antikorun üretimi ve salgılanmasından sorumludur fakat açıklanamayan infertiliteye sahip endometriyum epitelinde normal progesteron seviyelerinde dahi monoklonal antikorların salgılanmasını daha az olduğu gösterilmiştir (6).

Uterus reseptivitesi her siklusta, düzenli olarak yumurtalıklar tarafından sentezlenen steroidlere yanıt olarak ortaya çıkan endometriyal stroma-epitel etkileşimlerini içerir.

Endometriyumdaki reseptör aracılı uterus reseptivitesinin rolü; trofoblastın sağlıklı bir şekilde endometriyuma tutunmasında çok önemlidir (9).

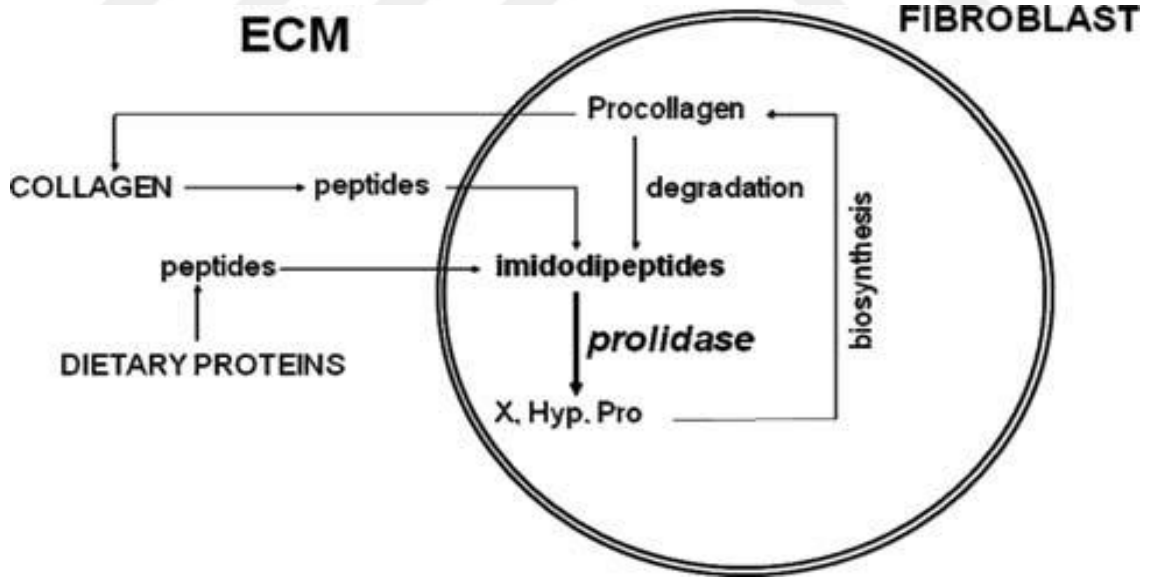
İmplantasyon sürecinde endometrial stromal hücrelerdeki integrin ekspresyonunun azalması endometriyal reseptivite için önemli bir rol oynayabilir (10,11).

Kollagen ve elastin gibi yapısal proteinler, fibrillin, fibronectin ve laminin gibi özelleşmiş proteinler ve destek dokusu olarak preteoglikanlar extracellüler matrikse ait moleküllerdir (12). Extracellular matriksin yapısal, fonksiyonel ve düzenleyici 3 temel görevi vardır. Bu görevler sırasıyla şunlardır (1): hücre dışı dokuların arasındaki boşlukları doldurarak yapısal (2), hücrelerin adezyon, büyüme ve farklılaşmasına destek olarak fonksiyonel ve (3) hücrenin fizyolojisi için gerekli büyüme faktörü ve sitokinlerin salınımını kontrol eden peptidazların aktivasyonu ile düzenleyicidir (13). Extracellular matriks proteinlerinin sentezi ve proteolitik yıkımı hassas bir şekilde kontrol edildiği için bu kritik dengenin bozulması embriyonun endometriyuma tutunmasını engelleyerek infertiliteye neden olabilir (14). Extracellular matriksin proteolitik yıkımında yer alan en önemli proteazlar matriks metalloproteinazlar (MMP) ailesinin üyeleri, disintegrinler ve metalloproteinazlardır (15). Ulbrich ve arkadaşları blastokistin elongasyon safhasında büyüme faktörlerinin (extracellular matrix tarafından sentezlenen) desteği için artmış endometriyal matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesinin gerekliliğini göstermişlerdir (16).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MMPs (Matriks Metalloproteinazlar ve prolidaz enzimi)

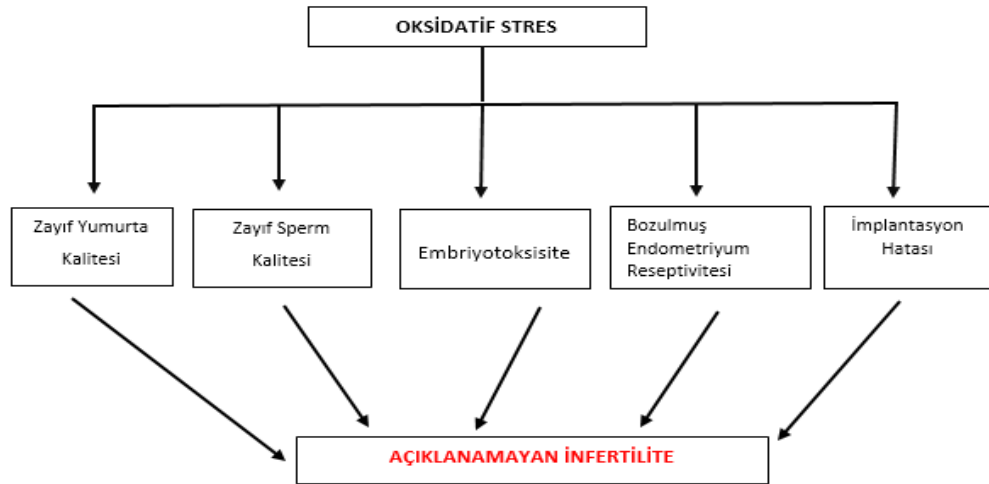
Prolidaz, MMP(Matrix Metalloproteinaz) ailesinin bir üyesi, kollajen sentezinin düzenlenmesine katılan sitozolik bir enzimdir (17). Şekil1. Prolidaz enzimi C-terminal prolin veya hidroksiprolin ile imidodipeptitleri ve imidotripeptitleri hidrolize eder. Prolin içeren dipeptitlerin katabolizması için özel ekzopeptidazlar gereklidir ve prolidaz enzimi prolin veya hidroksiprolini C-terminal pozisyonundan ayıran sitozolik ekzopeptidazdır (18). Kollajen yüksek imino asit seviyelerine sahip olması nedeniyle prolidaz enzimi için önemli bir substrattır. Artmış prolidaz aktivitesi ile kanser, tüberküloz ve kronik karaciğer hastalığı gibi doku yıkımını içeren hastalıklar arasında bir ilişki bulunmuştur (19,20). Ayrıca, plasenta dokusunda artmış prolidaz aktivitesinin erken gebelik kaybı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21). Tüm bu çalışmalar kollajen turnover hızındaki ve kollajen metabolizmasındaki düzensizliğin prolidaz aktivitesi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.



Şekil 2. 1. i.Fibroblastlarda bulunan prolidaz enziminin substratı olan imidopeptidlerin IC ve EC kaynakları, ii. Prokollajen sentezinde kullanılan prolinin tekrar kullanılmasında prolidaz enziminin rolü, Imidodipeptidler (IDP),Kollajen yıkım ürünleri (CDP), Hidroksiprolin (HYP), Proline (Pro), Amino acid (X)

MMPs (Matrix metalloproteinases) enzimlerinin her menstruel siklуста normal endometriyumun yeniden şekillenmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (22). MMP enzim ailesi, çoğu yapısal olarak birbiriyle ilişkili ve extracellular matriksin yıkımından sorumlu Zn-bağımlı salgılanan endopeptidazlardan oluşur (23). MMP'lerin kollajen, jelatin, proteoglikan, laminin, fibronektin ve elastin gibi çeşitli extracellular matris bileşenlerini ve ayrıca MMP-1, MMP-8 ve MMP-9'in dahil olduğu diğer MMP'leri de yıktığı bilinmektedir. MMP'ler her menstruel siklуста progesteronun seviyesinin azaldığı sırada maksimum seviyelerde sentezlenir (24).

Oksidatif stres hücrenin oksidatif ve antioksidatif sistemi arasındaki dengenin kaybolmasından kaynaklanır (25). Reaktif Oksijen Radikalleri(ROS) ve Reaktif nitrojen radikalleri gibi oksidanların ekspresyonundaki artış veya süperoksit dismutaz, glutatyon veya Vitamin E gibi antioksidanların ekspresyonundaki azalış bu olması gereken doğal dengeyi bozabilir (26). İnfertilite sorunu yaşayan endometriozisli kadınlardan alınan periton sıvı örneklerinde yüksek konsantrasyonlarda malondialdehit (MDA) ve oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (ox-LDL) gibi oksidatif stres markerları izlenmiştir (27). Çeşitli invitro çalışmalar ROS ve antioksidan sistem arasındaki dengesizliğin tekrarlayan düşükler, endometriyozis ve açıklanamayan infertilite gibi kadın üreme sistemi ile ilgili hastalıkların gelişiminden sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir (28).



Şekil 2. 2. Açıklanamayan infertilitenin etyolojisinde rol alan faktörler.

Gebeliğin oluşması ve devam edebilmesi anne uterus reseptivitesi ile embriyonun ECM (extrasellüler matrix) ortamı içindeki gelişme kabiliyeti arasında eş zamanlı bir uyum gerektirir.

Çalışmamızın amacı, açıklanamayan infertilitenin etyopatogenezinde anormal kollajen turnover hızını ve ECM'de kollajen yapıyı bozabilecek prolidaz aktivitesini değerlendirmektir. Ayrıca, etiyolojinin aydınlatılması, açıklanamayan infertilitede yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesini kolaylaştırabilir.

Extrasellüler matriksin kollajen yapım ve yıkım hızını bozabilecek prolidaz enzim aktivitesi ve oksidatif stres etkisi direkt olarak endometriyal reseptiviteyi etkileyerek açıklanamayan infertilitenin etyopatogenezinin sorumlu olabilir.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

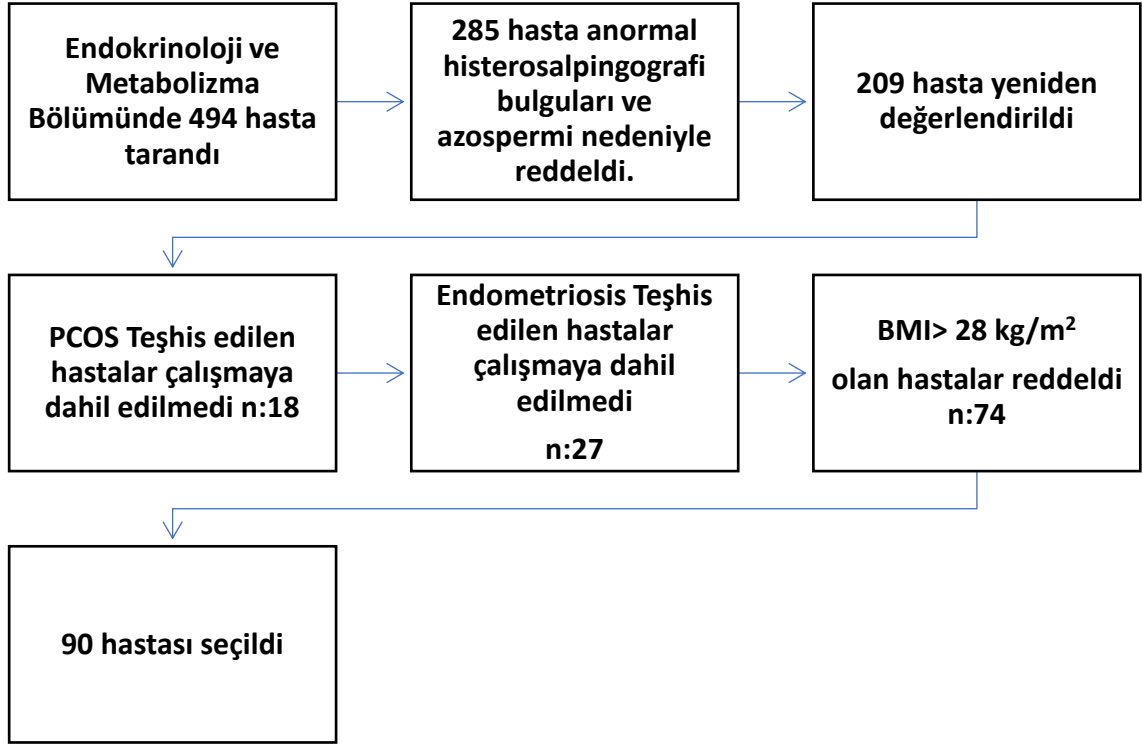
Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve Şahin Bey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Anabilim Dalı ile birlikte gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız açıklanamayan infertil kadınlar ve normal fertil kadınlar olarak iki grubu içeren vaka kontrol çalışmasıdır. Her iki gruptaki katılımcılardan katılım için imzalı onam formu alındı. Çalışma protokolü Helsinki bildirisinin kurallarına uygundur ve etik kurulu araştırma protokol kodu 75 olarak onay alınmıştır. Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Polikliniğine başvuran unexplained infertilite tanısı almış 90 hasta alındı. Unexplained infertil çiftler için infertilitenin nedeni; hormonal (AMH ve FSH'nin serum düzeyi) ve biyokimyasal profil, cinsel yolla bulaşan hastalıklar için test, genetik ve/veya immünolojik anormalliklerin araştırılması, sperm analizi (en az iki ay arayla en az iki değerlendirme) tubal açıklık değerlendirmesi için görüntüleme muayeneleri (histerosalpingografi, histeroskopi ve laparoskopi gibi) propedeutik prosedüre göre yapılmış hastalar alındı. Bu testlerden herhangi birinde anormallik olmaması halinde infertilite idiyopatik (primer) kabul edildi. Kontrol grubu olarak rutin kontrol amaçlı Endokrinoloji ve Metabolizma polikliniğine başvuran ve doğurganlık yaşında 74 sağlıklı fertil kadın alındı. Çalışmaya polikistik over sendromlu (PCOS) ve/veya endometriozisli hastalar da çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya Alınma Kriterleri

- İnfertilite süresi > 1 yıl (açıklanamayan infertilite için iki yıl),
- Hem hasta hem kontrol grubu için; 18-42 yaş
- Vücut kütlesi $\leq 28 \text{ kg/m}^2$ indeks (BMI)

Dışlama Kriterleri

- PCOS veya endometriozis tanısı almış gönüllüler
- Kanser
- Hipertansiyon
- Diyabet
- Multipl Skleroz
- Kronik medikal tedaviye duyulan ihtiyaç
- Otoimmün bozukluklar
- Koroner, hepatik veya böbrek hastalıkları öyküsü



Şekil 3. 1. Hasta seçme prosedürünü gösteren akış şeması

3.1. Numune Toplanması

Unexplained teşhisi almış hastalar için anket formu dolduruldu ve onam formu imzalatıldı. Hasta ve kontrollerden serum prolidaz aktivitesi, serum vitamin E düzeyi, serum total antioksidan kapasitesi, serum total oksidan kapasitesi ve oksidatif stres indeksi için düz serum tüpüne (herhangi antikoagülan içermeyen) venöz kan alındı. Çalışma örneği daha sonra 2000g’de 10 dakika santrifüje tabi tutuldu. Serum kısımları ependorflara ayrılarak -80 °C ‘de saklandı ve çalışma gününe kadar muhafaza edildi.

3.2. Serum Prolidaz Aktivitesinin Ölçümü

Serum prolidaz aktivitesi enzimatik immunoassay yöntemle ölçülmüştür. Serum enzimatik immunoassay yöntemde mikropłaktaki standart ve serum örneklerini uygulayacağımız kuyucuklar PEPD (Peptidaz D) için spesifik antikorlarla önceden kaplanmıştır. Plaktaki bağlanmamış maddeler yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra PEPD’ye spesifik biyotinle bağlanmış antikorlar kuyucuklara eklendi. Tekrar bir yıkama uygulandıktan sonra avidin ile konjuge olmuş Horse Radish Peroksidase (HRP) kuyucuklara eklendi. Bu aşamadan sonra avidin-enzim birlikteliği ile birlikteliği olmayan

substratlar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Renk değişimi durdurulup ve rengin yoğunluğu ölçüldü.

Tablo 3. 1. Prolidaz Elisa Reaktifleri

İçindekiler	Miktar
Standart Çözelti (160ng / ml)	0.5ml x1
Önceden kaplanmış ELISA Plaka	12 * 8 12/5000 kuyu şeritleri x1
Standart Seyreltici	3 ml x1
Streptavidin-HRP	6 ml x1
Durdurma Solüsyonu	6 ml x1
Yüzey Solüsyon A	6 ml x1
Yüzey Solüsyon B	6 ml x1
Yıkama Tampon Konsantresi (25x)	20 ml x1
Biyotinli PEPD Antikoru	1 ml x1

3.2.1. Ölçüm prensibi

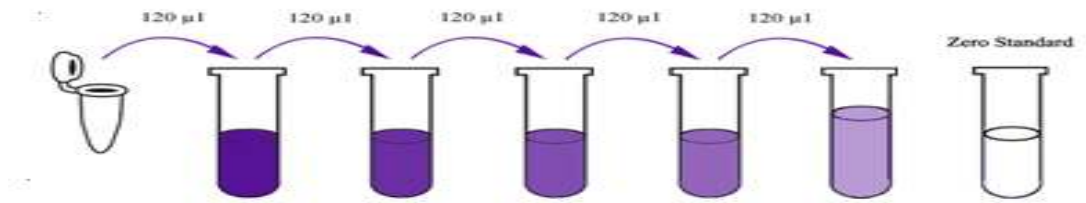
ELISA (Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Deneyi) kiti kullanıldı. Plaka, insan PEPD antikoru ile önceden kaplanmıştır. Örnekte mevcut olan PEPD eklendi ve kuyucuklarda kaplanmış antikorlara bağlandı. Daha sonra, biyotinli PEPD Antikoru ilave edildi ve örnekteki PEPD'ye bağlandı. Daha sonra Streptavidin-HRP (Horse Radish Peroxidase) eklenildi ve Biotinli PEPD antikoruna bağlandı. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP bir yıkama aşaması uygulandı. Substrat çözeltisi daha sonra ilave edildi ve renk PEPD miktarı ile orantılı olarak gelişti. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve absorbans, 450 nm'de ölçüldü.

3.2.2. Ayraçlar ve Standart hazırlama

Tüm reaktifler kullanmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Standardın 120 µl (160 ng/ml) ve standard çözücünün 120 µl si ile 80 ng/ml standard stok solüsyonu oluşturuldu. Dilüsyon yapmadan önce standardın hafifçe çalkalanarak 15 dakika oturmasını sağlandı. standard stok solüsyonu (80 ng/ml) 1:2 oranında seyreltilerek yeni standart solüsyon noktaları (40 ng/ml, 20 ng/ml, 10 ng/ml ve 5 ng/ml) oluşturuldu. Standart seyreltici, sıfır standart (0 ng / ml) olarak işlev görmektedir. Standart çözeltilerin seyreltilmesi tablo 2.'de gösterildiği gibidir:

Tablo 3. 2. Prolidaz için standart çözeltilerin seyreltilmesi

80 ng/ml	Standard No.5	120 µl Original Standard + 120 µl Standard Seyreltici
40 ng/ml	Standard No.4	120 µl Standard No.5 + 120 µl Standard Seyreltici
20 ng/ml	Standard No.3	120 µl Standard No.4 + 120 µl Standard Seyreltici
10 ng/ml	Standard No.2	120 µl Standard No.3 + 120 µl Standard Seyreltici
5 ng/ml	Standard No.1	120 µl Standard No.2 + 120 µl Standard Seyreltici



Şekil 3. 2. Prolidaz için standart çözeltilerin seyreltilmesinin gösterimi

Tablo 3. 3. Prolidaz için standart hazırlanması

Standart	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard
Konsantrasyon	No.5	No.4	No.3	No.2	No.1
160 ng/ml	80 ng/ml	40 ng/ml	20 ng/ml	10 ng/ml	5 ng/ml

3.2.3. Yıkama Tamponu hazırlama

Deionize suda 20 ml konsantre Wash Buffer 25 kez seyreltildi. Konsantre içinde kristaller tamamen çözülene kadar hafifçe karıştırıldı.

3.2.4. Çalışma Prosedürü

1. Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi, çalışma oda sıcaklığında yapıldı.
2. Deney için gerekli şerit sayısını belirlendi. Şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyuya 50 µl standart eklenildi. (Standart kuyuya antibody eklenmedi çünkü; standart çözelti biyotinli antibody içermektedir.)
4. Örnek kuyucuklarına 40 µl örnek eklenildi, daha sonra örnek kuyucuklarına 10 µl anti-PEPD antibody eklenildi. daha sonra örnek kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenildi (Boş kontrol kuyucuğuna eklenme yapılmadı.) ve karıştırıldı. Plakayı bir sızdırmazlık maddesi ile örtüldü. 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Sızdırmazlık maddesi çıkarıldı ve plakayı yıkama tamponu ile 5 kez yıkanıldı. Her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile kuyucuklar ıslatıldı. Otomatik yıkama için, Tüm kuyuları aspire edildi ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkanıldı, yıkama tamponu ile kuyular dolduruldu. kağıt havlu üzerinde plaka kurutuldu.
6. Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A eklenildi ve daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi B eklenildi, Karanlıkta 37 ° C'de 10 dakika boyunca yeni bir kapatıcı ile kaplı plaka inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 50 µl durdurma Solüsyonu eklenildi, mavi renk hemen sarı dönüştü.
8. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış ELISA okuyucu (Biotek Instruments, USA) kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğu belirlendi.

3.3. Serum vitamin E düzeyinin ölçümü

Serum vitamin E düzeyi enzimatik immunoassay yöntemi ile kantitatif olarak ölçülmüştür. Serum enzimatik immunoassay yöntemde mikroplaktaki standart ve serum

örneklerini uygulayacağımız kuyucuklar vitamin E için spesifik antikorlarla önceden kaplanmıştır. Plaktaki bağlanmamış maddeler yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra vitamin E'ye spesifik biyotinle bağlanmış antikorlar kuyucuklara eklendi. Tekrar bir yıkama uygulandıktan sonra avidin ile konjuge olmuş Horse Radish Peroksidase (HRP) kuyucuklara eklendi. Bu aşamadan sonra avidin-enzim birlikteliği ile birlikteliği olmayan substratlar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Renk değişimi durdurulup ve rengin yoğunluğu ölçüldü.

Tablo 3. 4. Vitamin E Elisa reaktifleri

İçindekiler	Miktar
Standart Çözelti (160 nmol / ml)	0.5ml x1
Önceden kaplanmış ELISA Plaka	12 * 8 kuyu şeritleri x1
Standart Seyreltici	3 ml x1
Streptavidin-HRP	6 ml x1
Durdurma Solüsyonu	6 ml x1
Yüzey Solüsyon A	6 ml x1
Yüzey Solüsyon B	6 ml x1
Yıkama Tampon Konsantresi (25x)	20 ml x1
Biyotinli vitamin E Antikoru	1 ml x1

3.3.1. Ölçüm prensibi

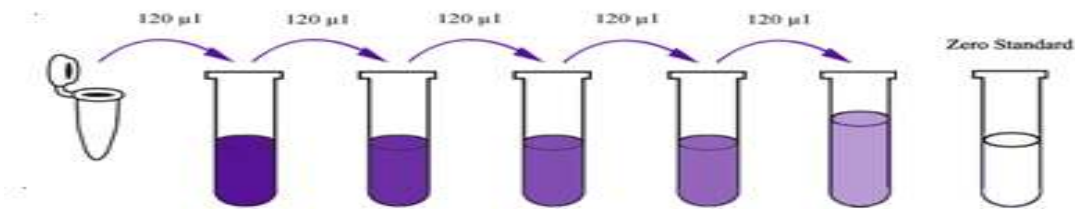
ELISA (Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Deneyi) kiti kullanıldı. Plaka, insan vitamin E antikoru ile önceden kaplanmıştır. Örnekte mevcut olan vitamin E eklendi ve kuyucuklarda kaplanmış antikorlara bağlandı. Daha sonra, biyotinli vitamin E Antikoru ilave edildi ve örnekteki vitamin E 'ye bağlandı. Daha sonra Streptavidin-HRP eklendi ve Biotinli vitamin E antikoru bağlandı. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkama aşaması uygulandı. Substrat çözeltisi daha sonra ilave edildi ve renk vitamin E miktarı ile orantılı olarak gelişti. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve absorbans, 450 nm'de ölçüldü.

3.3.2. Ayraçlar ve Standart hazırlama

Tüm reaktifler kullanmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Standardın 120 µl (160 ng/ml) ve standard çözücünün 120 µl si ile 80 ng/ml standard stok solüsyonu oluşturuldu. Dilüsyon yapmadan önce standardın hafifçe çalkalanarak 15 dakika oturmasını sağlandı. standard stok solüsyonu (80 ng/ml) 1:2 oranında seyreltilerek yeni standart solüsyon noktaları (40 ng/ml, 20 ng/ml, 10 ng/ml ve 5 ng/ml) oluşturuldu. Standart seyreltici, sıfır standart (0 ng / ml) olarak işlev görmektedir. Standart çözeltilerin seyreltilmesi tablo5'te gösterildiği gibidir:

Tablo 3. 5. Vitamin E için Standart çözeltilerin seyreltilmesi

80 ng/ml	Standard No.5	120 µl Original Standard + 120 µl Standard Seyreltici
40 ng/ml	Standard No.4	120 µl Standard No.5 + 120 µl Standard Seyreltici
20 ng/ml	Standard No.3	120 µl Standard No.4 + 120 µl Standard Seyreltici
10 ng/ml	Standard No.2	120 µl Standard No.3 + 120 µl Standard Seyreltici
5 ng/ml	Standard No.1	120 µl Standard No.2 + 120 µl Standard Seyreltici



Şekil 3. 3. Vitamin E için standart çözeltilerin seyreltilmesinin gösterimi

Tablo 3. 6. Vitamin E için standart hazırlanması

Standart	Standar	Standard	Standard	Standard	Standard
Konsantrasyon	No.5	No.4	No.3	No.2	No.1
160 ng/ml	80 ng/ml	40 ng/ml	20 ng/ml	10 ng/ml	5 ng/ml

3.3.3. Yıkama Tamponu hazırlama

Deionize suda 20 ml konsantre Wash Buffer 25 kez seyreltildi. Konsantre içinde kristaller tamamen çözülene kadar hafifçe karıştırıldı.

3.3.4. Çalışma Prosedürü

1. Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi, çalışma oda sıcaklığında yapıldı.
2. Deney için gerekli şerit sayısını belirlendi. Şeritleri kullanmak için çerçevelere yerleştirildi.
3. Standart kuyuya 50 µl standart eklenildi. (Standart kuyuya antibody eklenmedi çünkü; standart çözelti biyotinli antibody içermektedir.)
4. Örnek kuyucuklarına 40 µl örnek eklenildi, daha sonra örnek kuyucuklarına 10 µl anti-vitamin E antibody eklenildi. daha sonra örnek kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenildi (Boş kontrol kuyucuğuna eklenme yapılmadı.) ve karıştırıldı. Plakayı bir sızdırmazlık maddesi ile örtüldü. 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Sızdırmazlık maddesi çıkarıldı ve plakayı yıkama tamponu ile 5 kez yıkanıldı. Her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile kuyucuklar ıslatıldı. Otomatik yıkama için, tüm kuyuları aspire edildi ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkanıldı, yıkama tamponu ile kuyular dolduruldu. kağıt havlu üzerinde plaka kurutuldu.
6. Her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi A eklenildi ve daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat çözeltisi B eklenildi, Karanlıkta 37 ° C'de 10 dakika boyunca yeni bir kapatıcı ile kaplı plaka inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 50 µl durdurma Solüsyonu eklenildi, mavi renk hemen sarı dönüştü.
8. Durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış ELISA okuyucu (Biotek Instruments, USA) kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğunu belirlendi.

3.4. Total Antioksidan Status (TAS)'ın Ölçümü

Serum total antioksidan kapasite Erel tarafından geliştirilen otomatik ölçüm yöntemi ile belirlendi. Erel yönteminde en güç radikal olan hidroksil radikali üretildi. Bu analizde

reagent 1’de yer alan demir iyonu çözeltisi reagent 2’deki hidrojenperoksit ile karıştırıldı. Bu metod ile kimyasal reaksiyonlar sırasında ortaya çıkan hidroksil radikali ile başlatılan güçlü serbest radikal reaksiyonlarına karşı serum örneğimizin antioksidatif kapasitesi ölçüldü. Testin hassasiyet değeri %3’ten daha düşük doğruluk değerine sahiptir. Serum antioksidan kapasitesinin değeri sayısal olarak mmol trolox equiv./l. birimi ile ifade edildi.

3.5. Total Oksidan Status (TOS)’un Ölçümü

Serum total oksidan kapasite Erel tarafından geliştirilen otomatik ölçüm yöntemi ile belirlendi. Serum örneğindeki oksidanlar ferröz ion-o-dianisidine kompleksini demir iyonuna oksitler. Ferrik iyon asidik ortamda turuncu xilenol ile rekli bir kompleks yapar. Serum örneğindeki total oksidan molekül miktarıyla orantılı oluşan renk yoğunluğu spektrofotometrik yöntemle ölçülür. Serum oksidan kapasitesinin değeri sayısal olarak litre başına mikromolar hidrojenperoksit olarak ifade edilir ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./l.).

3.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Ölçümü

Serum total oksidan düzeyin serum total antioksidan düzeyine oranı yüzde ile yani OSI olarak ifade edilir. OSI değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanır:

$$\text{OSI} = \text{TOS}(\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equiv./l.}) / \text{TAS}(\text{mmol trolox equiv./l.})$$

3.7. İstatistiksel Yöntem

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile test edilmiş, normal dağılmayan değişkenlerin iki bağımsız grupta karşılaştırılmasında Mann whitney u testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubunda anlamlı farklı olan demografik değişkenlerin etkisinin giderilmesi için genel lineer model kullanılmıştır. Ayrıca sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon katsayısı ile test edilmiştir. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için Medyan [%25-%75] değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 22.0 paket programı kullanılmış ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Tablo 4. 1. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırmaları

	Hasta (n=90)	Kontrol (n=74)		
Değişkenler	Medyan (25%-75%)	Medyan (25%-75%)	P	P düzeltilmiş
Yaş	28 (24 -33)	30 (26 -33)	0,050*	---
BMI	25,76 (23,14 -31,59)	24,2 (22,3 -26,1)	0,001*	----
Prolidaz	27,01 (10,59 -88,96)	17,6 (13,65 -27,98)	0,167	0,013*
Vitamin E	19,11 (13,23 -57,31)	19,57 (15,51 -27,57)	0,700	0,272
TOS	4,88 (3,73 -7)	4,43 (3,57 -5,53)	0,238	0,302
TAS	1,13 (1,07 -1,24)	1,03 (0,95 -1,17)	0,001*	0,001*
OSI	0,41 (0,32 -0,49)	0,43 (0,38 -0,48)	0,078	0,001*

*0,05 düzeyinde anlamlı; P düzeltilmiş: Yaş ve BMI ile göre düzeltilmiş sonuçlar: Genel linear model.

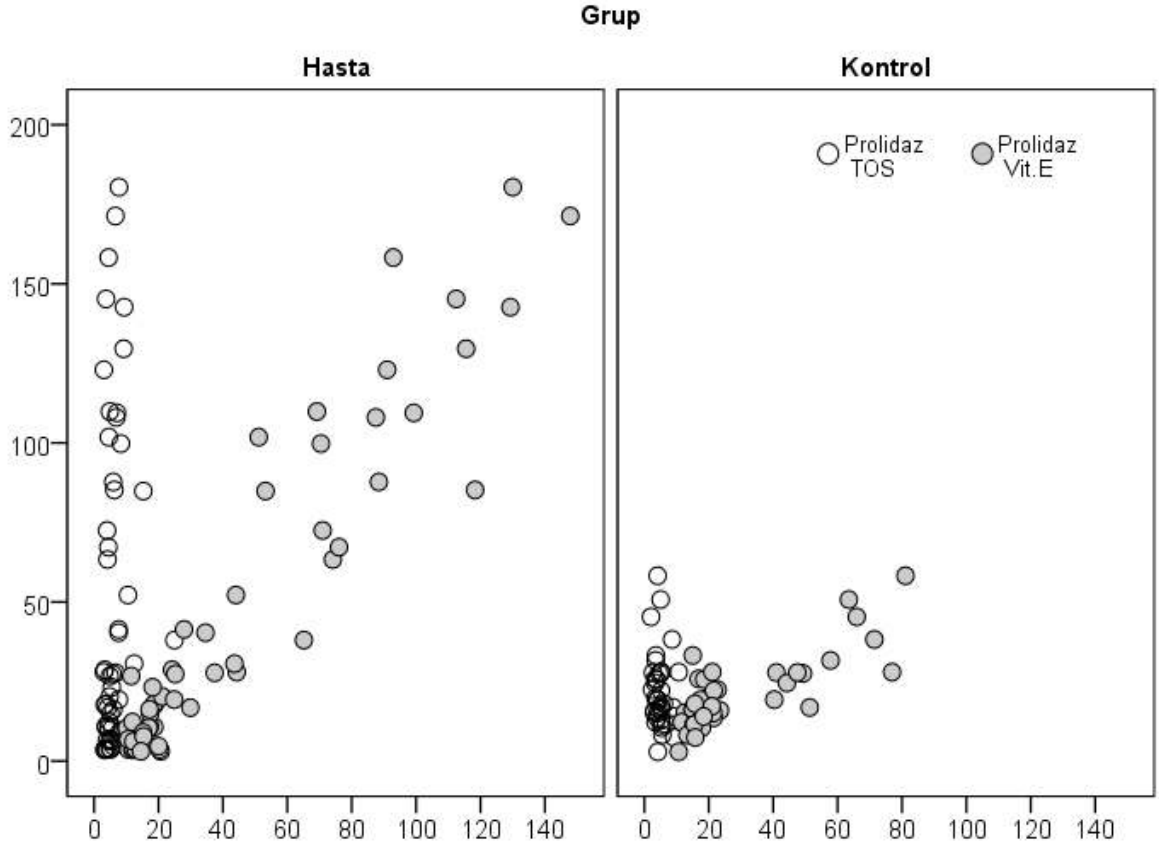
Yaş ve BMI bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulundu.

Kontrol grubumuzun yaş ortalamasını açıklanamayan infertil hasta grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulduk (p=0,050*).

Açıklanamayan infertil hasta grubunda BMI (Body Mass Index) kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek çıktı (p=0,001*).

Açıklanamayan infertil hasta grubunda TAS (total antioksidan kapasite) değerleri anlamlı yüksek bulundu.

Açıklanamayan infertil hasta grubunda yaş ve BMI'e göre düzeltilmiş sonuçlarda Prolidaz ve TAS hasta grubunda anlamlı yüksek bulundu. OSI ise hasta grubunda anlamlı düşük bulundu.



Şekil 4. 1. Hasta ve kontrol grubu kolerasyonu gösterilmesi

4.1. Hasta grubu için korelasyonlar

Hasta grubunda Prolidaz enzimi ile Vitamin E arasında çok güçlü pozitif bir anlamlı korelasyon gözlendi ($r=0,892$, $P=0,001$).

Prolidaz ile TOS arasında pozitif yönde zayıf bir anlamlı korelasyon saptandı ($r=0,265$, $p=0,049$).

Vitamin E ile TOS arasında pozitif yönde zayıf bir anlamlı korelasyon saptandı ($r=0,288$, $p=0,014$).

Tablo 4. 2. Hasta grubu için çalışılan parametrelerin değerleri

		BMI	Prolidaz	Vitamin E	TOS	TAS	OSI
Yaş	r	-0,078	-0,141	-0,092	0,150	0,133	0,096
	P	0,481	0,252	0,403	0,212	0,297	0,449
BMI	r	1,000	0,093	0,120	0,092	-0,038	0,002
	P		0,450	0,279	0,453	0,765	0,987
Prolidaz	r	0,093	1,000	0,892**	0,265*	0,260	0,195
	P	0,450		0,001	0,049	0,071	0,180
Vitamin E	r	0,120	0,892**	1,000	0,288*	0,230	0,220
	P	0,279	0,000		0,014	0,063	0,076
TOS	r	0,092	0,265*	0,288*	1,000	1,000**	,993**
	P	0,453	0,049	0,014		0,000	0,000
TAS	r	-0,038	0,260	0,230	1,000**	1,000	,856**
	P	0,765	0,071	0,063	0,000		0,000

r:Spearman rank korelasyon katsayısı, *0,05 düzeyinde anlamlı, **0,01 düzeyinde anlamlı.

4.2. Kontrol grubu için korelasyonlar

Kontrol grubunda prolidaz ile Vitamin E arasında pozitif bir anlamlı korelasyon gözlemlendi (r=0,659 , P=0,001).

Tablo 4. 3. Kontrol grubu için çalışılan parametrelerin değerleri

		BMI	Prolidaz	Vitamin E	TOS	TAS	OSI
Yaş	r	0,131	-0,201	0,071	-0,163	-0,199	-0,156
	P	0,265	0,096	0,580	0,259	0,165	0,280
BMI	r	1,000	-0,210	-0,189	0,038	0,030	0,077
	P		0,083	0,141	0,794	0,838	0,597
Prolidaz	r	-0,210	1,000	,659**	-0,097	-0,078	-0,098
	P	0,083		0,000	0,528	0,610	0,523
Vitamin E	r	-0,189	0,659**	1,000	-0,085	-0,056	-0,082
	P	0,141	0,001		0,610	0,738	0,623
TOS	r	0,038	-0,097	-0,085	1,000	0,880**	0,971**
	P	0,794	0,528	0,610		0,001	0,001
TAS	r	0,030	-0,078	-0,056	0,880**	1,000	0,808**
	P	0,838	0,610	0,738	0,000		0,000

r:Spearman rank korelasyon katsayısı, *0,05 düzeyinde anlamlı, **0,01 düzeyinde anlamlı.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hasta-kontrol grubu karşılaştırması yaptığımız çalışmamızda açıklanamayan infertilitesi olan hasta grubunda hem prolidaz enzim aktivitesini hem de total antioksidan düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulduk. Açıklanamayan infertilitesi olan hasta grubunun kendi içinde prolidaz enzim aktivitesinin vitamin E ve TOS (Total Oksidan Kapasite) ile pozitif yönde korelasyonu olduğunu tespit ettik. Ancak kontrol grubunda da kendi içinde prolidaz enzim aktivitesi ile vitamin E arasında pozitif korelasyon tespit ettik.

Prolidaz (peptidaz D veya imidopeptidaz) kollajen dokusunun yeniden sentezi ve prolin içeren diğer proteinlerin sentezi için prolinin (daha çok kollajen yıkım ürünleri imidopeptidlerden kaynaklı) geri dönüşümünde önemli rol oynar. Prolidaz enzim aktivitesi, serin/treonin rezidülerinin fosforillenmesiyle, integrin reseptörünün stimülasyonu ile artar.

Kollajen sadece ECM'in yapısal bir elemanı değil aynı zamanda iyon transportu, lipit metabolizması, kinaz enziminin aktivasyonu ve gen ekspresyonunda sinyal iletiliminde önemli rolü olan integrin reseptörü için bir ligand kabul edilir. Bundan dolayıdır ki kollajenin miktarı, yapısı ve dağılımında oluşabilecek bir değişiklik hücrenin ileti, metabolizma ve fonksiyonunu etkileyebilecektir. Yapılan son çalışmalardan elde edilen veriler kollajen dokusunun sentezinin düzenlenmesinde prolidaz enzim aktivitesinin sınırlayıcı bir faktör olabileceği fikrini akla getirmektedir. Prolidaz enzim aktivitesi Osteogenesis Imperfecta'da görülen yara iyileşmesi, inflamasyon, yaşlanma, doku fibrozisi ve iskelet anormallikleri sırasında çok önemli olabilir (29). Glisin amino asidine bağlı prolin dizilimi sadece kollajende bulunmaz aynı zamanda immünglobulinlerin ağır zincirinde ve C1q'da da benzer dizilim vardır. Kollajen dokusundakine benzer amino asid dizilimi prolidaz eksikliğine bağlı immünoglobulin ve C1q biyosentezindeki bozuklukların bir sonucu olarak immünolojik bir eksiklik olabileceğini düşündürmektedir (30).

İntegrin reseptörünün uyarılması ile kollajen dokunun sentezi ve prolidaz aktivitesinin regülasyonu insan fibroblastlarında echistatin (integrin inhibitörü) ve thrombin (integrin aktivatörü) ile gösterilmiştir (31). Prolidaz aktivitesi ve kollajen arasındaki fonksiyonel

bağlantı hücre kültüründe antiinflamatuvar ilaçlarla tedavi edilen fibroblastlarda (32) ve bazı malign tümörlerde gösterilmiştir (33).

Çok sayıdaki çalışma kollajen sentezinin prolidaza bağlı regülasyonunun hem transkripsiyonel hem de post-transkripsiyonel düzeyde olabileceğini düşündürmektedir. Transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel düzeyde kollajen biyosentezinin prolidaza bağlı regülasyonunun; en güçlü kollajen sentezi uyarıcısı insulin-like growth factor (IGF-I)'ün stimülasyonu (34) veya NO'nun prolidaz aktivitesi üzerindeki uyarıcı etkisi yoluyla (35) olduğunu gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Bizim çalışmamızda da TAS (total antioksidan kapasite)'nin ve vitamin E'nin artışının NO benzeri antioksidan kapasiteyi artırıcı uyarıcılar yoluyla prolidaz enziminin aktivitesini artırdığını ve abnormal kollajen turnover'ı gerçekleştirdiğini düşündürmektedir.

Soydinç ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada erken membran ruptürü olan kadınlarda özellikle artan prolidaz enzim aktivitesinin neden olduğu kollajen hasarının ve artan oksidatif stres parametrelerinin etyolojide önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir (36).

Hücrel fonksiyonları etkileyen ve hücelere zarar veren oksidatif stres yani aşırı ROS üretimi apoptozisi de etkiler (37). DNA hasarı ve hücrel işlev bozukluklarına yolaçan oksidatif stres ve ROS üretimi ile enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar arasındaki ilişki oldukça komplekstir (38). Vitamin E gibi non-enzimatik antioksidanlar oksidan-antioksidan sistem arasındaki dengeyi sağlayarak ROS'un neden olduğu oksidatif strese karşı hücrenin DNA, protein ve membranlarını korur (39). Normal gebeliklerde serum vitamin E düzeyinin anormal gebeliklere göre daha düşük olduğu gösterilmiş ve gebelik süresince vitamin E ihtiyacının arttığı düşünülmüştür (40). Uterustaki Vitamin E'nin implantasyondan sonra artarak embriyogenez sırasında koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (41). Zal ve arkadaşları açıklanamayan infertilite hastalarında oksidatif stres yaratacak ajanların endometriyal stromal hücrelerde hem nekrozu hem de apoptozu indüklediğini göstermiş böylece antioksidan uygulamasının tedavide olabileceği belirtmişlerdir (42).

İmplantasyon şansı daha yüksek olan kaliteli embriyolarda beklenildiği gibi glutatyon seviyesinin daha yüksek olduğu izlenmiştir (43). IVF tedavisindeki başarının düşük konsantrasyonlarda oksidatif stres metabolitleri ve daha yüksek konsantrasyonlarda antioksidan moleküller ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (44).

Yapılan çok sayıdaki çalışmada infertil kadınların tedavisinde uterus reseptivitesindeki başarısızlığın ortadan kaldırılması önemli bir adım olarak görülmektedir. Scolari ve arkadaşları endometriyum extracellüler matriksinin reguler olarak yeniden düzenlenmesinin; embriyo reseptivitesi için önemli olduğunu ve düzenlediğini göstermişlerdir (45).

Gebeliğin oluşması ve devam edebilmesi anne uterus reseptivitesi ile embriyonun ECM(extracellular matrix) ortamı içindeki gelişme kabiliyeti arasında eş zamanlı bir uyum gerektirir.

Endometriyumun histolojik ve fonksiyonel olarak normal gelişimi endometriyal reseptivite ve gebeliğin başlangıcında endometrium-embriyo etkileşimleri için kritik öneme sahiptir.

Kadınlarda gebe kalma olasılığı,extracellular matriksin bütünlüğü ve doğal olarak endometriyal reseptivite ile doğrudan ilişkilidir.

Bizim çalışmamızda da açıklanamayan infertil hasta grubundaki prolidaz enzim aktivitesinin yüksekliği aşırı kollajen doku yıkımına ve oksidatif stres mekanizmasının aşırılığı ECM'in yeniden yapılığını bozarak implantasyon defektine yolaçabileceğini göstermiştir.

Prolidaz bağımlı kollajen sentezinin düzenlenmesinde hangi transkripsiyonel mekanizmalar rol oynamaktadır daha geniş çalışmalarla desteklenmelidir. Böylece uterus endometriyal dokusunun ECM'inin önemli bir bileşeni olan kollajenin farmakoterapisine yeni bir yaklaşım açıklanamayan infertilite için önemli bir adım olabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*. 2015 Jul-Aug;21(4):411-26.
2. Mélodie Vander Borghthb , Christine Wyns. Fertility and infertility: Definition and epidemiology <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>
3. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM). Effectiveness and treatment for unexplained infertility, 2006 (86), Suppl 14S.
4. Stewart J.D., Pasternak M.C., Pereira N., Rosenwaks Z. 2019. “Contemporary Management of Unexplained Infertility”, *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 62(2): 282-292.
5. Elnaggar et al. AlphaVBeta3 Integrin expression within uterine endometrium in unexplained infertility: a prospective cohort study *BMC Women's Health* (2017) 17:90 DOI 10.1186/s12905-017-0438-3
6. R A Graham, M W Seif, J D Aplin, T C Li, I D Cooke, A W Rogers, P Dockery, An endometrial factor in unexplained infertility *BMJ* VOLUME 300 2 JUNE 1990
7. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357:266 – 281.
8. Simon C, Moreno C, Remohi J, Pellicer A. Cytokines and embryo implantation. *J Reprod Immunol* 1998;39:117–31. 9. Ilesanmi AO, Hawkins DA, Lessey BA. Immunohistochemical markers of uterine receptivity in the human endometrium. *Microsc Res Tech*. 1993 Jun 15;25(3):208-22.
10. Ordi J, Creus M, Ferrer B, Fabregues F, Carmona F, Casamitjana R, et al. Midluteal endometrial biopsy and alphavbeta3 integrin expression in the evaluation of the endometrium in infertility: implications for fecundity. *Int J Gynecol Pathol*. 2002;21(3):231–8.

11. Gonzalez RR, Palomino A, Boric A, Vega M, Devoto L. A quantitative evaluation of alpha1, alpha4, alphaV and beta3 endometrial integrins of fertile and unexplained infertile women during the menstrual cycle. A flow cytometric appraisal. *Hum Reprod.* 1999;14(10):2485–92.
12. Kim SH, Turnbull J & Guimond S 2011 Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. *Journal of Endocrinology* 209 139–151. (doi:10.1530/ JOE-10-0377)
13. Jarvelainen H, Sainio A, Koulou M, Wight TN & Penttinen R 2009 Extracellular matrix molecules: potential targets in pharmacotherapy. *Pharmacology* 61 198–223. (doi:10.1124/pr.109.001289)
14. Skinner JL, Riley SC, Gebbie AE, Glasier AF & Critchley HO 1999 Regulation of matrix metalloproteinase-9 in endometrium during the menstrual cycle and following administration of intrauterine levonorgestrel. *Human Reproduction* 14 793–799. (doi:10.1093/ humrep/14.3.793)
15. Egeblad M, Rasch MG & Weaver VM 2010 Dynamic interplay between the collagen scaffold and tumor evolution. *Current Opinion in Cell Biology* 22 697–706. (doi:10.1016/j.ceb.2010.08.015)
16. Ulbrich SE, Meyer SU, Zitta K, Hiendleder S, Sinowatz F, Bauersachs S, Büttner M, Fröhlich T, Arnold GJ, Reichenbach HD et al. 2011 Bovine endometrial metalloproteinases MMP14 and MMP2 and the metalloproteinase inhibitor TIMP2 participate in maternal preparation of pregnancy. *Molecular Cellular Endocrinology* 332 48–57. (doi:10.1016/j. mce.2010.09.009)
17. The mechanism of daunorubicin-induced inhibition of prolylase activity in human skin fibroblasts and its implication to impaired collagen biosynthesis. Muszyńska A, Pałka J, Gorodkiewicz E *Exp Toxicol Pathol.* 2000 May; 52(2):149-55.
18. Raymond Y. Wang, ... Stephen D. Cederbaum, in Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics, 2013
19. Plasma prolylase activity: a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. Myara I, Myara A, Mangeot M, Fabre M, Charpentier C, Lemonnier A *Clin Chem.* 1984 Feb; 30(2):211-5.

20. Serum prolidase activity in patients with pulmonary tuberculosis. Gumus S, Yaman H, Ozcan O, Deniz O, Karaman B, Cakir E, Tozkoparan E, Ozkan M, Bilgic H Scand J Clin Lab Invest. 2011 Oct; 71(6):467-72.
21. Comparison of prolidase enzyme activities of maternal serum and placental tissue in patients with early pregnancy failure. Vural M, Toy H, Camuzcuoglu H, Aksoy N Arch Gynecol Obstet. 2011 May; 283(5):953-8.
22. Salamonsen LA, Woolley DE. Matrix metalloproteinases in normal menstruation. Hum Reprod 1996; 11(suppl 2):124–133.
23. Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. Trends Genet 1990; 6:121–125.
24. Hulboy DL, Rudolph LA, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases as mediators of reproductive function. Mol Hum Reprod 1997; 3:27-45.
25. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. Int J Biochem Cell Biol. 2010; 42: 1634-50. doi: 10.1016/j.biocel.2010.06.001.
26. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. Reprod Biol Endocrinol. 2012; 10: 49. doi: 10.1186/1477-7827-10-49.
27. Sharma I, Dhaliwal LK, Saha SC, Sangwan S, Dhawan V. Role of 8-iso-prostaglandin F2alpha and 25-hydroxycholesterol in the pathophysiology of endometriosis. Fertil Steril. 2010; 94: 63-70. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.01.141.
28. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. Int J Biochem Cell Biol. 42:1634.
29. A. Surazynski, W. Milyk, J. Palka, J. M. Phang Prolidase-dependent regulation of collagen biosynthesis Amino Acids (2008) 35:731–738 DOI 10.1007/s00726-008-0051-8.
30. Phang JM, Scriver CR (1989) In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds) The metabolic basis of inherited disease. Disorders of proline and hydroxyproline metabolism. McGraw Hill, New York, pp 577–597.

31. Surazynski A, Sienkiewicz P, Wolczynski S, Palka J (2005a) Differential effect of echistatin and thrombin on collagen production and prolidase activity in human dermal fibroblasts and their possible implication in beta1-integrin-mediated signaling. *Pharmacol Res* 51:217–221.
32. Mityk W, Karna E, Palka J (1996) Inhibition of prolidase activity by non-steroid anti-inflammatory drugs in cultured human skin fibroblasts. *Pol J Pharmacol* 48:609–613.
33. Cechowska-Pasko M, Palka JA, Wojtukiewicz MZ (2006) Enhanced prolidase activity and decreased collagen content in breast cancer tissue. *Int J Exp Path* 87:289–296.
34. Mityk W, Karna E, Wolczynski S, Palka J (1998) Insulin-like growth factor I-dependent regulation of prolidase activity in cultured human skin fibroblasts. *Mol Cell Biochem* 189:177–183.
35. Surazynski A, Liu Y, Mityk W, Phang JM (2005b) Nitric oxide regulates prolidase activity by serine/threonine phosphorylation. *J Cell Biochem* 96:1086–1094.
36. Hatice Ender Soydu, Muhammet Erdal Sak, Osman Evliyaoglu, Mehmet Siddik Evsen, Abdulkadir Turgut, Ali Özler, İsmail Yıldız, Talip Gul Prolidase, Matrix Metalloproteinases 1 and 13 Activity, Oxidative-Antioxidative Status as a Marker of Preterm Premature Rupture of Membranes and Chorioamnionitis in Maternal Vaginal Washing Fluids *International Journal of Medical Sciences* 2013; 10(10):1344-1351. doi: 10.7150/ijms.4802.
37. Ishihara Y, Shiba D, Shimamoto N. 2005. Primary hepatocyte apoptosis is unlikely to relate to caspase-3 activity under sustained endogenous oxidative stress. *Free Radic Res.* 39:163–173.
38. Tokarz P, Kaarniranta K, Blasiak J. 2013. Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). *Biogerontology*. 14:461–482.
39. Beckett GJ, Hayes JD. 1993. Glutathione S-transferases: biomedical applications. *Adv Clin Chem.* 30:282–282.
40. Brigelius-Floh e R, Kelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg J-M, Azzi A. 2002. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr.* 76:703–716.

41. Ruder EH, Hartman TJ, Blumberg J, Goldman MB. 2008. Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Hum Reprod Update*. 14:345–357.
42. F Zal, F Khademi, R Taheri & Z Mostafavi-Pour (2017): Antioxidant ameliorating effects against H₂O₂- induced cytotoxicity in primary endometrial cells, *Toxicology Mechanisms and Methods*, DOI: 10.1080/15376516.2017.1372540.
43. Choi YS, Cho S, Seo SK, Park JH, Kim SH, Lee BS. Alteration in the intrafollicular thiol-redox system in infertile women with endometriosis. *Reproduction*. 2015; 149: 155-62. doi: 10.1530/REP-14-0438.
44. Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. *Reprod Toxicol*. 2013; 42: 116-24. doi: 10.1016/j. reprotox.2013.08.005.
45. Saara Carrollina Scolari, Guilherme Pugliesi, Ricardo de Francisco Strefezzi, Sônia Cristina da Silva Andrade, Luiz Lehmann Coutinho and Mario Binelli Dynamic remodeling of endometrial extracellular matrix regulates embryo receptivity in cattle 2017 Society for Reproduction and Fertility DOI: 10.1530/REP-16-0237 ISSN 1470-1626 (paper) 1741–7899.

7. EKLER

EK 1. Etik Kurul 1. sayfası

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Primer infertilitenin etyolojisinde prolidaz enzim aktivitesinin ve antioksidan kapasitenin yerinin değerlendirilmesi		
VARSA ARAŞTIRMANIN "ROTOKOL KODU"	75		

KARAR BİLGİLERİ	İLAN ☐ YILLIK BİLDİRİM ☐ SONUÇ RAPORU ☐ GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ ☐ DİĞER: ☐	Karar No: 2019/75 Tarih: 13.03.2019 Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmann/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmann/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.
------------------------	---	---

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR					

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR	ADLI TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Yasemin ZER	MIKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Özlem ALTINDAĞ	FİZİK TEDAVİ ve REHABİLİTASYON	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Birgül ÖZÇİRPİCİ	HALK SAĞLIĞI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Muradiye NACAĞ	TIBBİ FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜROLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ ve METABOLİZMA HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Sinan AKBAYRAM	ÇOCUK HEMATOLOJİ ve ONKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Umut ELBOĞA	NÜKLEER TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Serkan GÜRGÜL	BIYOFİZİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Eda Didem YALÇIN	AĞIZ DIŞ ve ÇENE RADYOLOJİSİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Uzm. Dr. Günay KOZAN	KULAK, BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI	Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Emine Aybiken YILDIRIM	AVUKAT (Hukukçu)	Gaziantep Barosu	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Recep TÜRK	BANKACI (Kamu Yönetimi)	Ziraat Bankası Gaziantep Bölge Yöneticisi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

*: Toplantıda Bulunma

Elden teslim aldım. 03.04.2019
Mahmut Kırmızıoğlu

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK 2. Etik Kurul 2. sayfa

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU				
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Primer infertilitenin etyolojisinde prolidaz enzim aktivitesinin ve antioksidan kapasitenin yerinin değerlendirilmesi		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		75		
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu		
	AÇIK ADRESİ:	Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Merkezi Binası (GAÜNDAM) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 27310 Şehitkamil/Gaziantep		
	TELEFON			
	FAKS			
	E-POSTA	etikkurul@gantep.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr.Öğretim Üyesi Elif İŞBİLEN		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
FAZ 4		☐		
Gözlemsel ilaç çalışması		☐		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☒		
Diğer ise belirtiniz :				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SIGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	☐		
Etik Kurul Başkanı'nın Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.				

8. ÖZGEÇMİŞ

10 Temmuz 1991 yılında doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Şanlıurfa’ da tamamladı. 2012 yılında Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Biyoloji Bölümü Lisans Programı’ na başladı. 2015 yılında aynı bölümden mezun oldu. 2017 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya ABD’ da yüksek lisans eğitimi almaya başladı.

